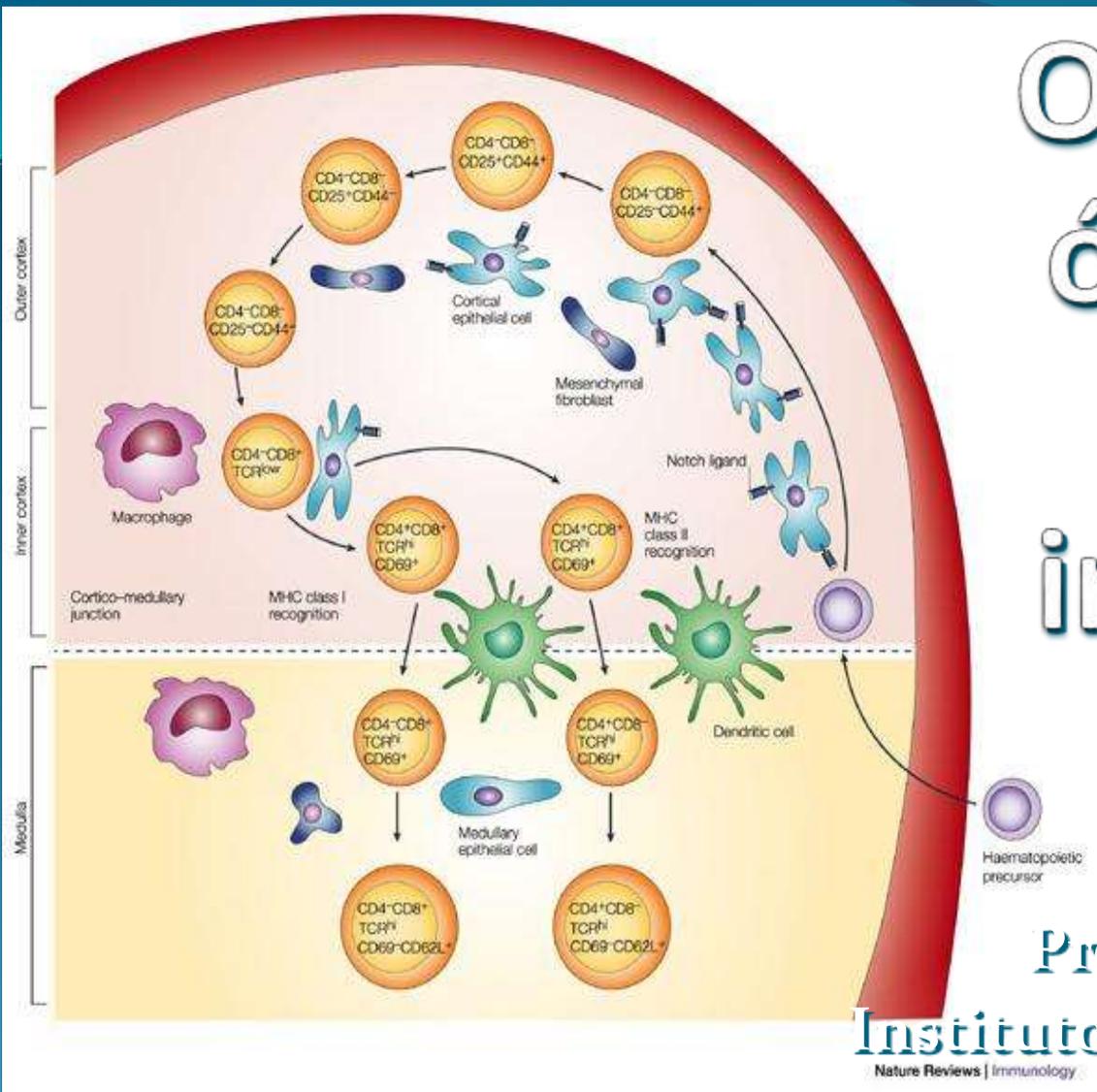


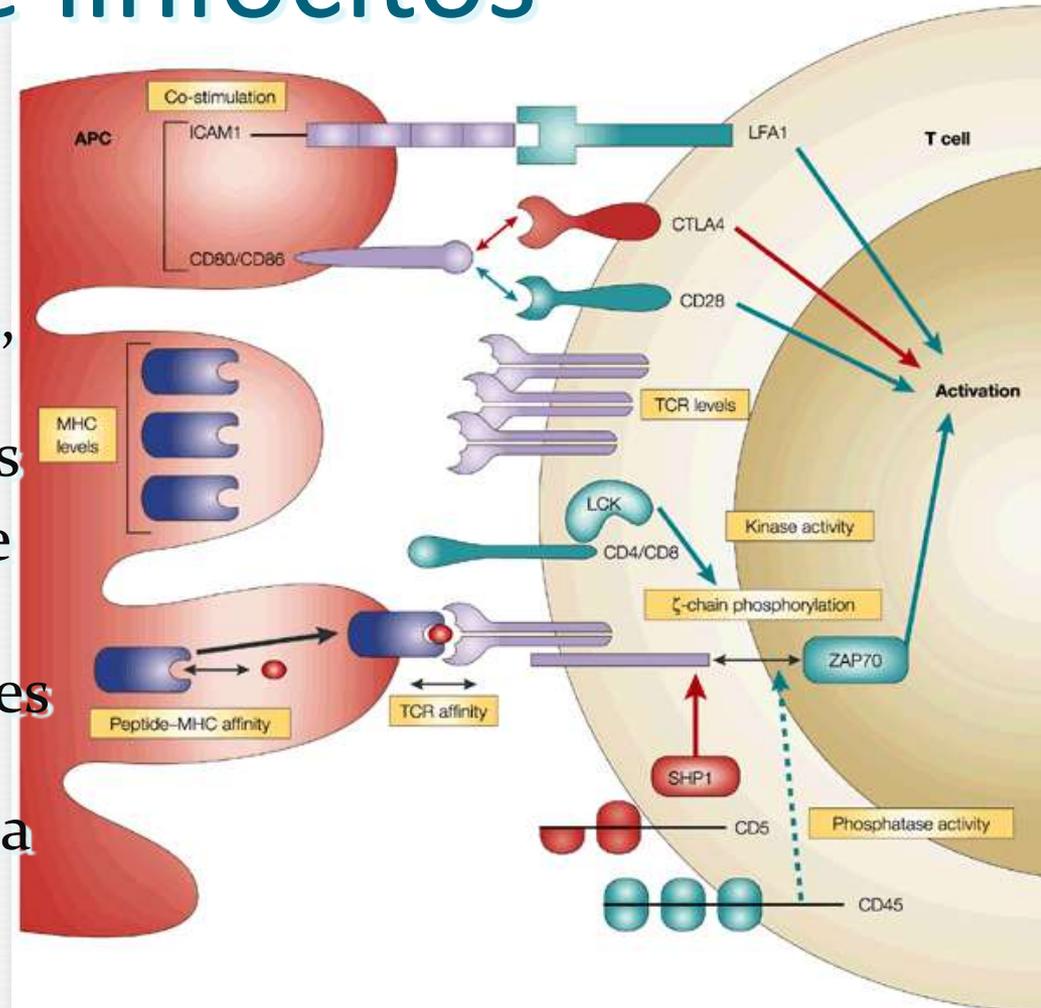
Ontogenia y órganos del sistema inmunitario



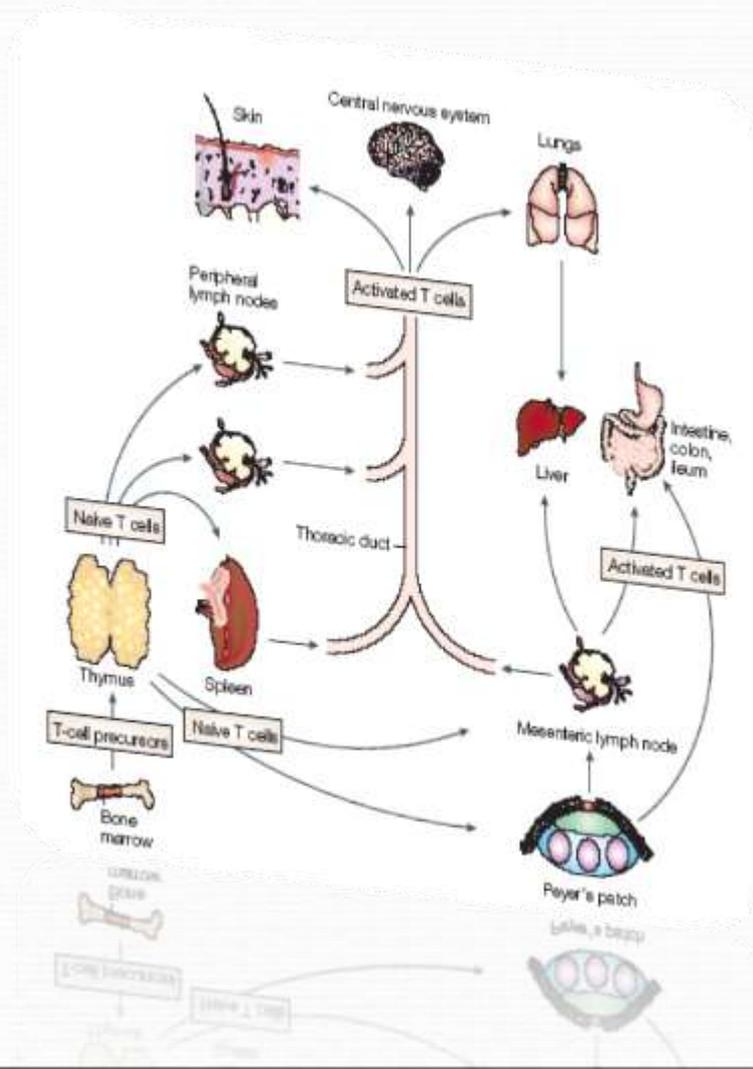
Prof. Siham Salmen Halabi
Instituto de Inmunología Clínica
Facultad de Medicina
Universidad de Los Andes, Idic-ULA
Curso de Pre-grado 2018

Ontogenia de linfocitos

- Linfocitos son las únicas células del cuerpo con una alta diversidad de receptores, capaces de reconocer a una amplia variedad de antígenos
- Diversidad generada durante el desarrollo
- Responder frente a los agentes extraños, con alta **especificidad** (respetando la integridad de los tejidos propios) y preservando la **tolerancia**



Órganos del sistema inmunitario



Órganos del sistema inmunitario

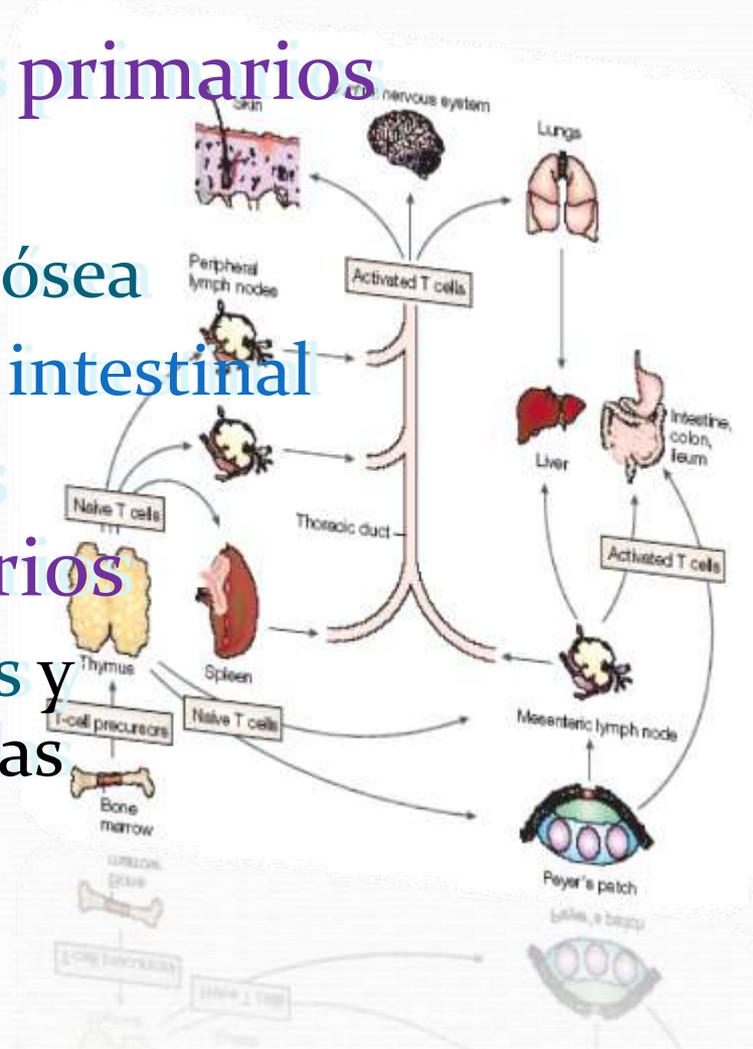
- Microambientes

- Órganos primarios

- Timo
- Médula ósea
- Epitelio intestinal

- Órganos secundarios

- Ganglios y amígdalas
- Bazo
- MALT



Órganos del sistema inmunitario

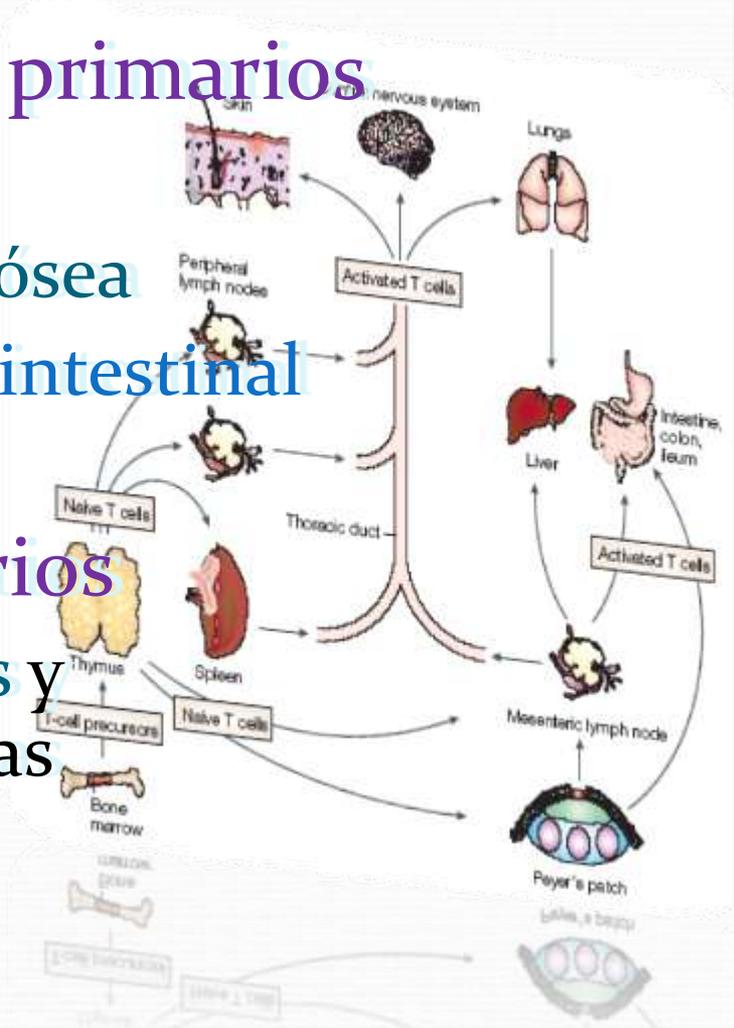
- Microambientes

- Órganos primarios

- Timo
- Médula ósea
- Epitelio intestinal

- Órganos secundarios

- Ganglios y amígdalas
- Bazo
- MALT



Elementos de la respuesta inmune:

Inmunidad innata:

Células mieloides
(Células dendríticas, Monocitos/macrófagos, PMN, mastocitos)

Células linfoides (células dendríticas plasmocitoides, NK, iNKT, linfocitos $T\gamma\delta$), linfocitos B1a y B1b

Inmunidad adaptativa

Linfocitos T (CD4, CD8, Treg,) y B (B2)

“La inmunidad efectiva requiere de un balance entre la defensa contra los Ag extraños y la no respuesta contra los antígenos propios”

- **Preguntas a responder:**
 - ¿A partir de qué célula se generan los diferentes linajes?
 - ¿Donde maduran las células linfoides?
 - ¿Que factores median este proceso?
 - ¿Cuales son las decisiones que deben tomar los linfocitos?
 - ¿Que factores condicionan la decisión hacia los diferentes linajes?

“La inmunidad efectiva requiere de un balance entre la defensa contra los Ag extraños y la no respuesta contra los antígenos propios”

- **¿Cuál es la razón de la existencia de mecanismos de regulación del desarrollo de los linfocitos?**



“La inmunidad efectiva requiere de un balance entre la defensa contra los Ag extraños y la no respuesta contra los antígenos propios”

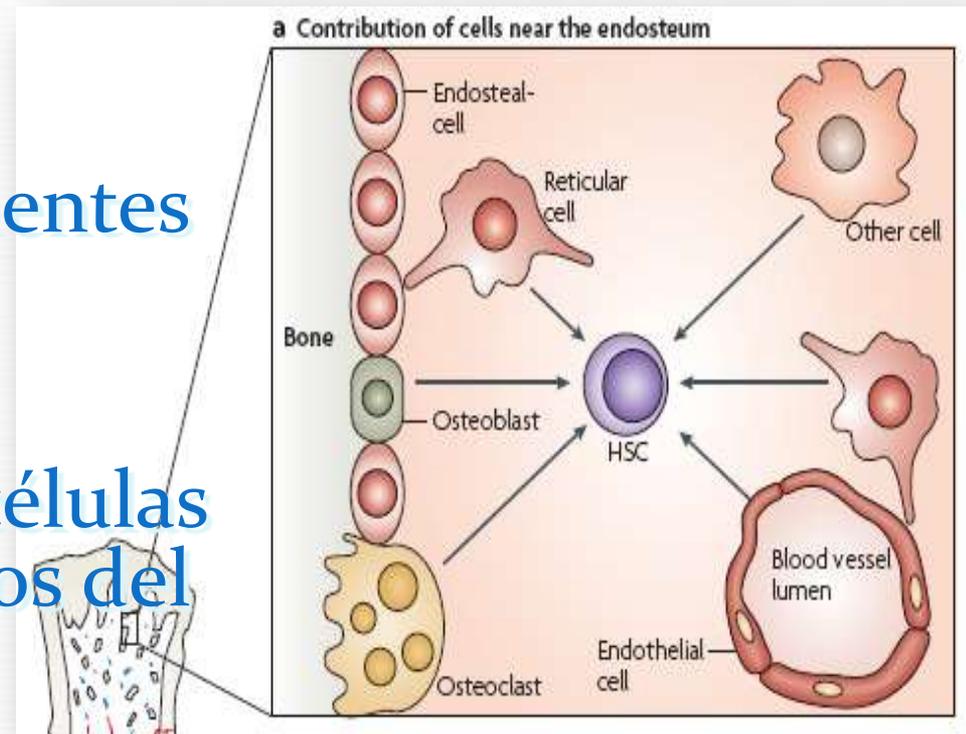
- ¿Cuál es la razón de la existencia mecanismos de regulación del desarrollo de los linfocitos?
 - Asegurarse de contar con el repertorio de células capaces de reconocer a todos los Ag extraños presentes en la naturaleza
 - Asegurarse que el sistema inmune reconozca como propio a los Ag del individuo (**TOLERANCIA**)
 - Asegurarse que los linfocitos migren hacia la periferia con las herramientas básicas para enfrentarse a los Ag extraños

Ontogenia de linfocitos

- ¿Cuál es la razón de la existencia de mecanismos de regulación del desarrollo de los linfocitos?
 - Asegurarse que los receptores antigénicos (BCR, TCR) sean útiles (selección positiva) y los receptores potencialmente peligrosos y autorreactivos sean eliminados (selección negativa)
 - Asegurarse que los linfocitos puedan comunicarse con las células accesorias (aquellos que no lo hacen sufren muerte por negligencia)

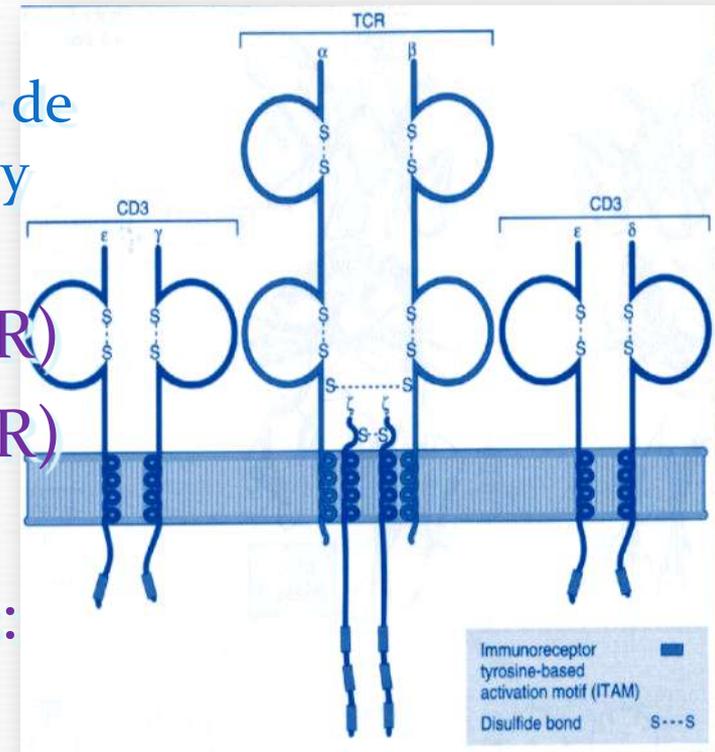
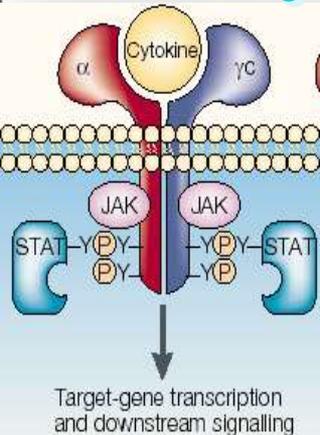
Ontogénias de linfocitos

- Elementos que participan
 - Célula progenitora pluripotencial
 - Diferentes microambientes
 - Células de estromales
 - Mediadores solubles
 - Interacción entre las células linfoides con elementos del microambiente



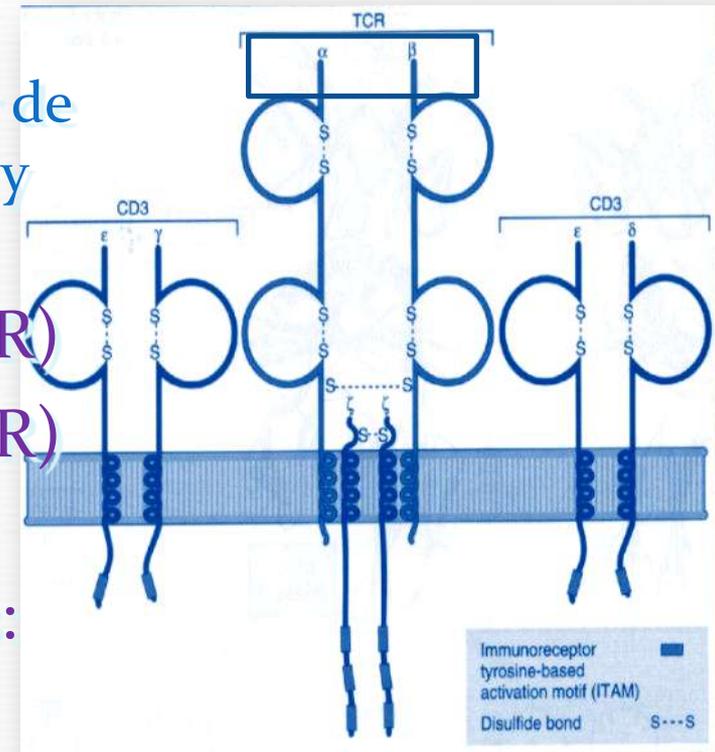
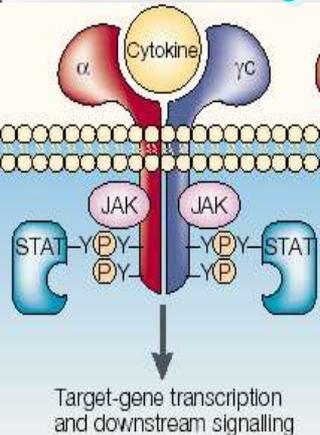
Elementos del sistema inmune

- MHC-I y MHC-II
 - Moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I y II
- Receptor de linfocitos T (TCR)
- Receptor de linfocitos B (BCR)
- Mediadores solubles y sus receptores (Ej. Interleukinas: IL-7/IL-7r, IL-15/IL15r)

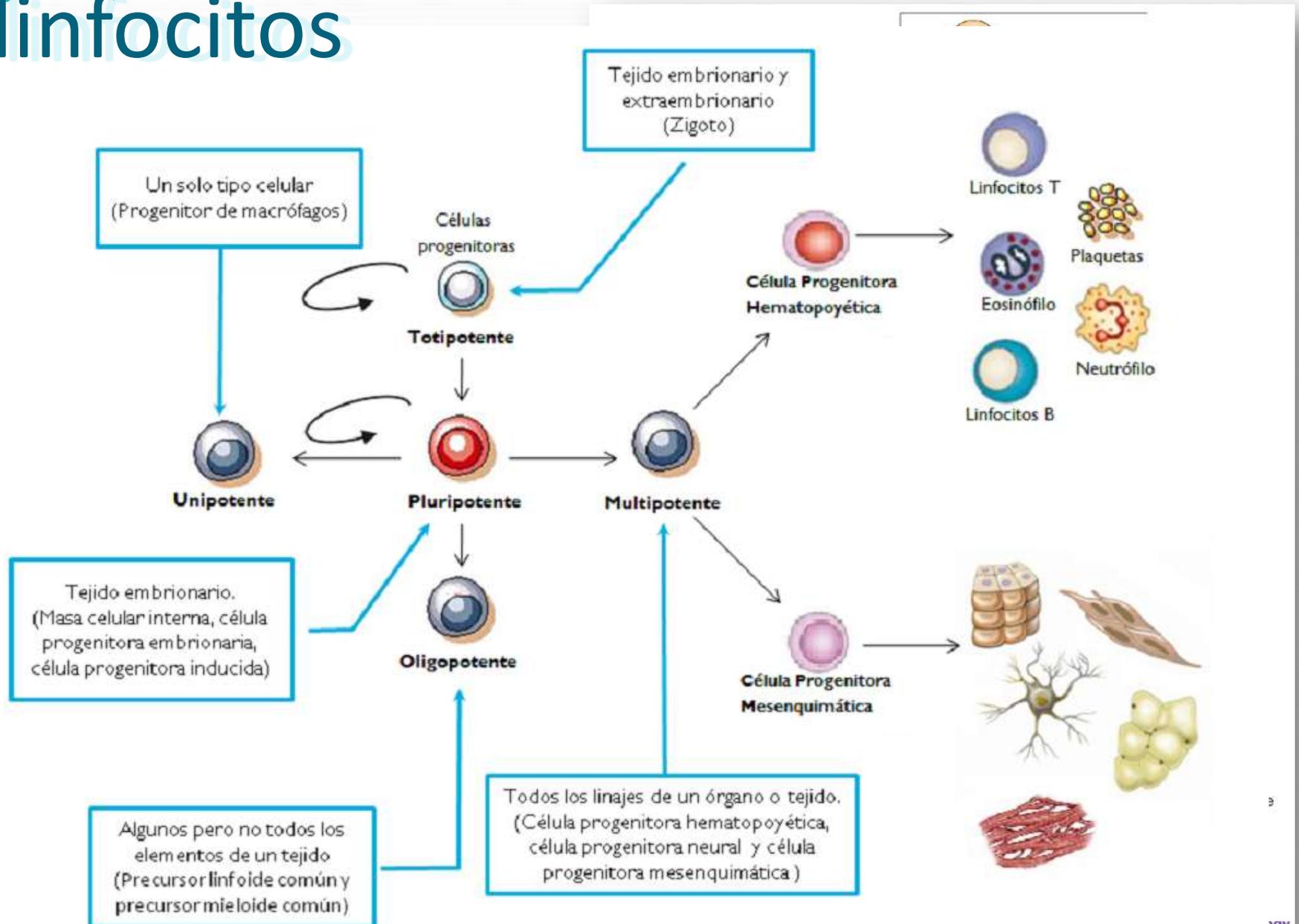


Elementos del sistema inmune

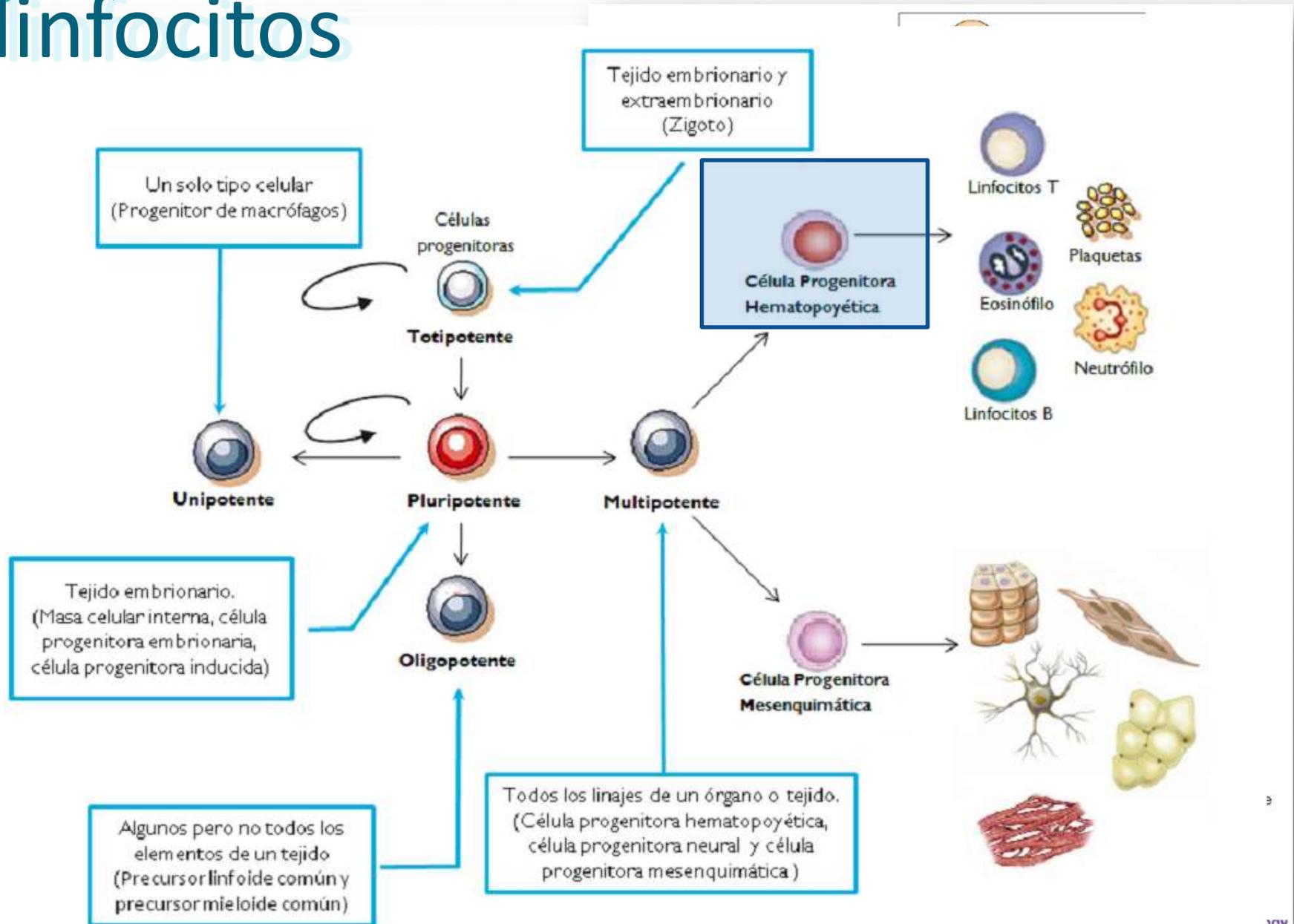
- MHC-I y MHC-II
 - Moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I y II
- Receptor de linfocitos T (TCR)
- Receptor de linfocitos B (BCR)
- Mediadores solubles y sus receptores (Ej. Interleukinas: IL-7/IL-7r, IL-15/IL15r)



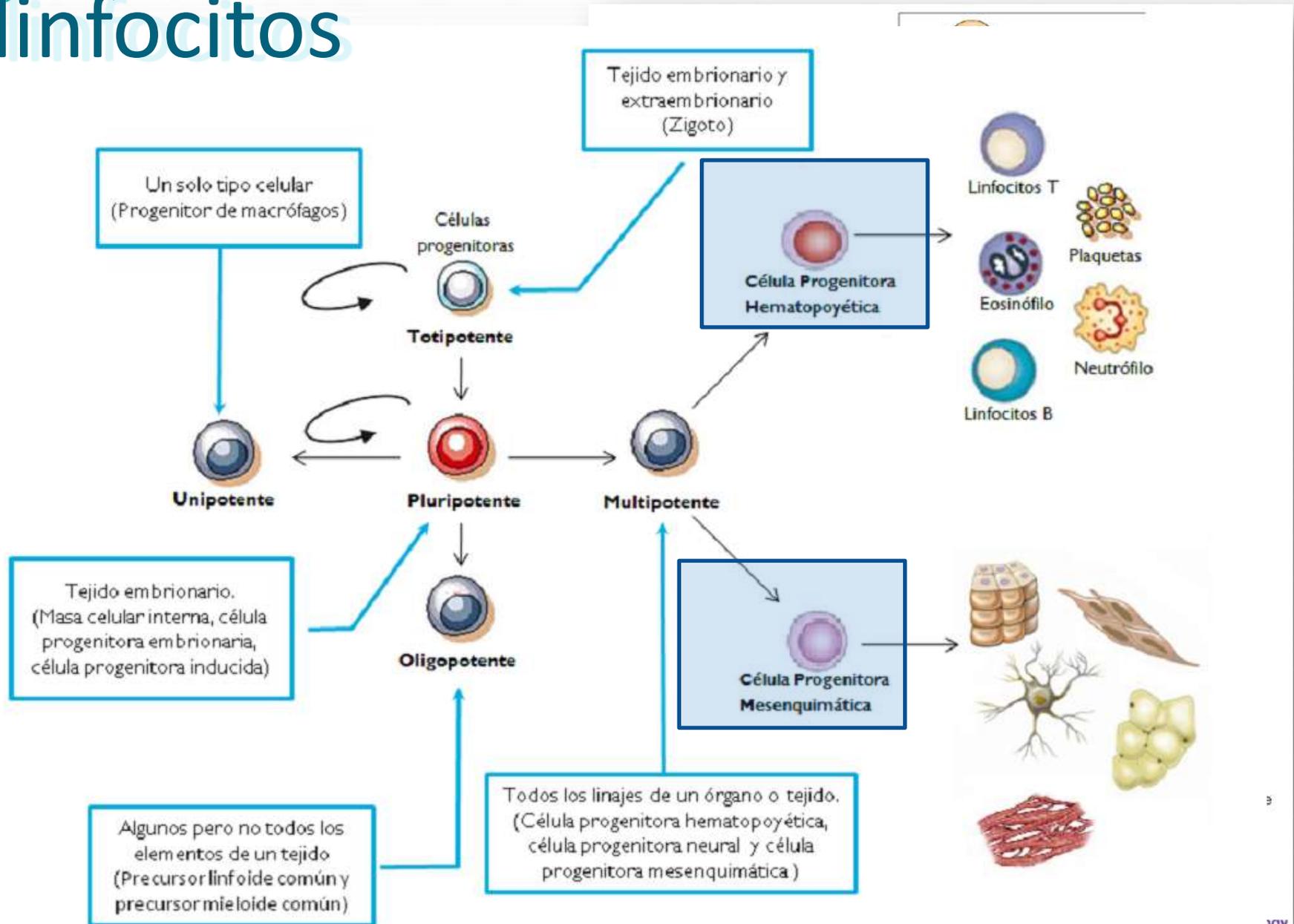
Ontogenia de linfocitos



Ontogenia de linfocitos

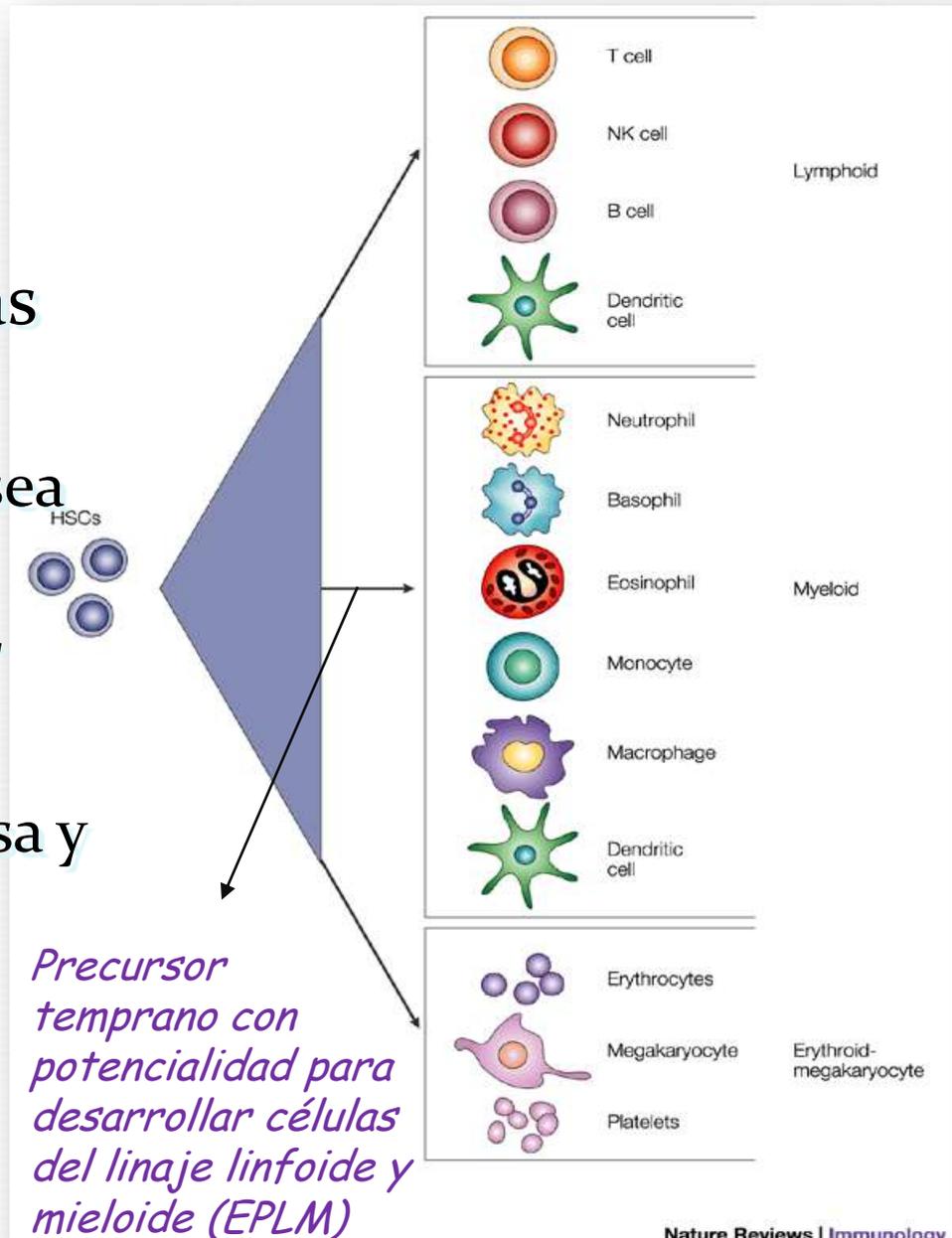


Ontogenia de linfocitos



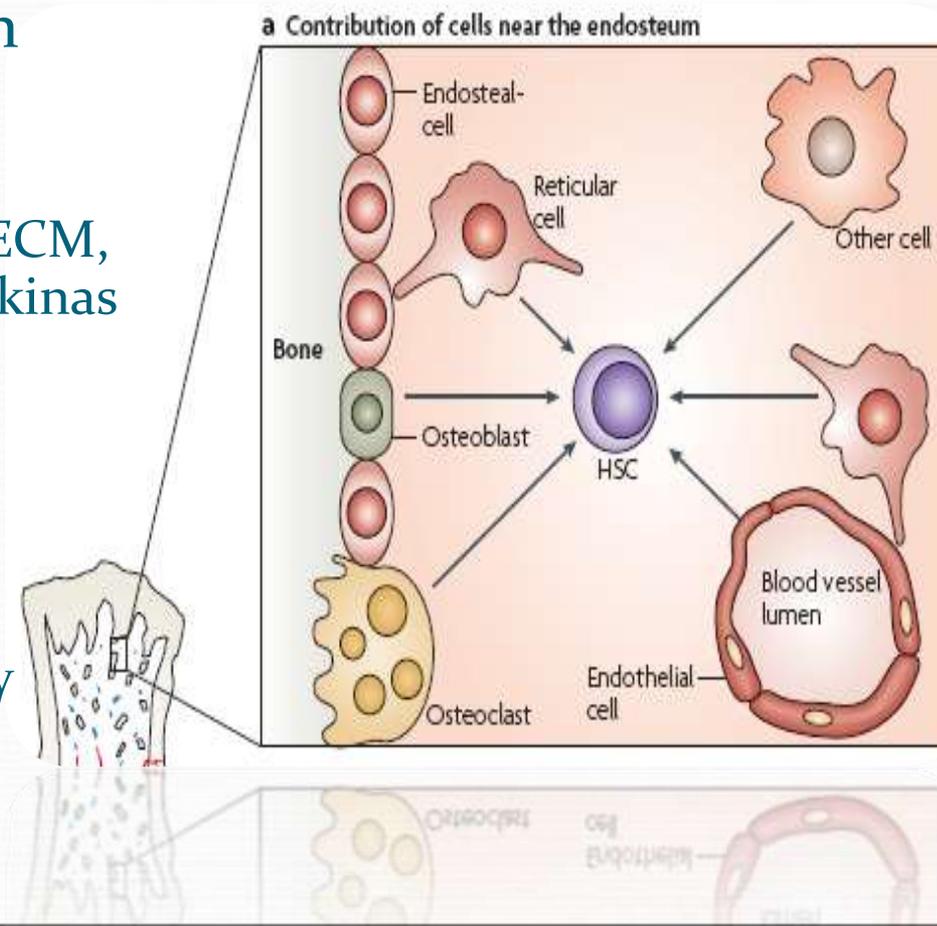
Ontogenia de linfocitos

- Células hematopoyéticas (HSC):
 - Se alojan en la médula ósea
 - Fenotípicamente son reconocidas por expresar **CD34**
 - Actividad de la telomerasa y autorenovación



Ontogenia: ORIGEN DE LAS HSCs

- Médula ósea
 - Nicho: combinación de HCS y células del estroma, median señales extrínsecas que mantienen a las HCS.
 - Sitios de contacto cel-cel, cel-ECM, concentración variable de citocinas y factores de crecimiento
 - Endostio
 - Formado por osteoblastos y osteoclasto
 - ECM: colágeno, elastina (estructurales); fibronectina y laminina, proteoglicanos (especializadas)



Nicho: dúo entre HSC y células mesenquimáticas que regula la autorenovación, diferenciación y quiescencia.

Suple >100 billones de células sanguíneas diariamente

Durante el desarrollo las HSC migran de un nicho a otro para regular su diferenciación

Blood. 2015;125(17):2621-2629

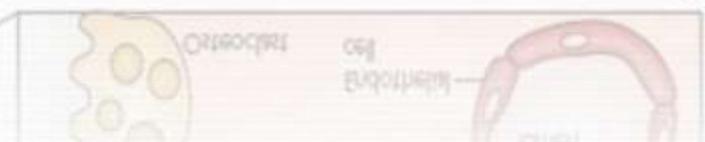
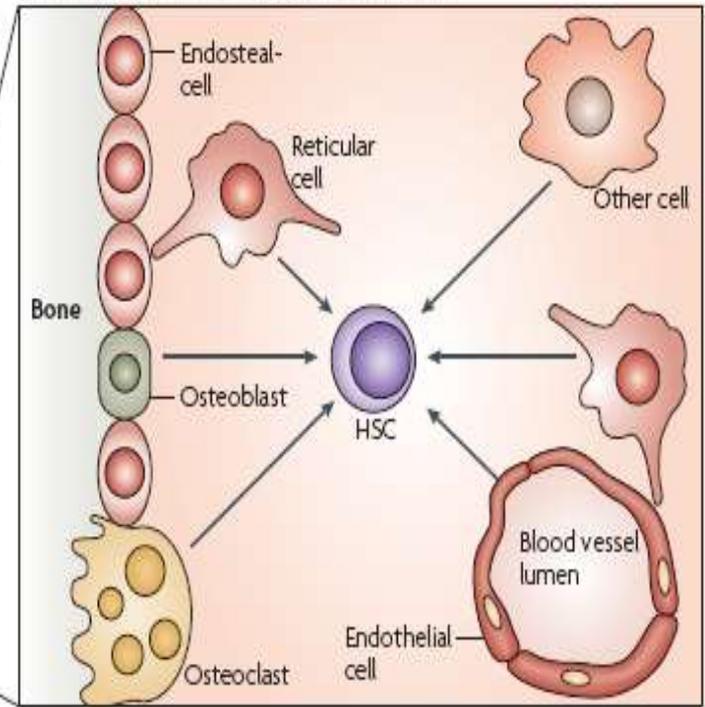
GEN DE LAS HSCs

mantiene a las HCS.

- Sitios de contacto cel-cel, cel-ECM, concentración variable de citocinas y factores de crecimiento
- Endostio
- Formado por osteoblastos y osteoclasto
- ECM: colágeno, elastina (estructurales); fibronectina y laminina, proteoglicanos (especializadas)

S y n

a Contribution of cells near the endosteum



Nicho: dúo entre HSC y células mesenquimáticas que regula la autorenovación, diferenciación y quiescencia.

Suple >100 billones de células sanguíneas diariamente

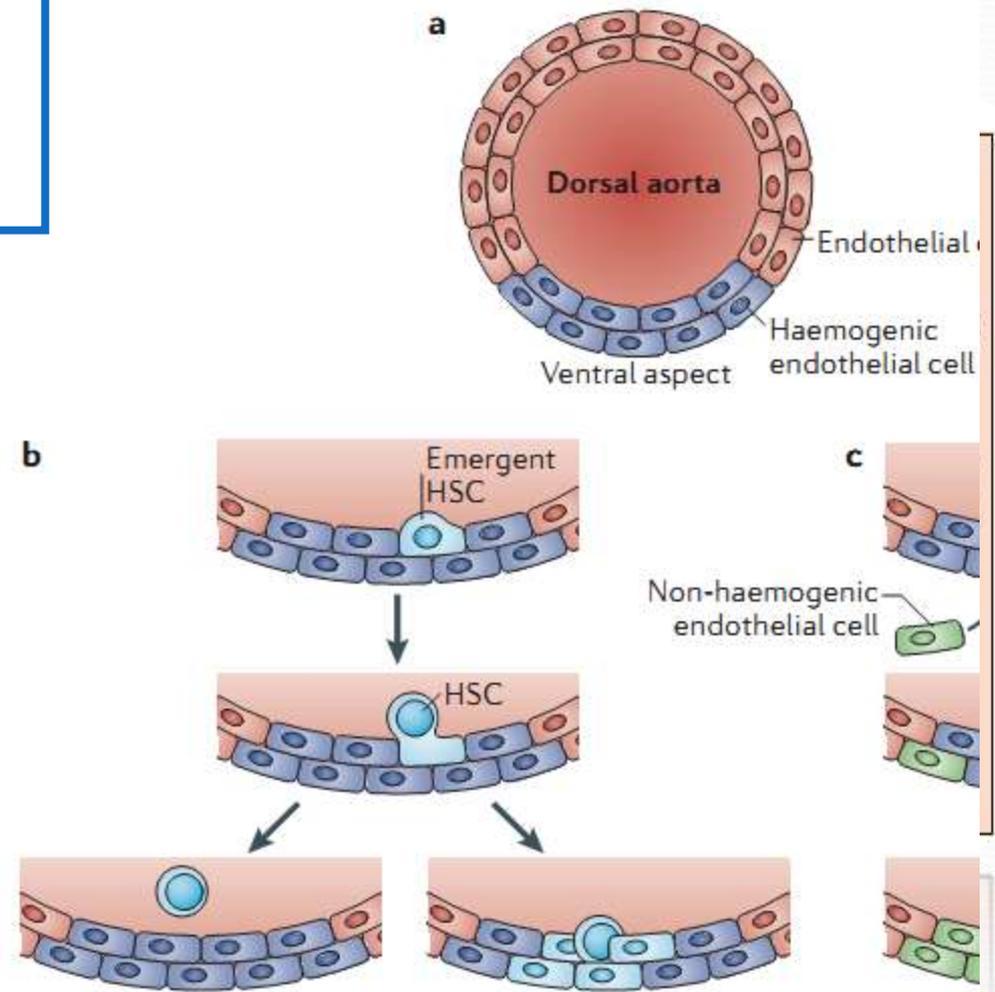
Durante el desarrollo las HSC migran de un nicho a otro para regular su diferenciación

Blood. 2015;125(17):2621-2629

GEN DE LAS HSCs

mantiene a las HSCs.

- Sitios de contacto cel-cel, concentración variable de factores de crecimiento
- Endostio
- Formado por osteoblastos, osteoclastos
- ECM: colágeno, elastina (estructurales); fibronectina, laminina, proteoglicanos (especializadas)



Nicho: dúo entre HSC y células mesenquimáticas que regula la autorenovación, diferenciación y quiescencia.

Suple >100 billones de células sanguíneas diariamente

Durante el desarrollo las HSC migran de un nicho a otro para regular su diferenciación

Blood. 2015;125(17):2621-2629

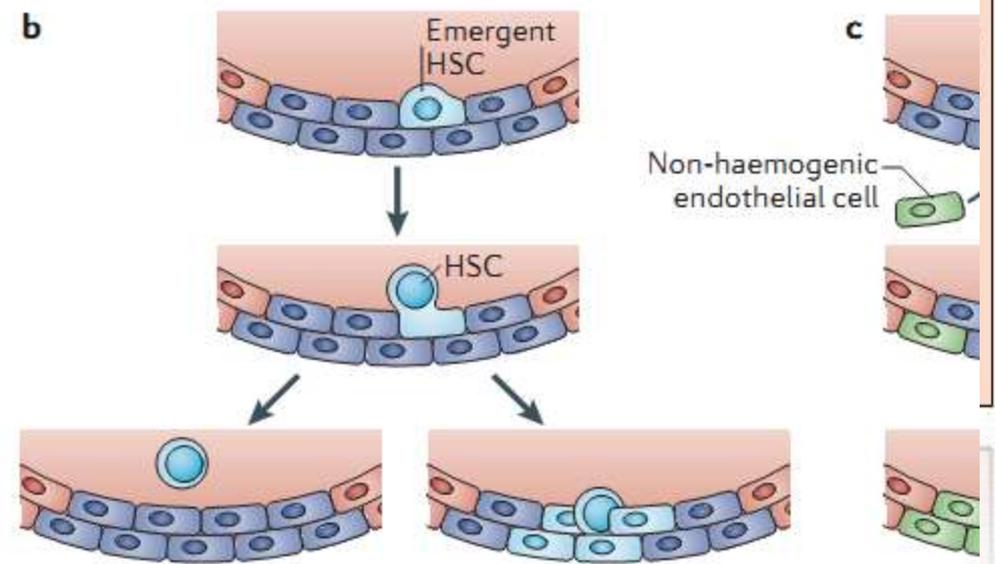
mantiene a las HCS.

- Sitios de contacto cel-cel, concentración variable de factores de crecimiento
- Endostio
- Formado por osteoblastos, osteoclastos
- ECM: colágeno, elastina (estructurales); fibronectina, laminina, proteoglicanos (especializadas)

G

La placenta representa el principal reservorio de HSC hasta el nacimiento. Una vez desarrollada la vasculatura las HSCs migran al hígado fetal ahí ciclan de manera activa, en contraste a su contraparte de la medula ósea. Cuando comienza a desarrollarse los condrocitos y osteoblastos se activa el «homing» of HSCs y colonización de la medula ósea fetal. Proceso mediado por CXCL12

Blood. 2015;125(17):2621-2629

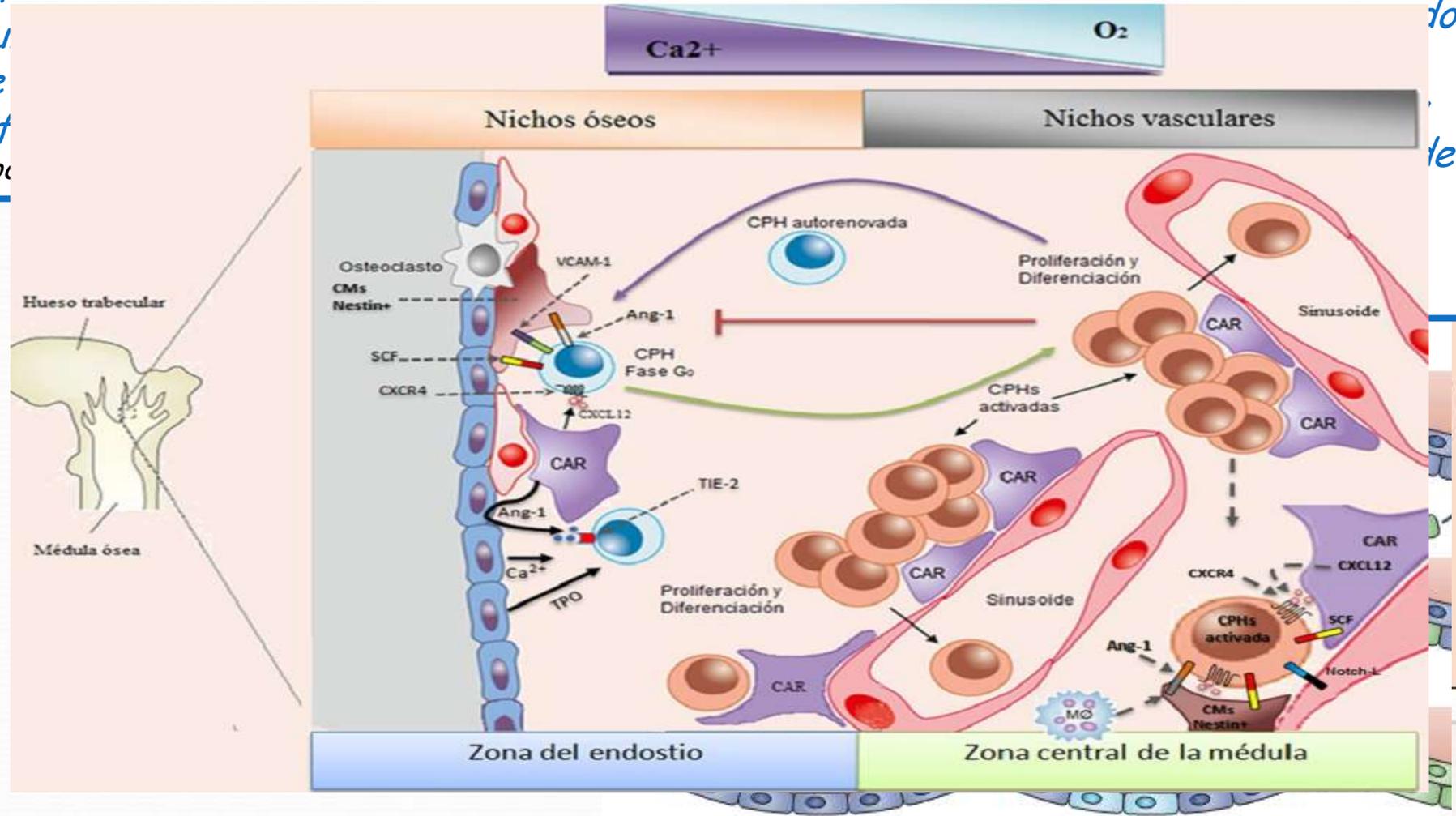


Nicho: dúo entre HSC y células mesenquimáticas que regula la autorenovación, diferenciación y quiescencia.

Suple >100 billones de células sanauíneas diariamente

Du
de
dit
Blo

*La placenta representa el principal reservorio de HSC hasta el nacimiento
Una vez desarrollada la vasculatura las HSCs migran al hígado fetal ahí ciclan de manera activa, en contraste a su*

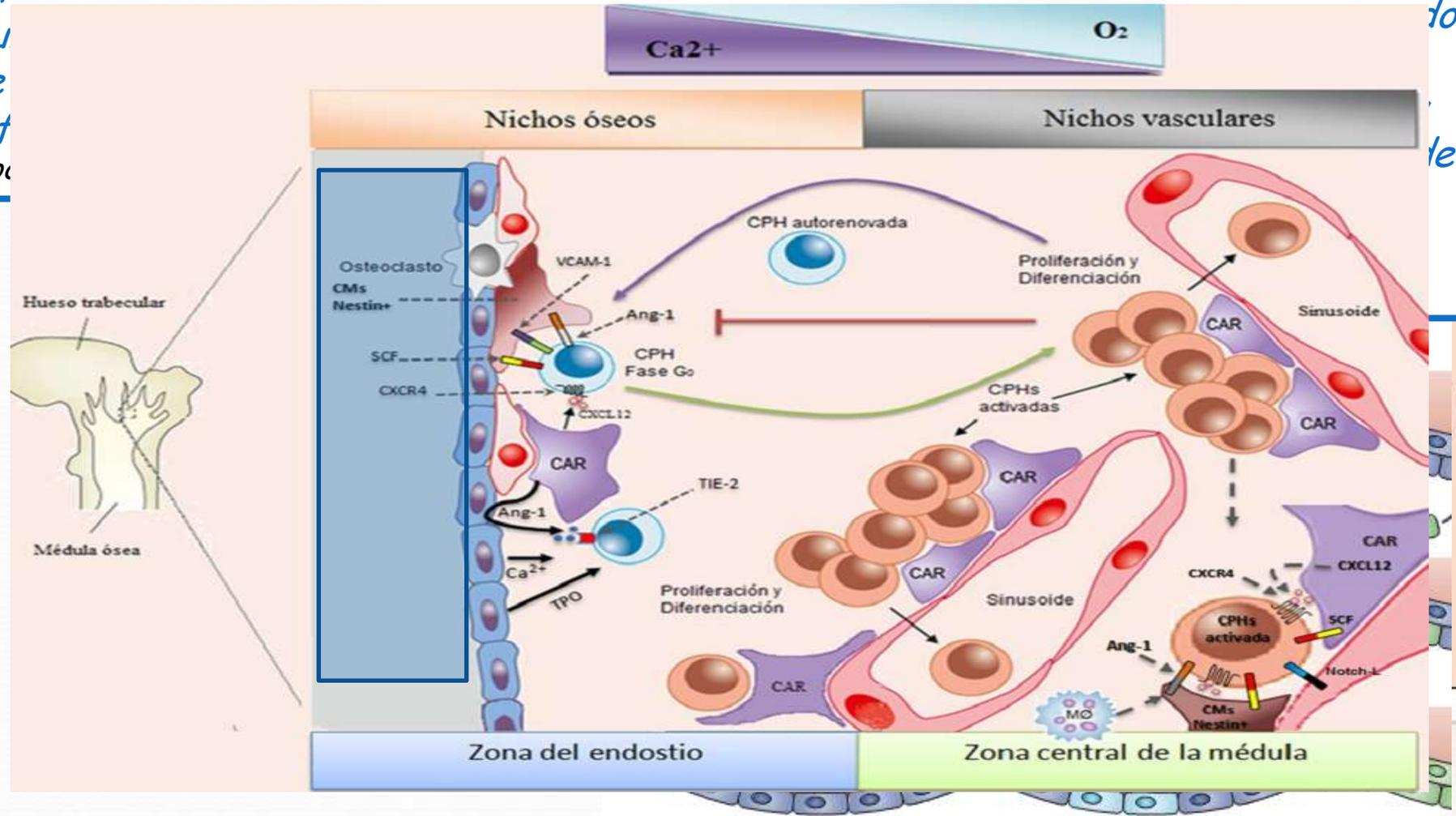


Nicho: dúo entre HSC y células mesenquimáticas que regula la autorenovación, diferenciación y quiescencia.

Suple >100 billones de células sanauíneas diariamente

Du
de
dit
Blo

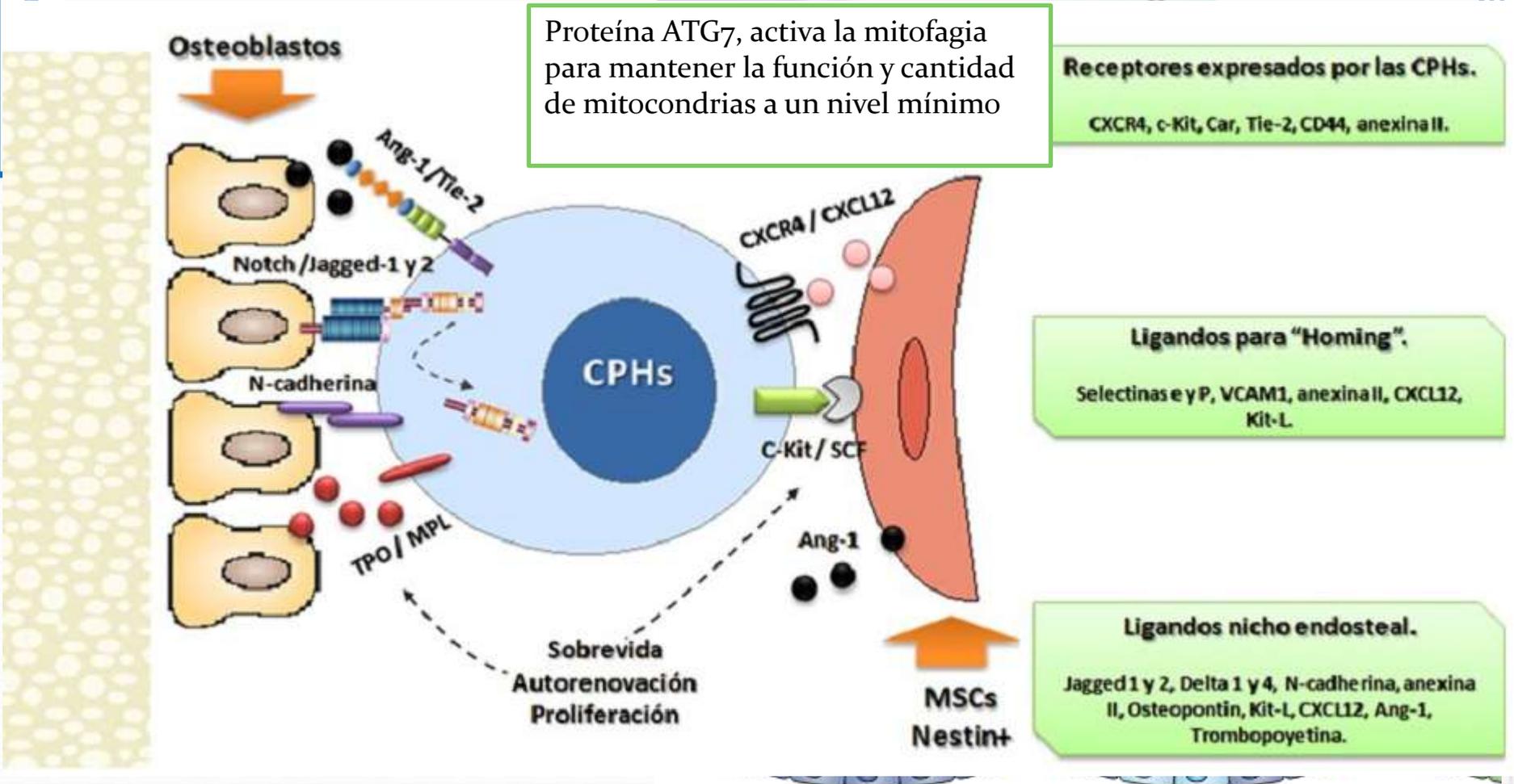
La placenta representa el principal reservorio de HSC hasta el nacimiento
Una vez desarrollada la vasculatura las HSCs migran al hígado fetal ahí ciclan de manera activa, en contraste a su

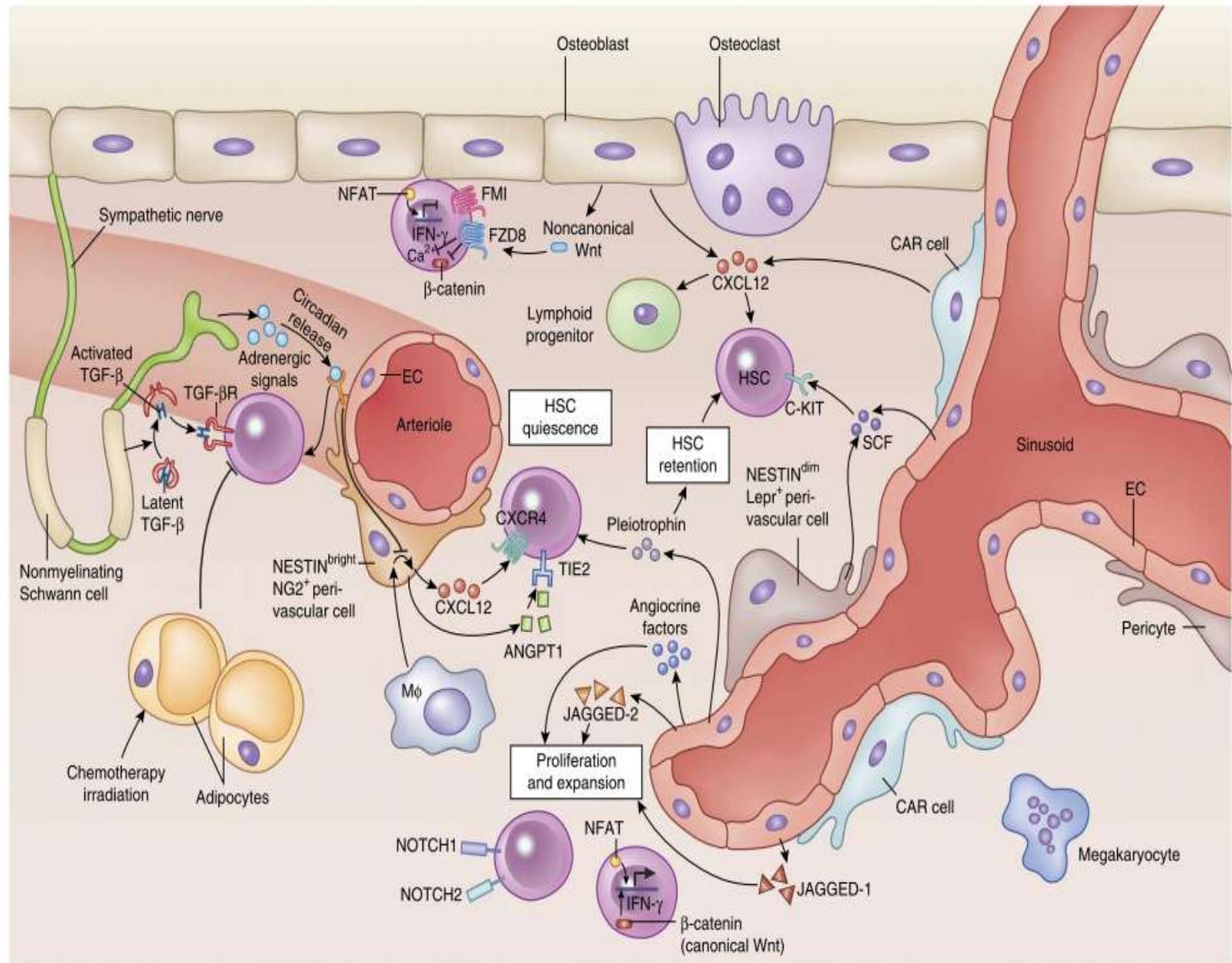


Nicho: dúo entre HSC y células mesenquimáticas que regula la autorenovación, diferenciación y quiescencia.

Suple >100 billones de células sanauíneas diariamente

La placenta representa el principal reservorio de HSC hasta el nacimiento. Una vez desarrollada la vasculatura las HSCs migran al hígado fetal ahí ciclan de manera activa, en contraste a su

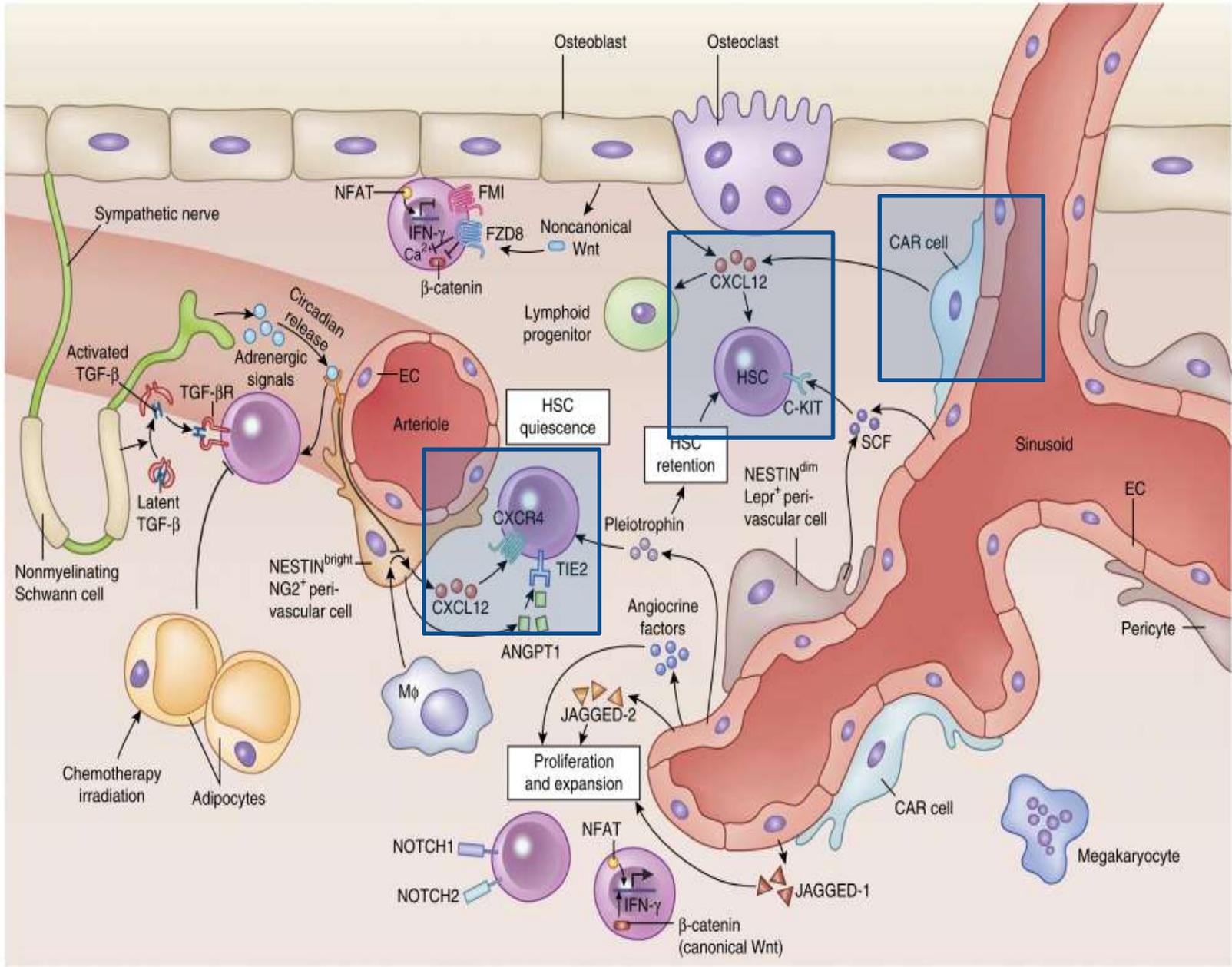




Debbie Maizels/Nature Publishing Group

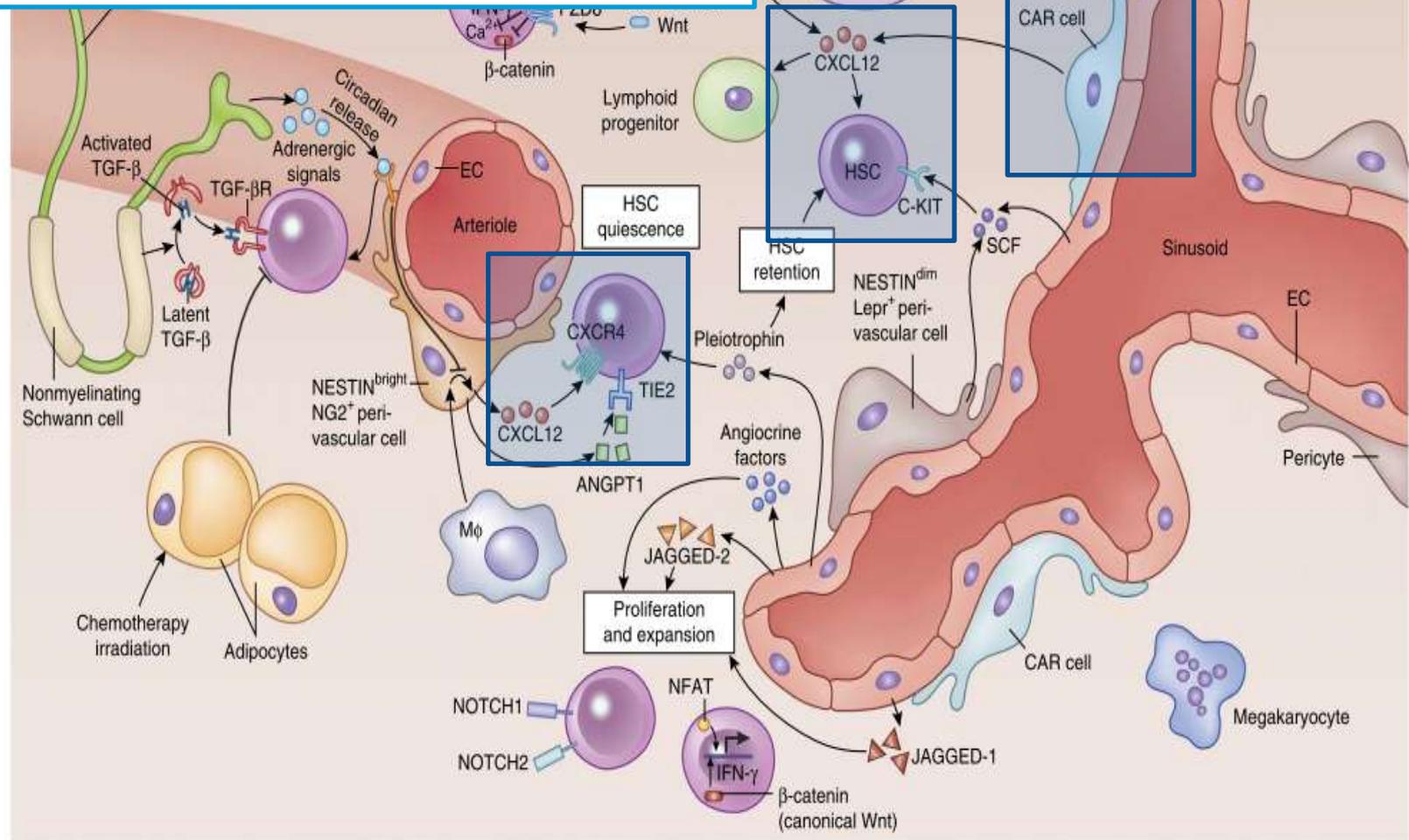
a, Inc. All rights reserved.

a, Inc. All rights reserved.



Debbie Maizels/Nature Publishing Group

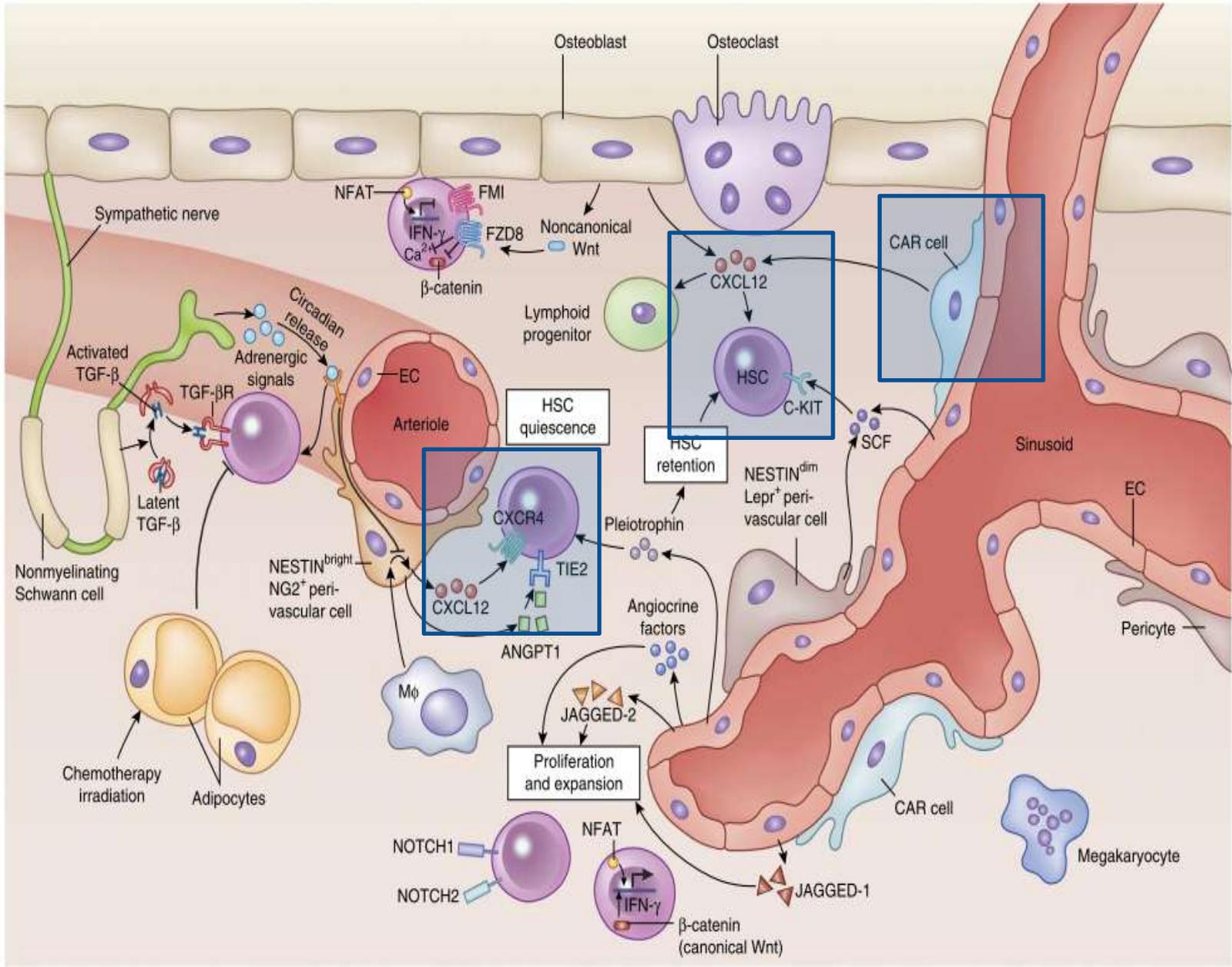
Las células estromales perivasculares expresan altas cantidades de CXCL12, denominadas CXCL12-abundant reticular (CAR) cells, regulan HSC autorenovación, proliferación y tráfico.
Nat Med 20 AUGUST 2014



Debbie Maizels/Nature Publishing Group

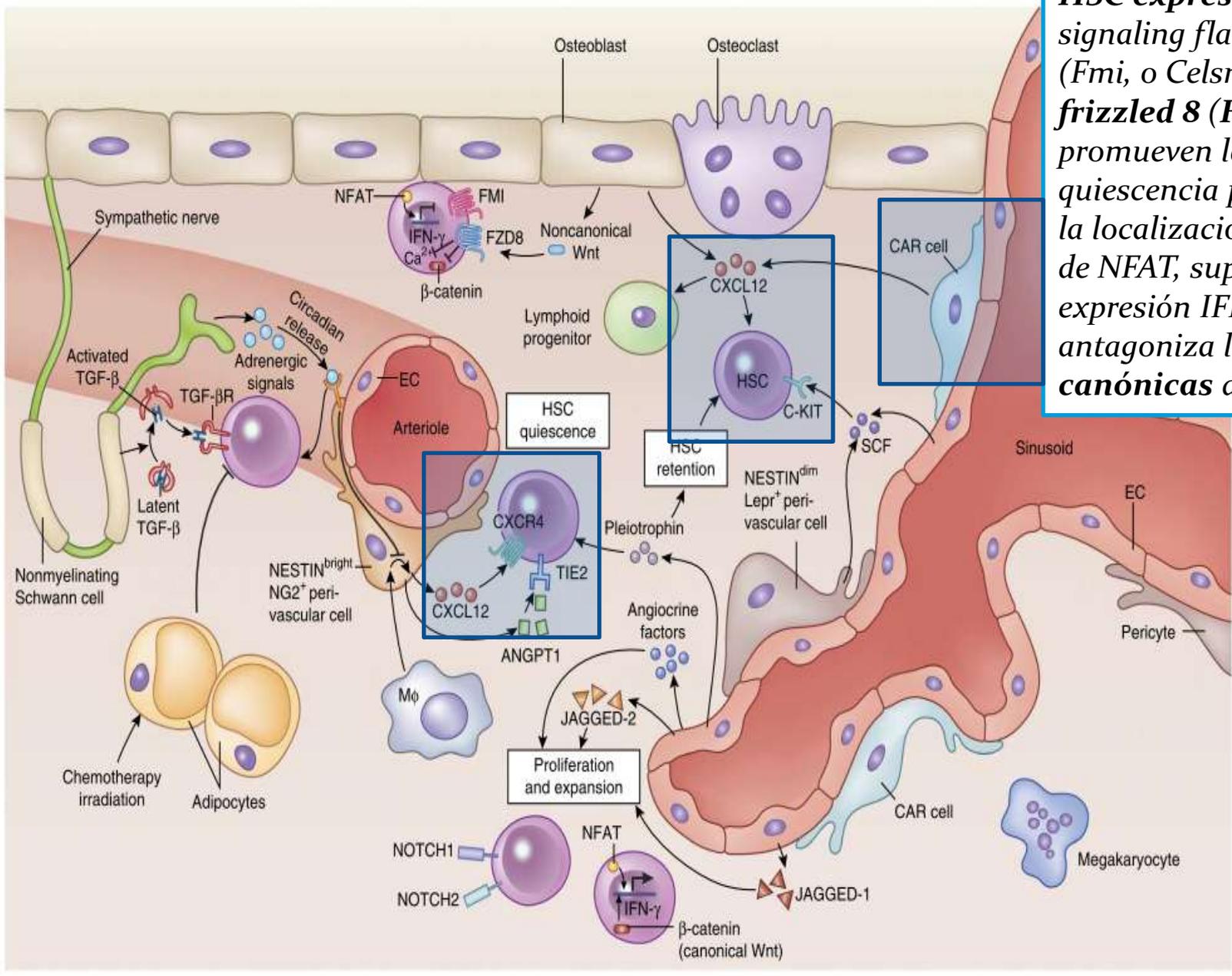
a, Inc. All rights reserved.

a, Inc. All rights reserved.



Debbie Maizels/Nature Publishing Group

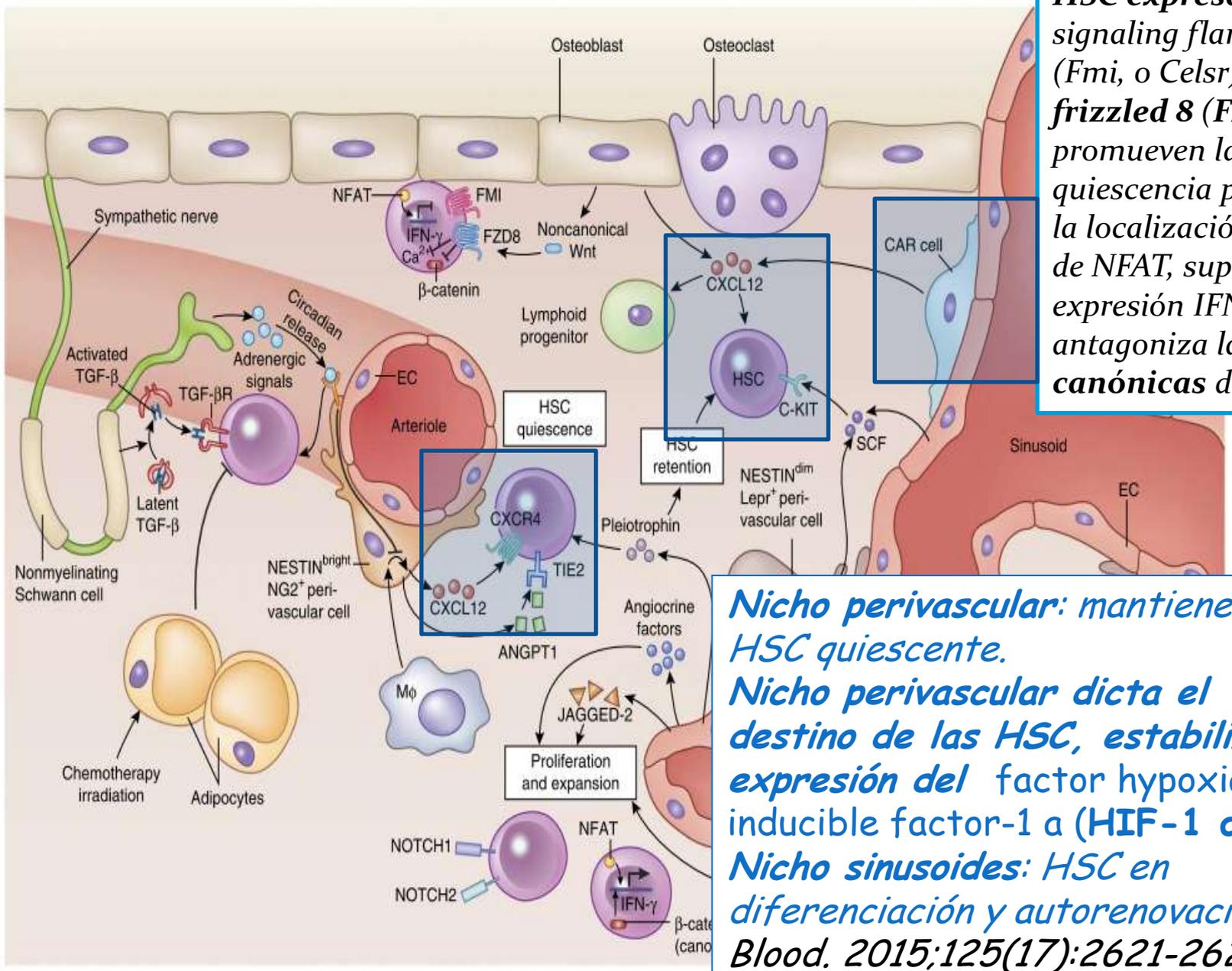
HSC expresan: *Wnt* signaling *flamingo* (*Fmi*, o *Celsr*) y *frizzled 8* (*Fzd8*), promueven la quiescencia por evitar la localización nuclear de NFAT, suprime expresión *IFN-γ* y antagoniza las señales canónicas de *Wnt*



a, Inc. All rights reserved.

Debbie Maizels/Nature Publishing Group

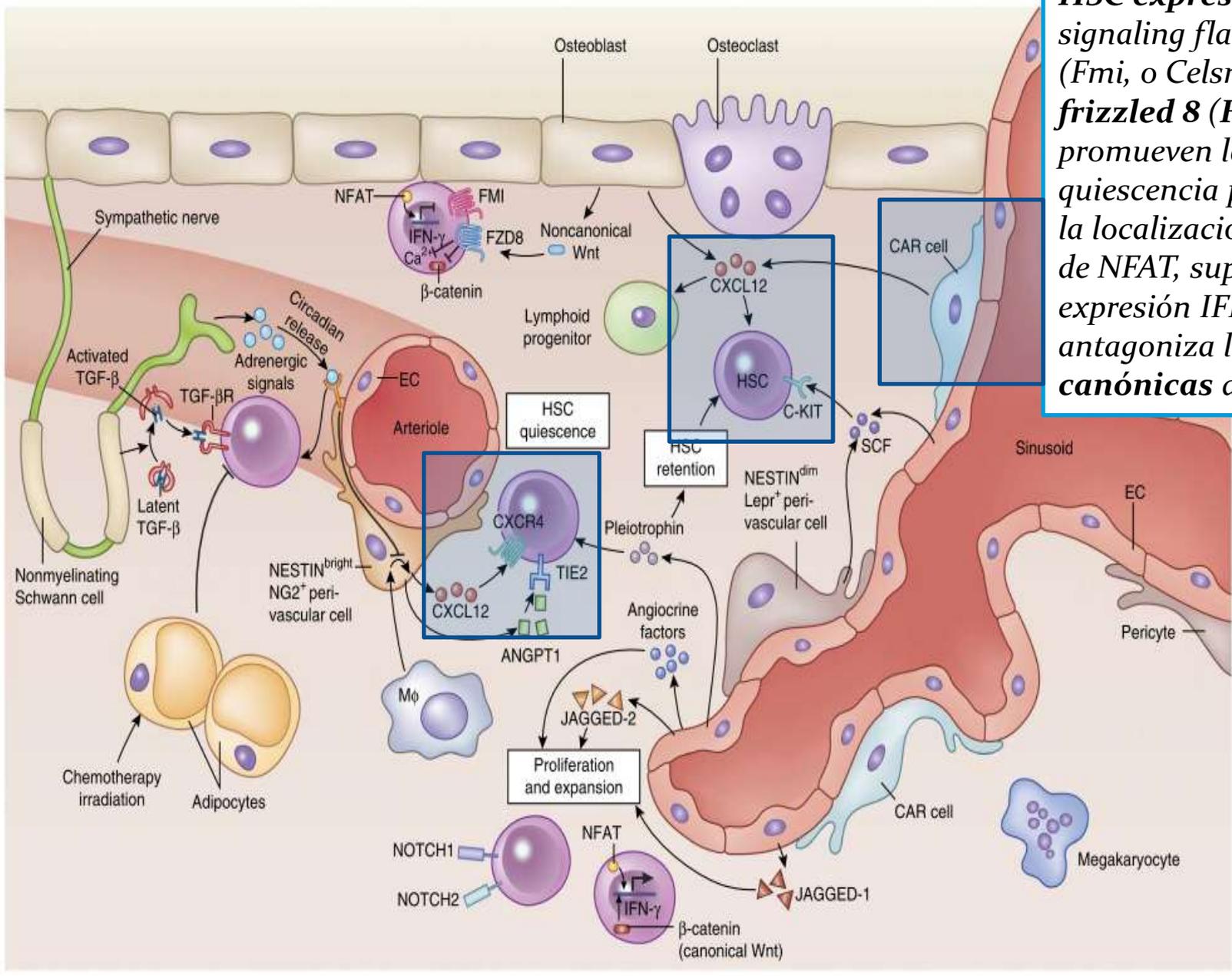
HSC expresan: *Wnt* signaling flamingo (*Fmi*, o *Celsr*) y *frizzled 8* (*Fzd8*), promueven la quiescencia por evitar la localización nuclear de NFAT, suprime expresión *IFN-γ* y antagoniza las señales canónicas de *Wnt*



Nicho perivascular: mantiene a las HSC quiescente.
Nicho perivascular dicta el destino de las HSC, estabiliza la expresión del factor hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α)
Nicho sinusoides: HSC en diferenciación y autorenovación
Blood. 2015;125(17):2621-2629

a, Inc. All rights reserved.

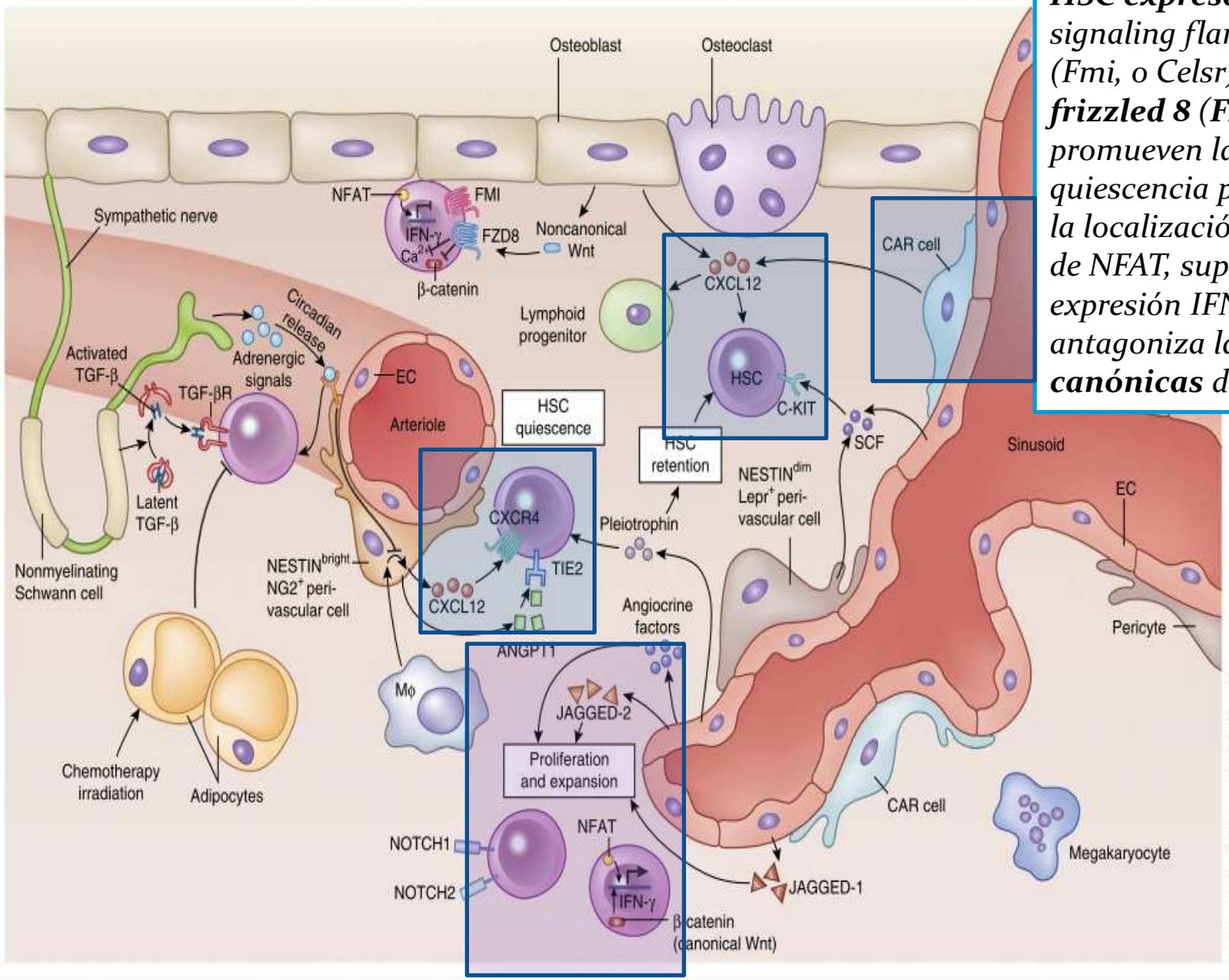
HSC expresan: *Wnt* signaling flamingo (*Fmi*, o *Celsr*) y *frizzled 8 (Fzd8)*, promueven la quiescencia por evitar la localización nuclear de NFAT, suprime expresión *IFN-γ* y antagoniza las señales canónicas de *Wnt*



a, Inc. All rights reserved.

Debbie Maizels/Nature Publishing Group

HSC expresan: *Wnt* signaling *flamingo* (*Fmi*, o *Celsr*) y *frizzled 8* (*Fzd8*), promueven la quiescencia por evitar la localización nuclear de NFAT, suprime expresión *IFN-γ* y antagoniza las señales canónicas de *Wnt*



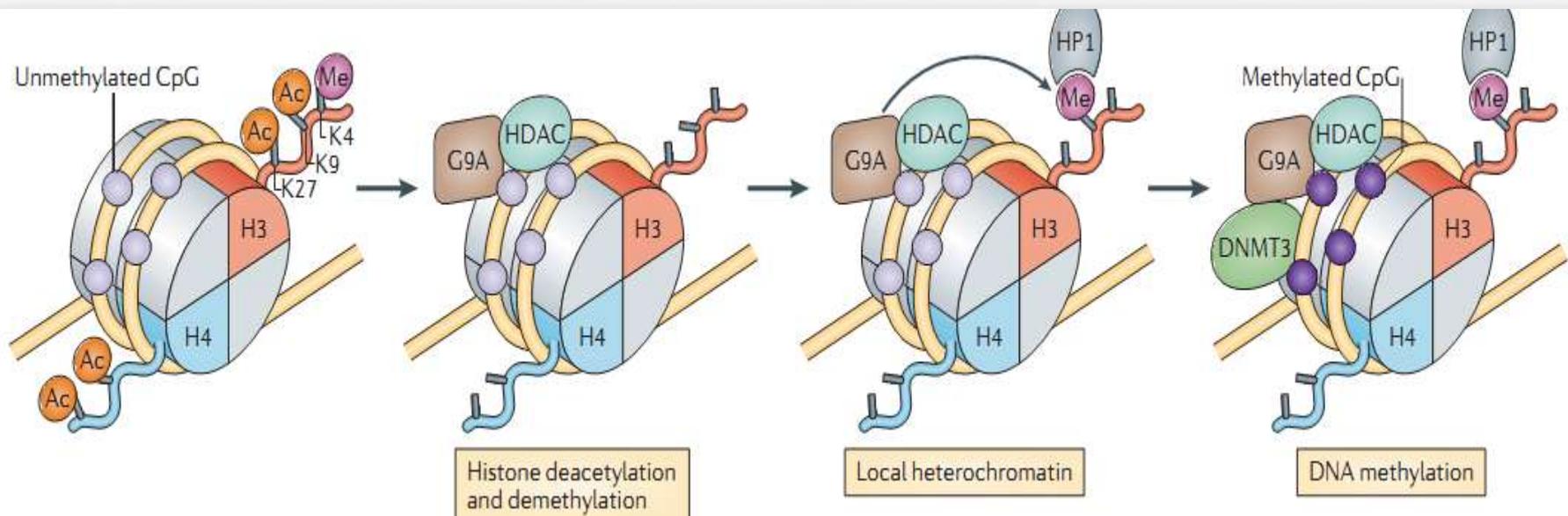
a, Inc. All rights reserved.

Debbie Maizels/Nature Publishing Group

Ontogenia: ORIGEN DE LAS HSCs

Mecanismos asociados a regular la quiescencia e inmadurez

El complejo represivo Polycomb (CRP) asociado con fenómenos de metilación metilación/demetilación del ADN y así reprimir genes asociados con la diferenciación



Ontogenia: ORIGEN DE LAS HSCs

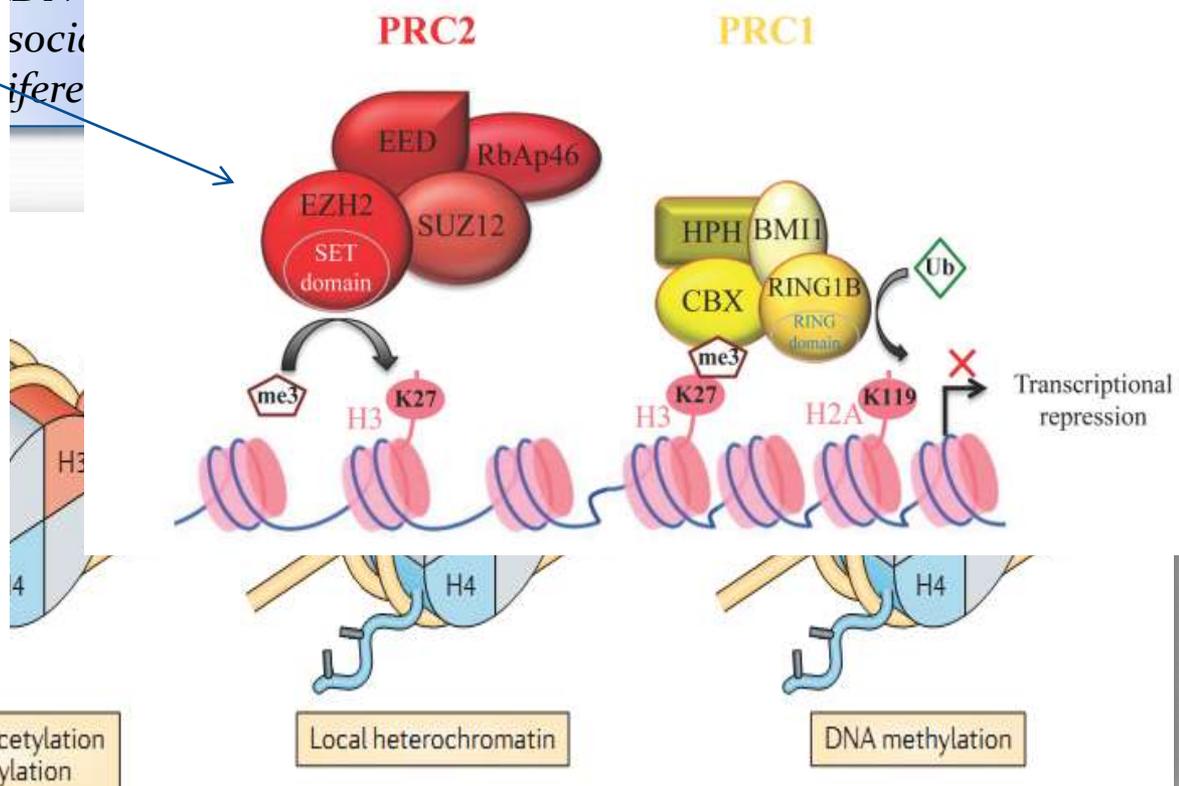
Mecanismos asociados a regular la quiescencia e inmadurez

EZH2, es el mas importante modificador de histonas (tri-methylation of lysine 27 on histone H3 (H3K27me3)), es la unidad catalítica del Polycomb Repressive Complex 2 (PRC2).

Previene la maduración y el envejecimiento de HSC, pero no su capacidad de autorenovación

Herviou, Oncotarget, 2015 Vol. 7, No. 3

El complejo represivo Polycomb (CRP) asociado con fenómenos de metilación y demetilación del ADN asociado a la diferenciación



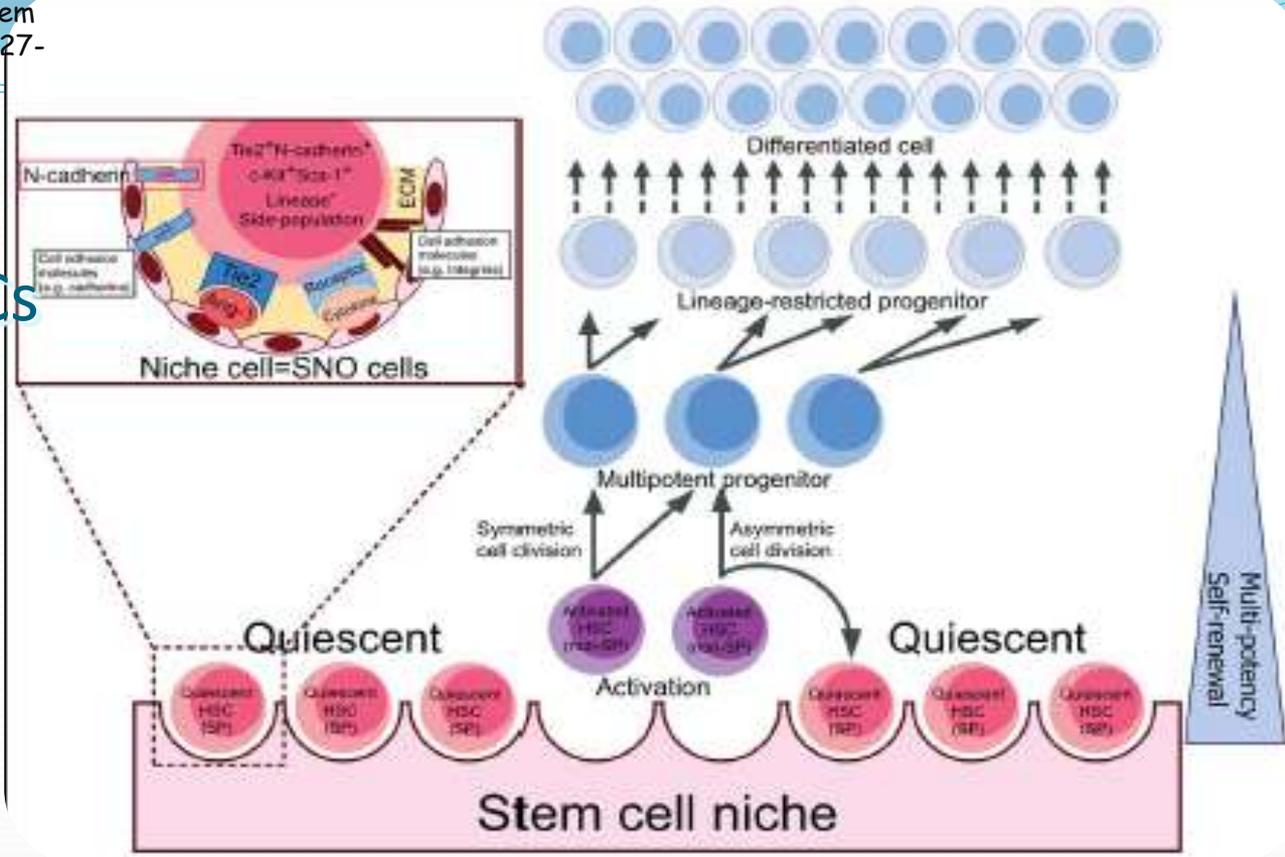
Histone deacetylation and demethylation

Local heterochromatin

DNA methylation

Ontogenia: ORIGEN DE LAS HSCs

Arresto en el ciclo celular y adhesión a los osteoblastos

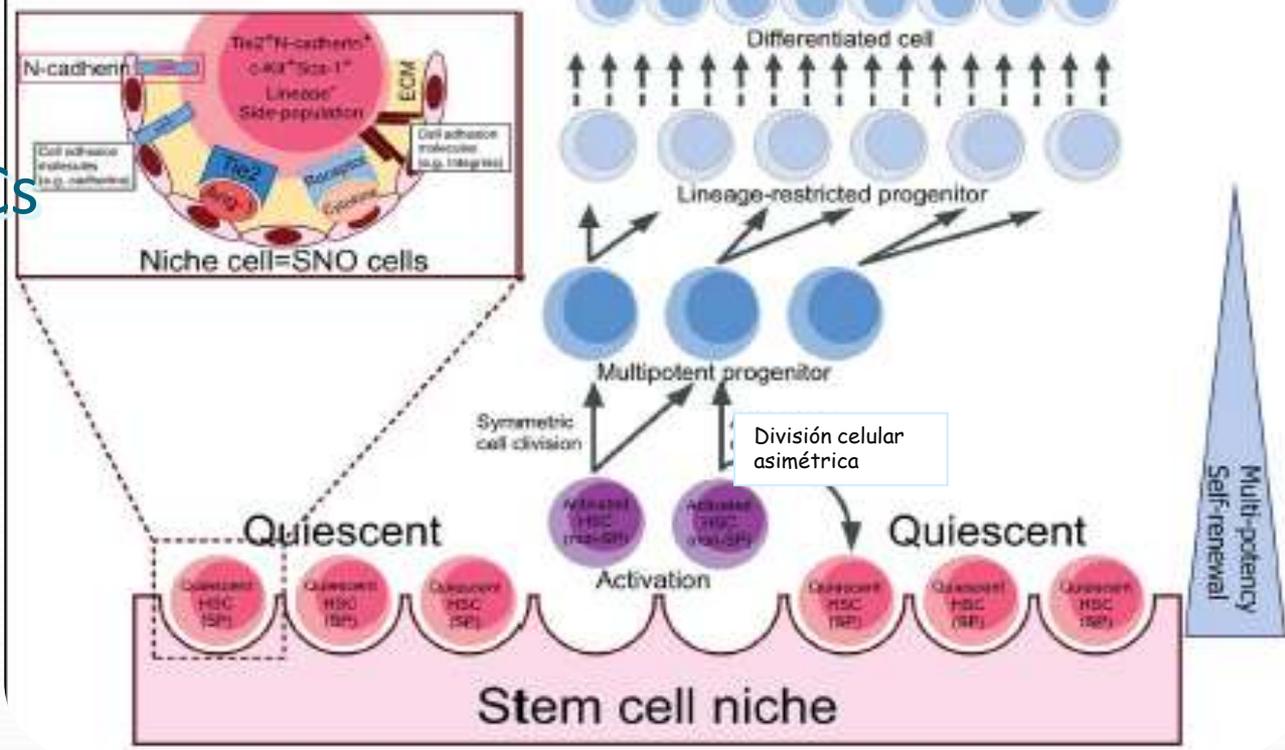


Inicio de la diferenciación requiere de activación de c-Myc, pérdida de la expresión de N-caderina e integrinas

- Características de las HSCs en reposo
1. Protección contra el estrés
 - a) Regulación de radicales libre, actividad de aldehído deshidrogenasa
 2. Adhesión a los nichos
 - a) Bajo requerimiento de factores de crecimiento, inhibición de la apoptosis, enlentecimiento del ciclo celular y unión por N-cadherin a osteoblastos
 3. Hipoxia en los nichos: 1-6%

Ontogenia: ORIGEN DE LAS HSCs

Arresto en el ciclo celular y adhesión a los osteoblastos



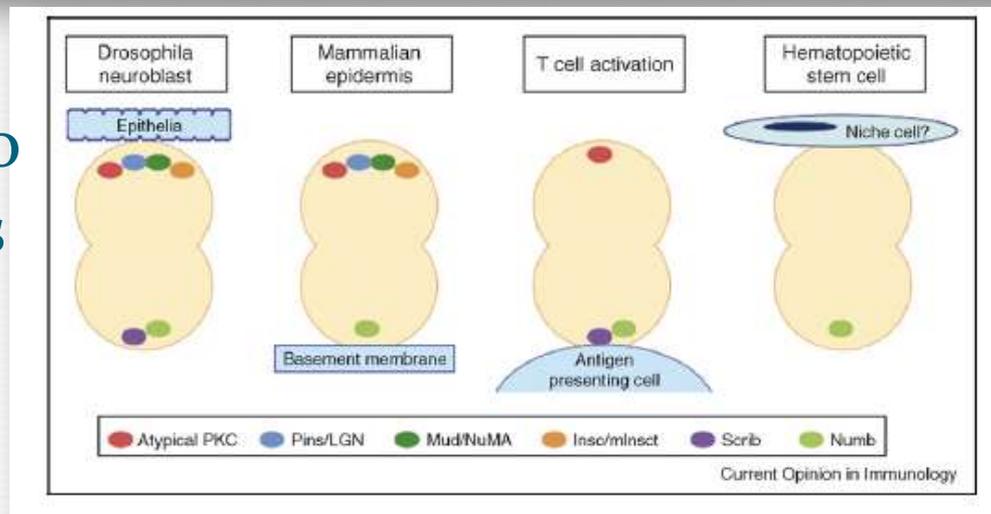
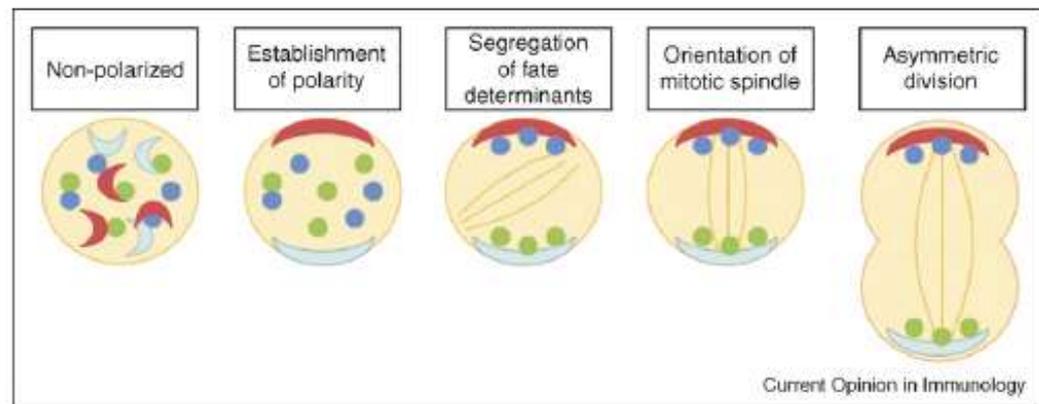
Inicio de la diferenciación requiere de activación de c-Myc, pérdida de la expresión de N-caderina e integrinas

- Características de las HSCs en reposo
1. Protección contra el estrés
 - a) Regulación de radicales libre, actividad de aldehído deshidrogenasa
 2. Adhesión a los nichos
 - a) Bajo requerimiento de factores de crecimiento, inhibición de la apoptosis, enlentecimiento del ciclo celular y unión por N-cadherin a osteoblastos
 3. Hipoxia en los nichos: 1-6%

Ontogenia: ORIGEN DE LAS HSCs

- “Stem cell”: División celular asimétrica, simétrica autorenovación y simétrica comisionada
- Preservación de la autorenovación
- Mecanismo propuesto en linfocitos maduros para generar células hijas efectoras y de memoria

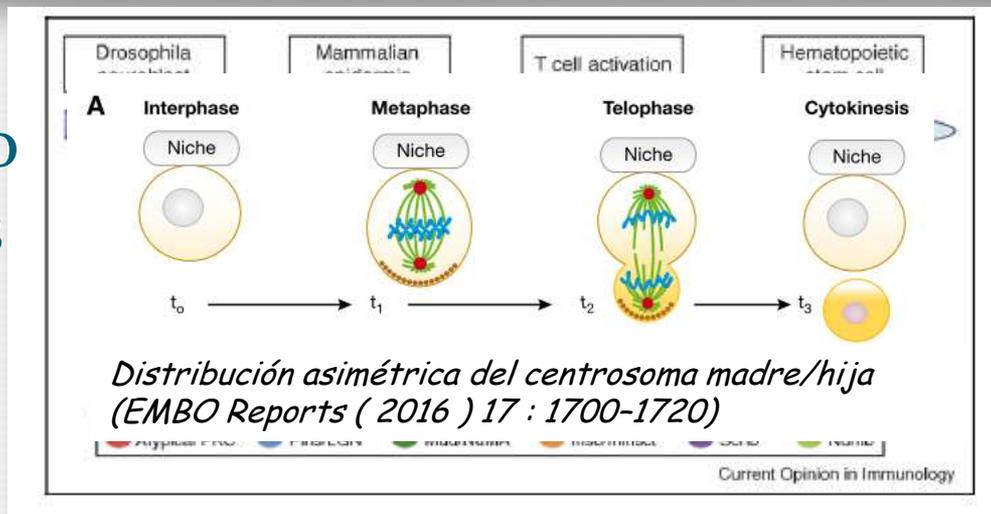
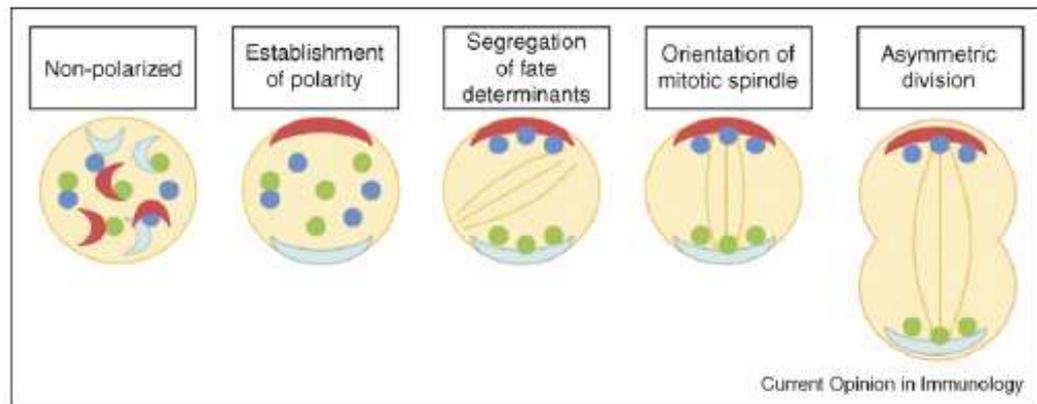
Ubicación del huso mitótico perpendicular al nicho, así asegurar que una de las hijas pierda el contacto con el nicho



Ontogenia: ORIGEN DE LAS HSCs

- “Stem cell”: División celular asimétrica, simétrica
 autorenovación y simétrica comisionada
- Preservación de la autorenovación
- Mecanismo propuesto en linfocitos maduros para generar células hijas efectoras y de memoria

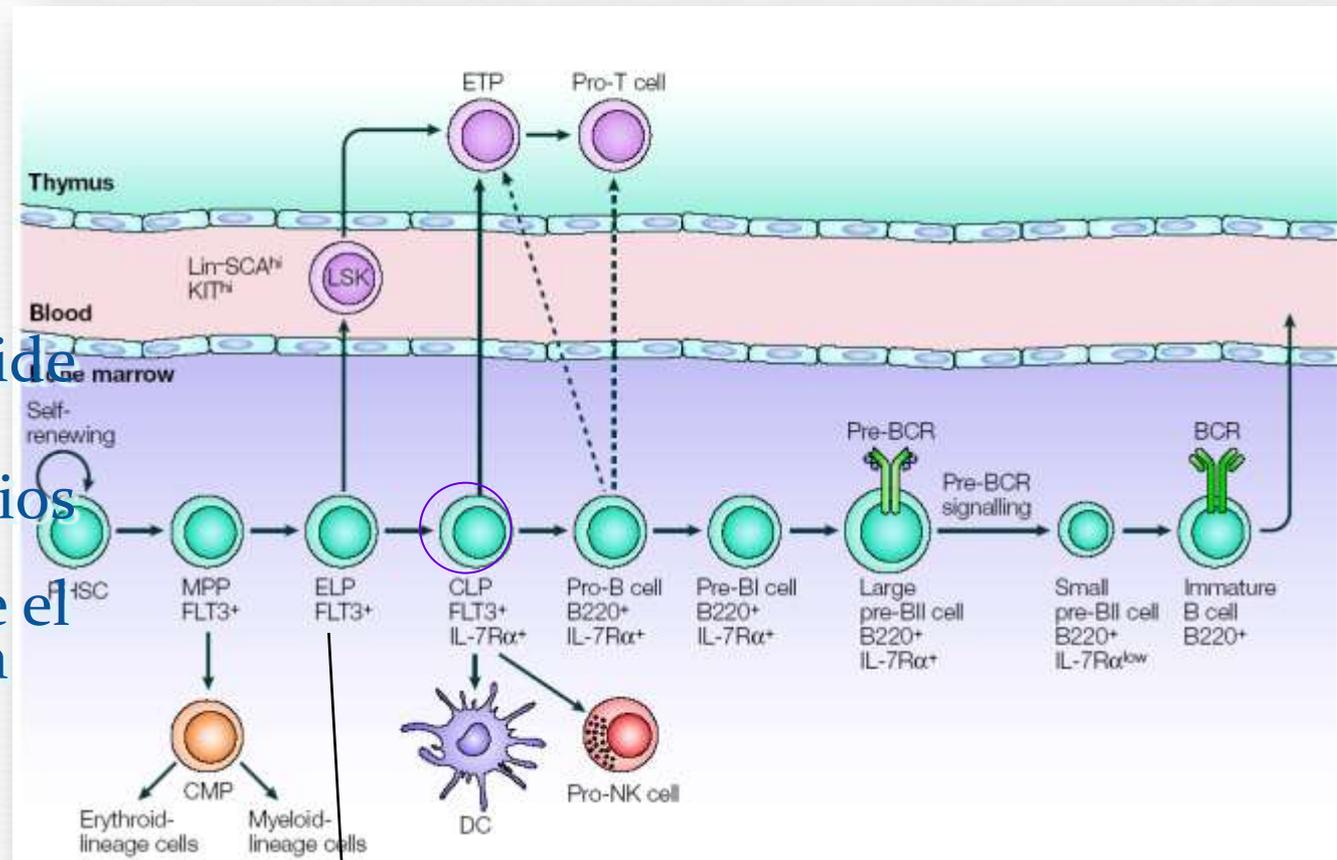
Ubicación del huso mitótico perpendicular al nicho, así asegurar que una de las hijas pierda el contacto con el nicho



Ontogenia de linfocitos

CLP: precursor linfoide común
CMP: precursor mieloide común

- Primer paso: Progenitor multipotencial origina el linaje linfoide y mieloide
- En ciertos estadios de maduración puede revertirse el desarrollo de un linaje celular

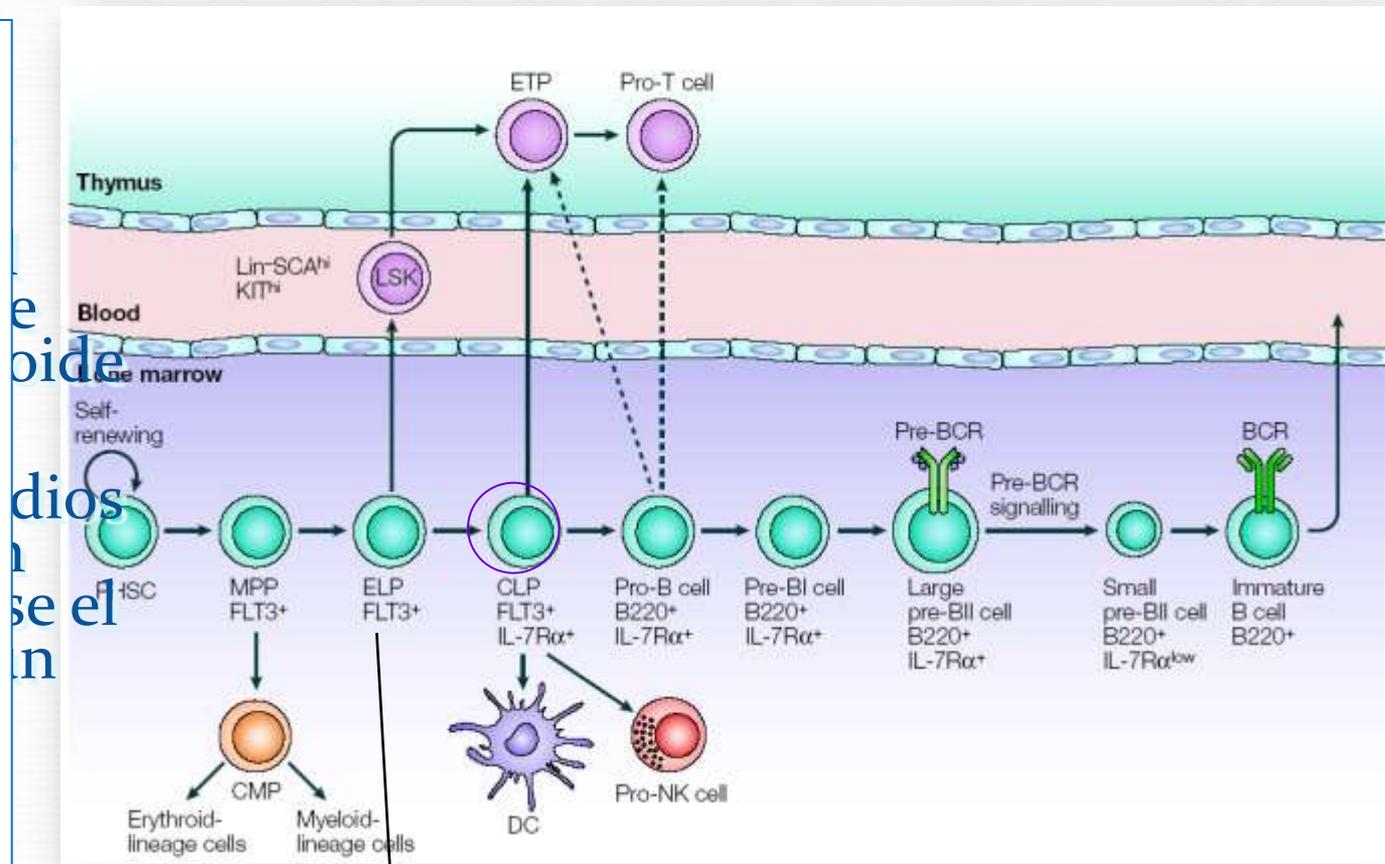


Comienza a expresar Rag (recombinasas)

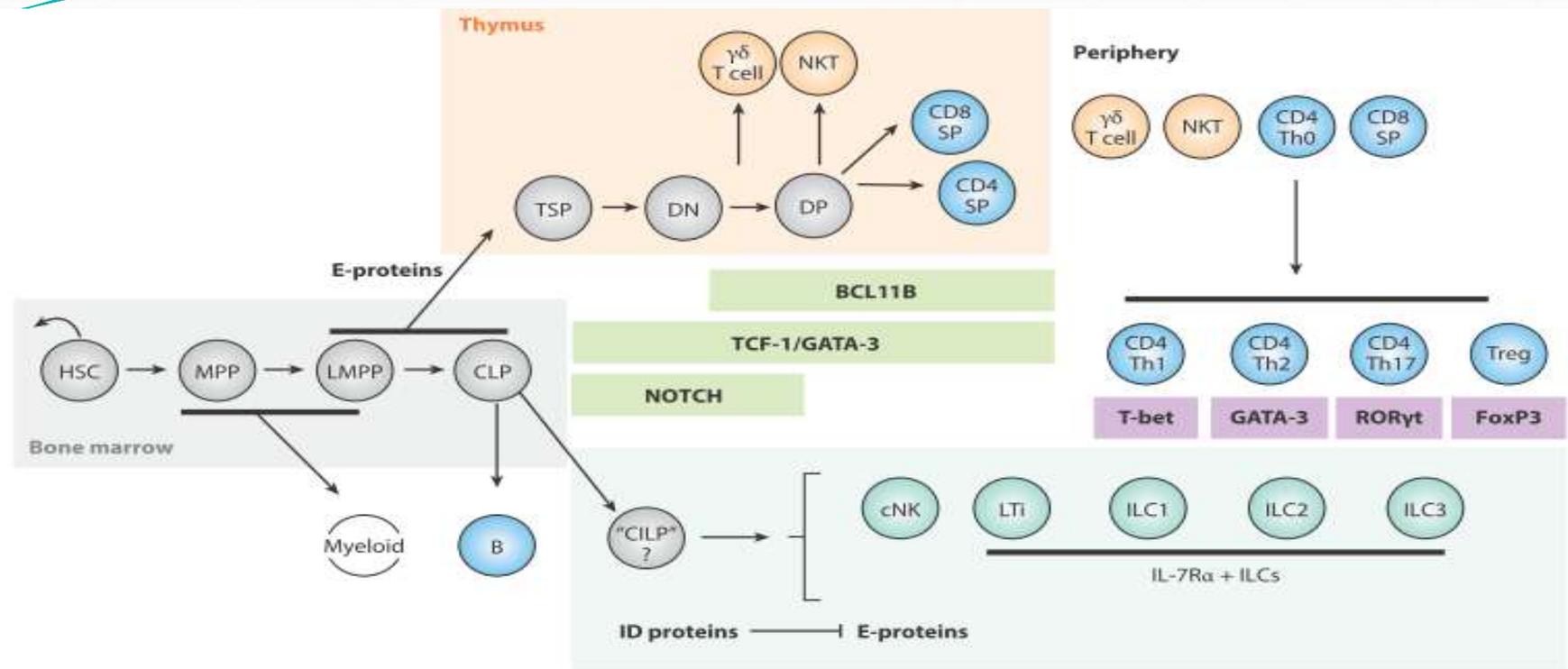
Ontogenia de linfocitos

CLP: precursor linfoide común
CMP: precursor mieloide común

HSCs diferenciación marcada por incremento de la expresión de Flt3 (cytokine receptor) para generar progenitor multipotente (MPPs). Luego la expresión de IL-7Ra marca al Progenitor linfoide comun (CLPs) Annu. Rev. Immunol. 2015.33:607-642

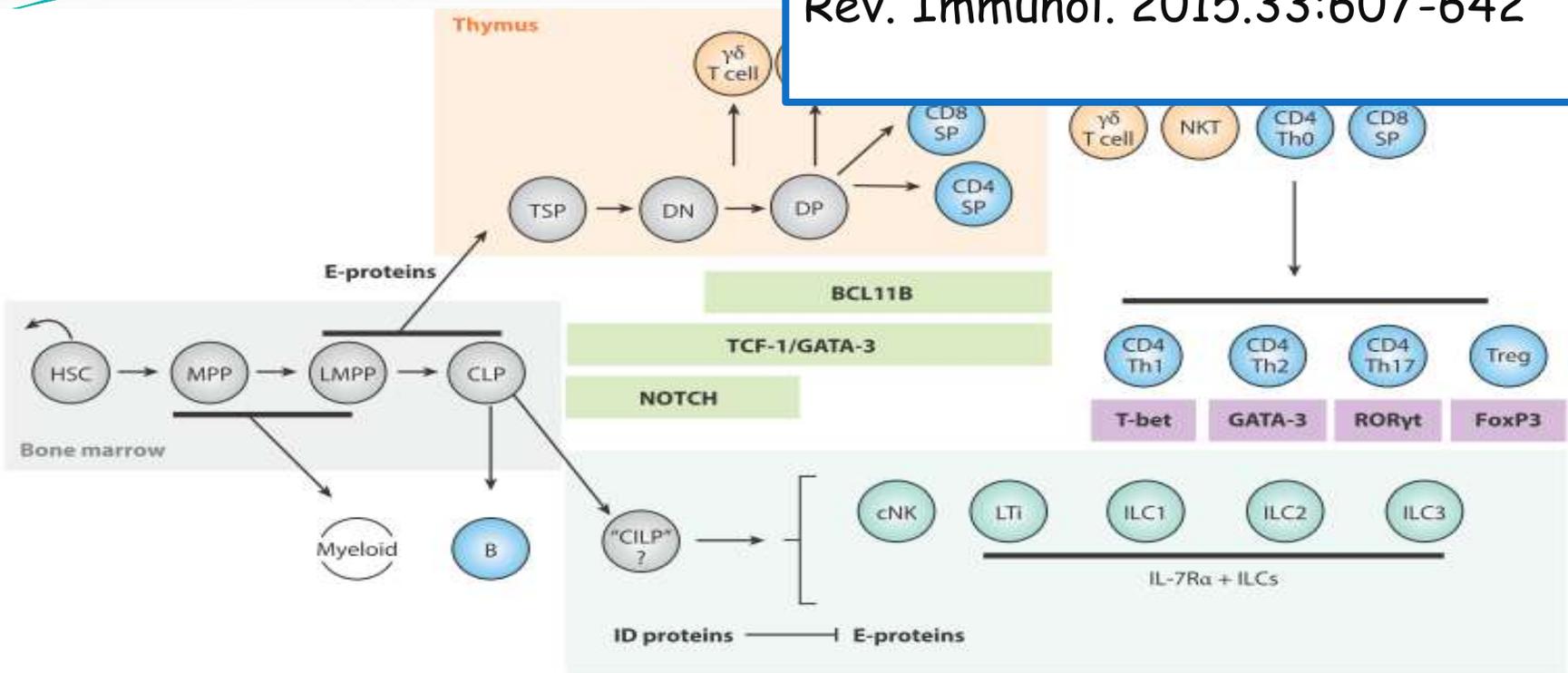


Comienza a expresar Rag (recombinasas)



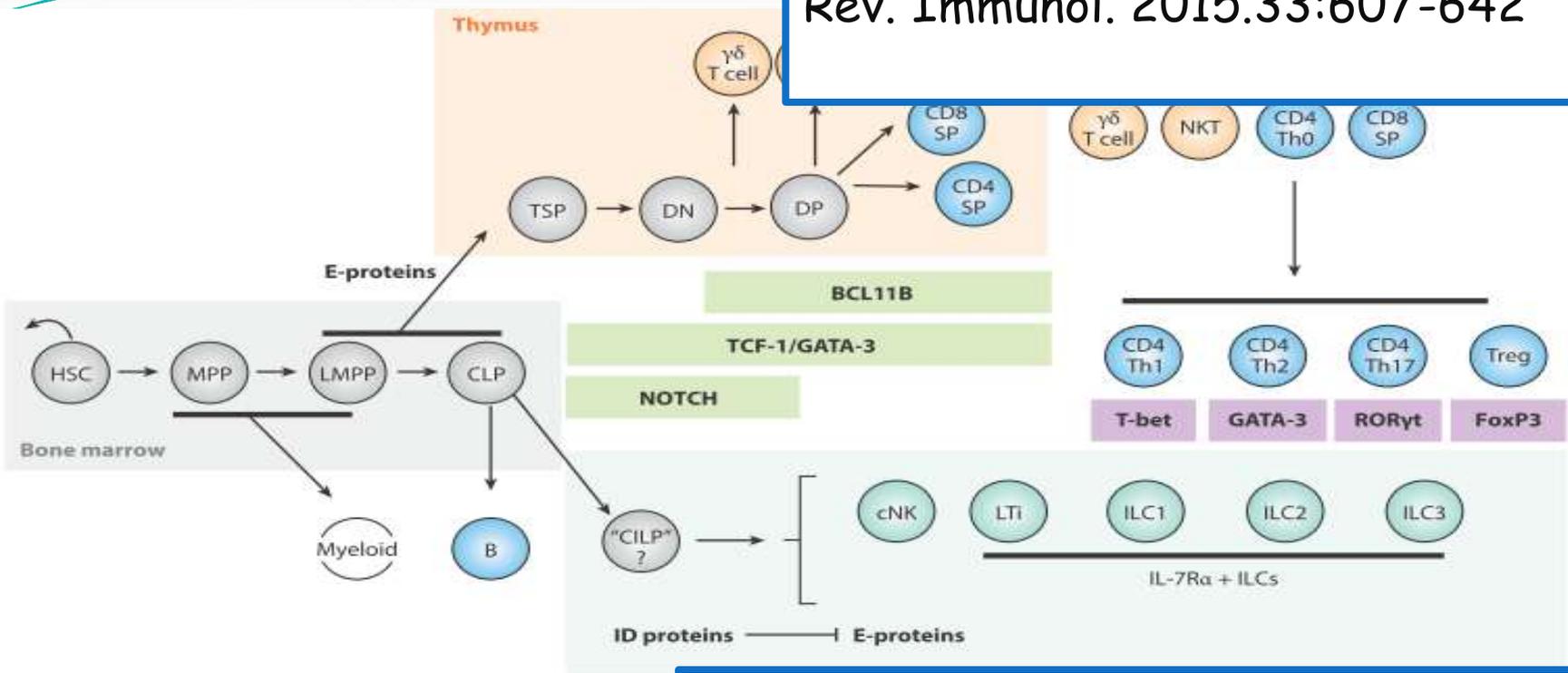
Progenitors	"Core" T cell and ILC TF network	Innate-like T lymphocytes
Innate lymphocytes	Adaptive lymphocytes	Master regulators of effector lymphocytes

Qué detiene la maduración mieloide en la medula ósea?: E-proteins, Annu. Rev. Immunol. 2015.33:607-642



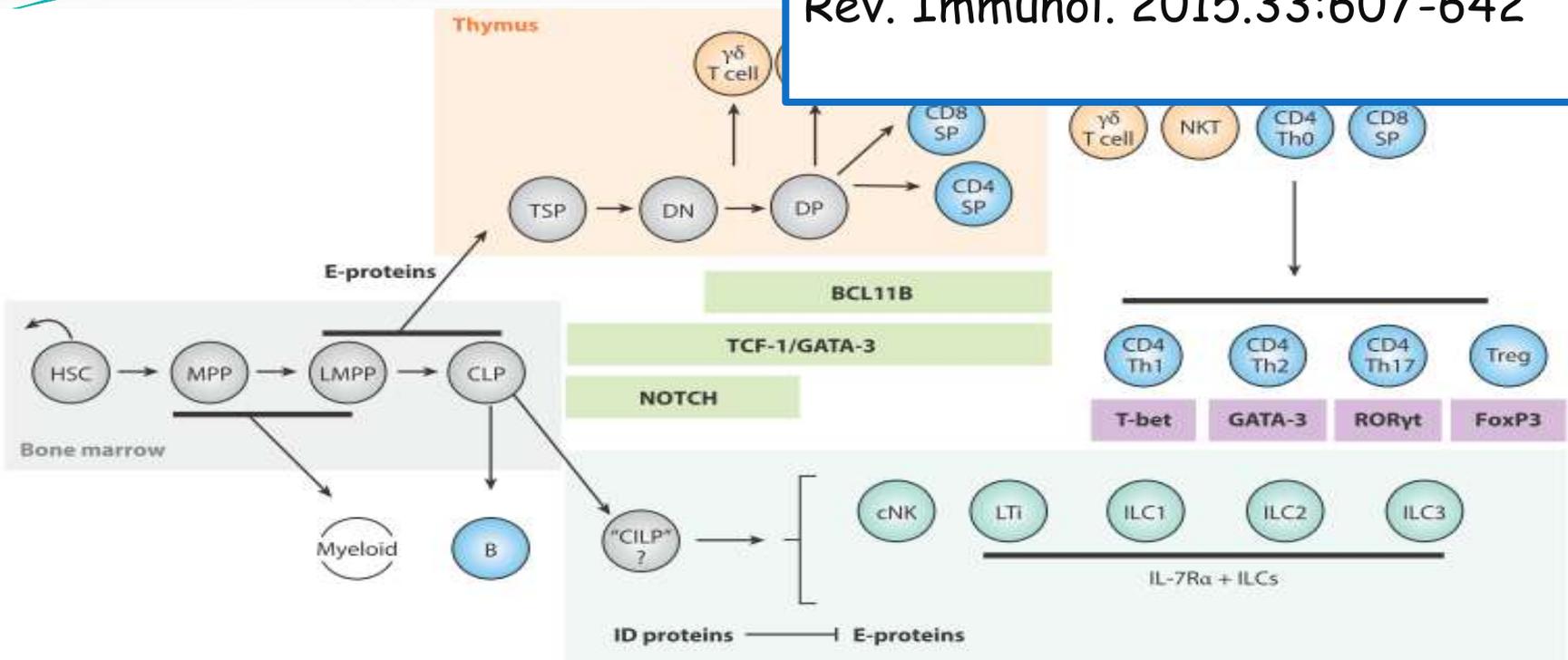
Progenitors	"Core" T cell and ILC TF network	Innate-like T lymphocytes
Innate lymphocytes	Adaptive lymphocytes	Master regulators of effector lymphocytes

Qué detiene la maduración mieloide en la medula ósea?: E-proteins, Annu. Rev. Immunol. 2015.33:607-642



- *E-proteins: activan expresión de Notch y el represor Hes1, que bloquean genes mieloides en el timo. Inhiben expresión de PU.1*
 - *E-proteins, promueve RAG-(mediated recombination of antigen receptors.)*
 - *Expresión de RAG ocurre en el desarrollo de progenitores linfoides tempranos, que residen en la población LMPP*
- Annu. Rev. Immunol. 2015.33:607-642

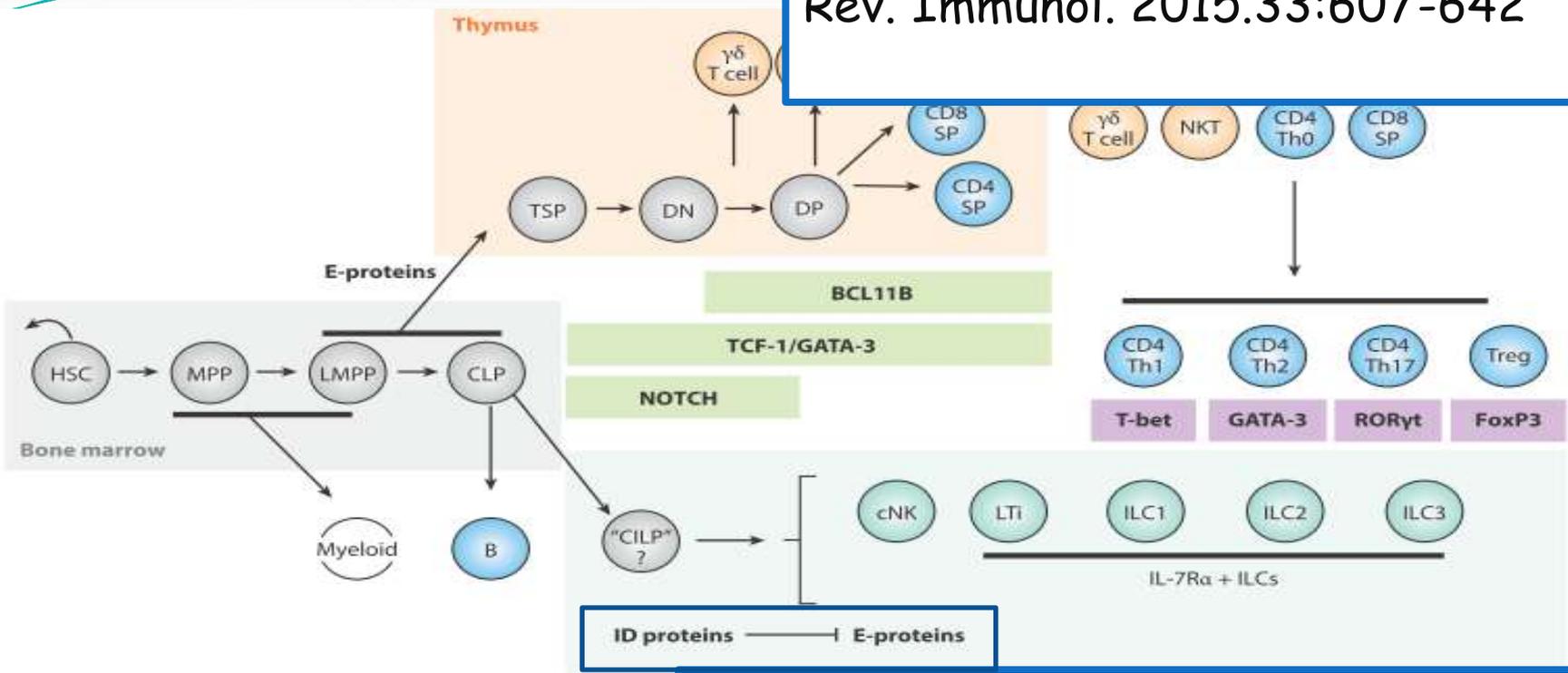
Qué detiene la maduración mieloide en la medula ósea?: E-proteins, Annu. Rev. Immunol. 2015.33:607-642



- E-proteins: activan expresión de Notch y el represor *Hes1*, que bloquean genes mieloídes en el timo. Inhiben expresión de *PU.1*
- E-proteins, promueve **RAG**-(mediated recombination of antigen receptors.)
- Expresión de **RAG** ocurre en el desarrollo de progenitores linfoides tempranos , que residen en la población LMPP

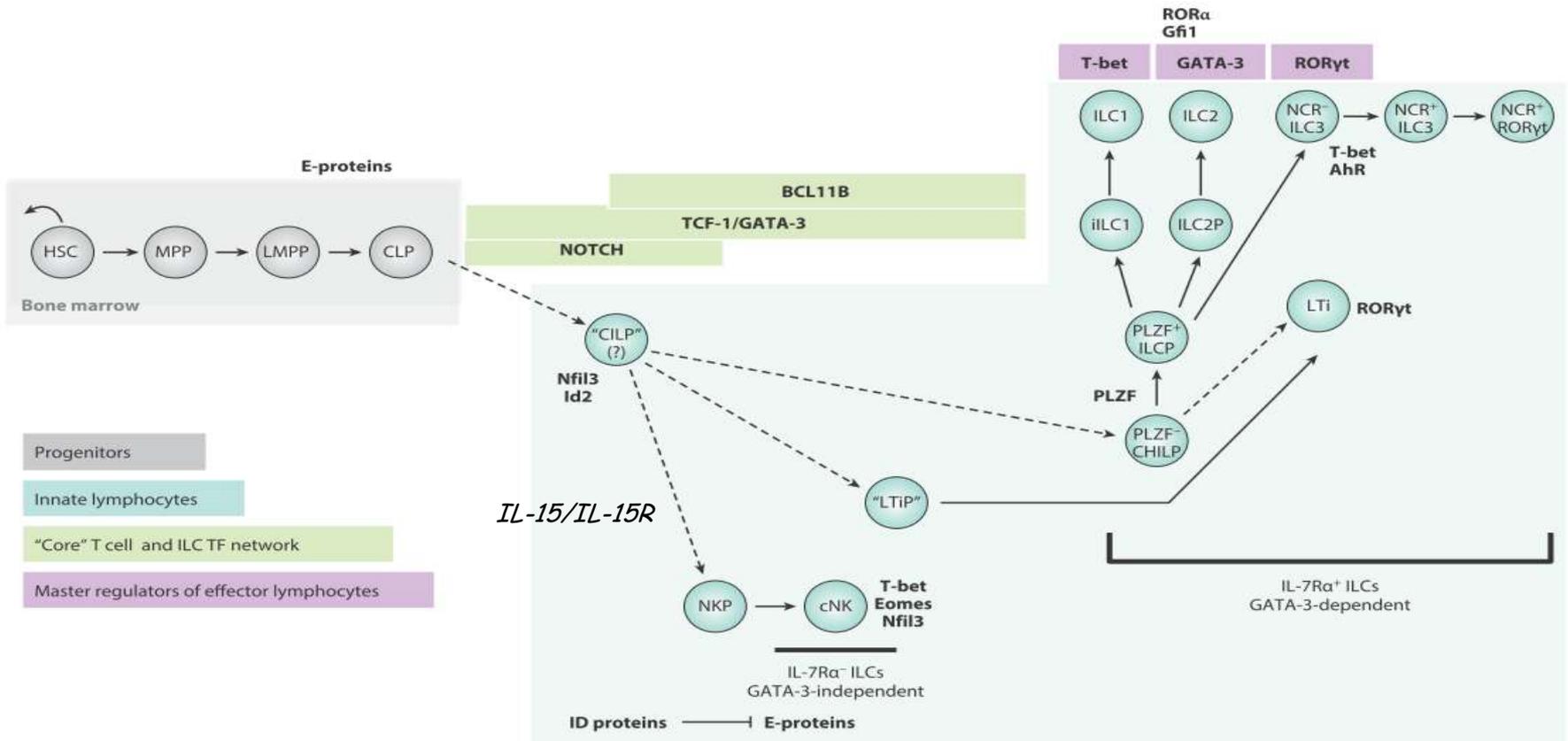
RAG no es requerida para el desarrollo de ILC y cNK
 Annu. Rev. Immunol. 2015.33:607-642

Qué detiene la maduración mieloide en la medula ósea?: E-proteins, Annu. Rev. Immunol. 2015.33:607-642



RAG no es requerida para el desarrollo de ILC y cNK

- E-proteins: activan expresión de Notch y el represor *Hes1*, que bloquean genes mieloide en el timo. Inhiben expresión de *PU.1*
 - E-proteins, promueve **RAG**-(mediated recombination of antigen receptors.)
 - Expresión de **RAG** ocurre en el desarrollo de progenitores linfoides tempranos, que residen en la población LMPP
- Annu. Rev. Immunol. 2015.33:607-642

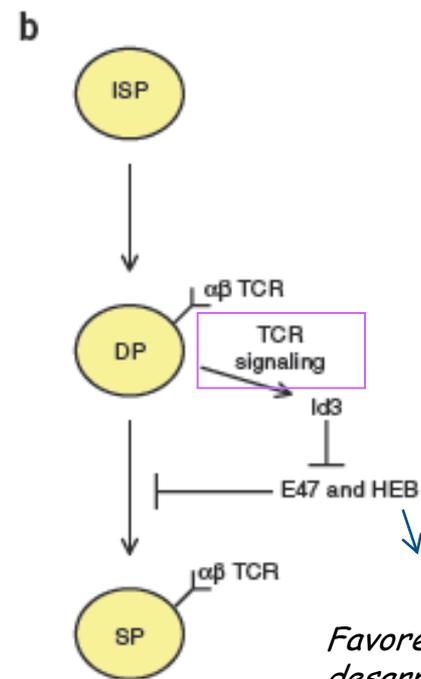
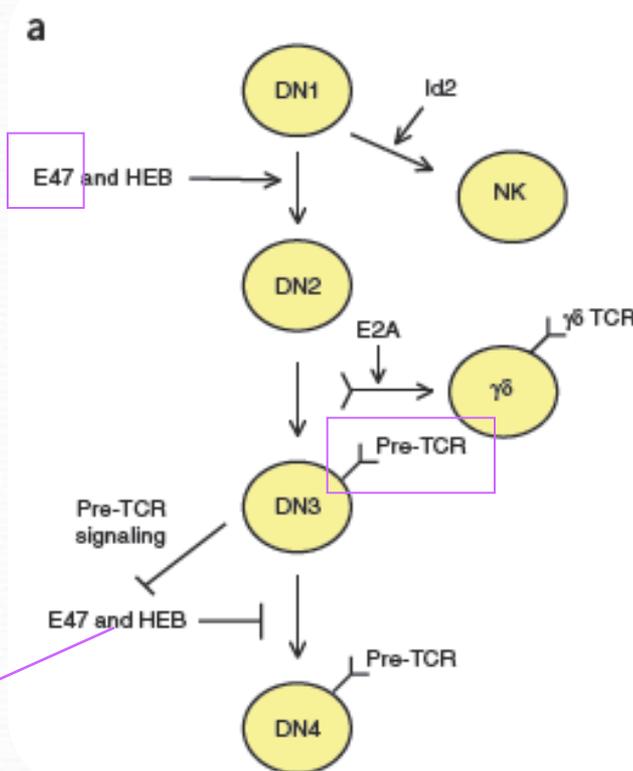
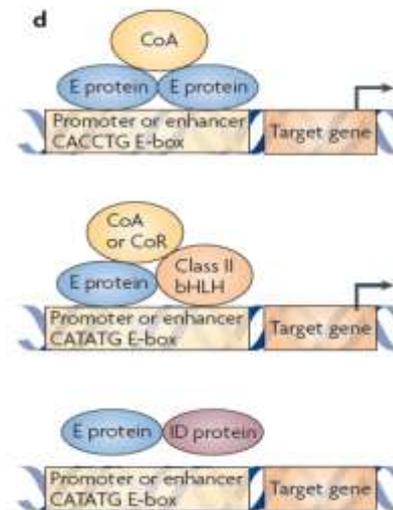
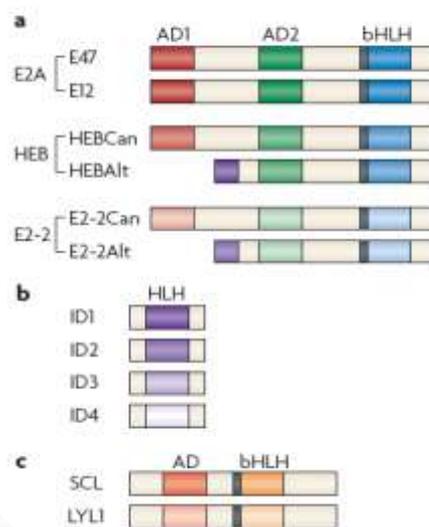


Ontogenia:

LINFOCITOS T Y PAPEL DE FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN HLH (hélice-asa-hélice)

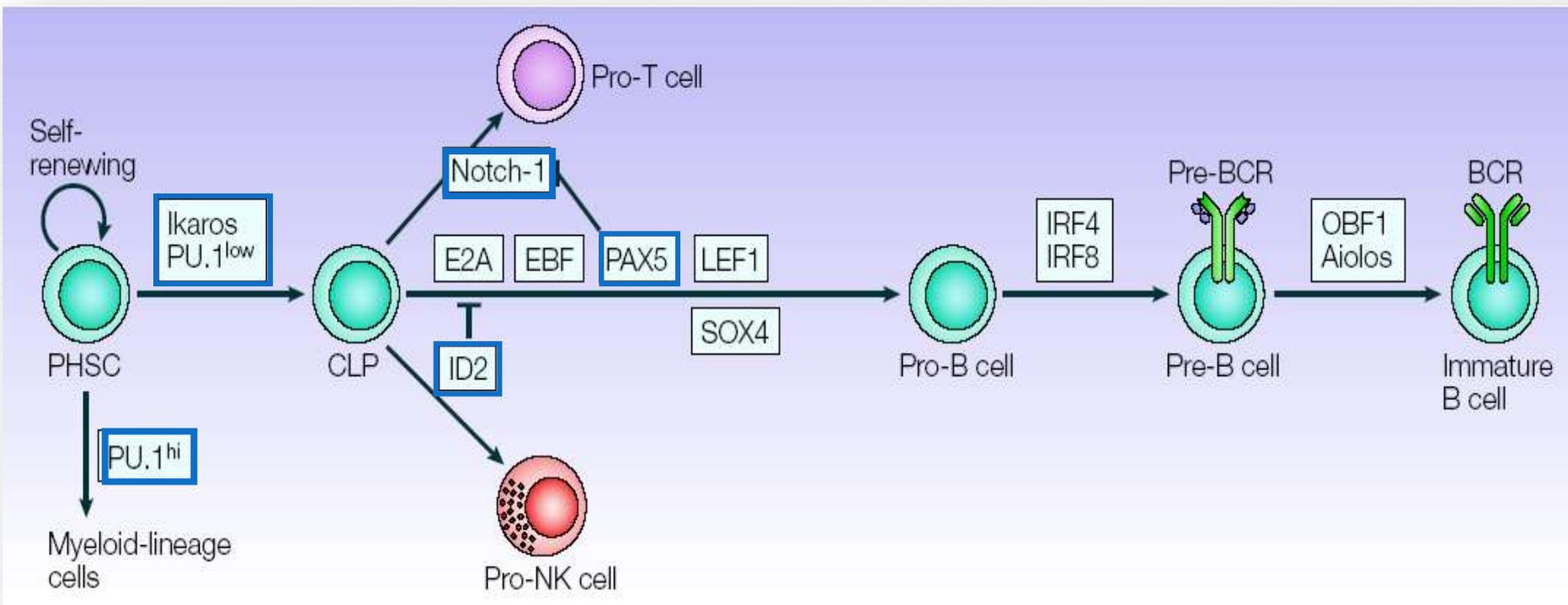
- E2A promueve el desarrollo de linfocitos B y $TCR\gamma\delta$
- Id2 promueve el desarrollo de NK

Suprime desarrollo de las DP, en ausencia de señales del pre-TCR



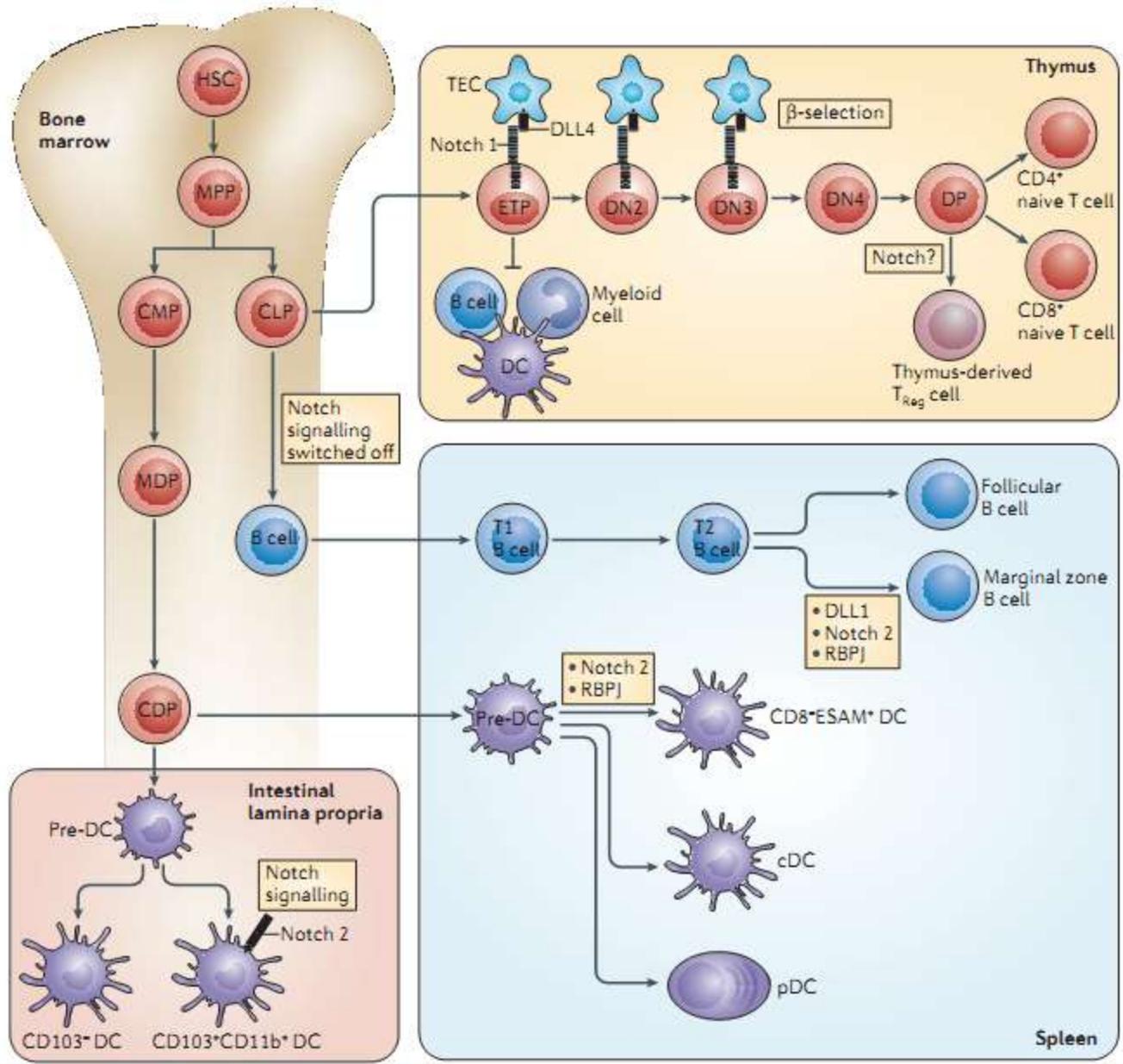
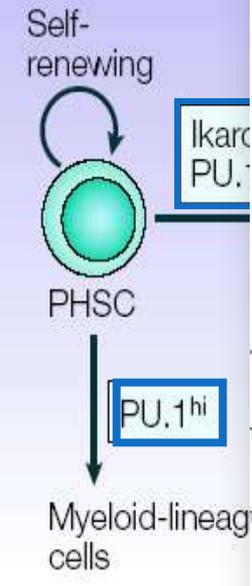
Favorece el desarrollo de NKT

Que elementos contribuyen con la decisión: Linaje mieloide vs. linfoide o Linfocito T vs. B

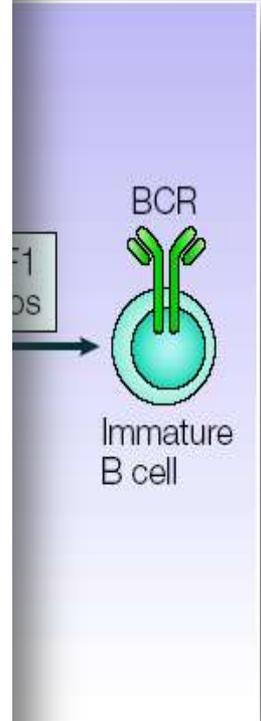


Factores de transcripción involucrados en el desarrollo

Que e Linaje

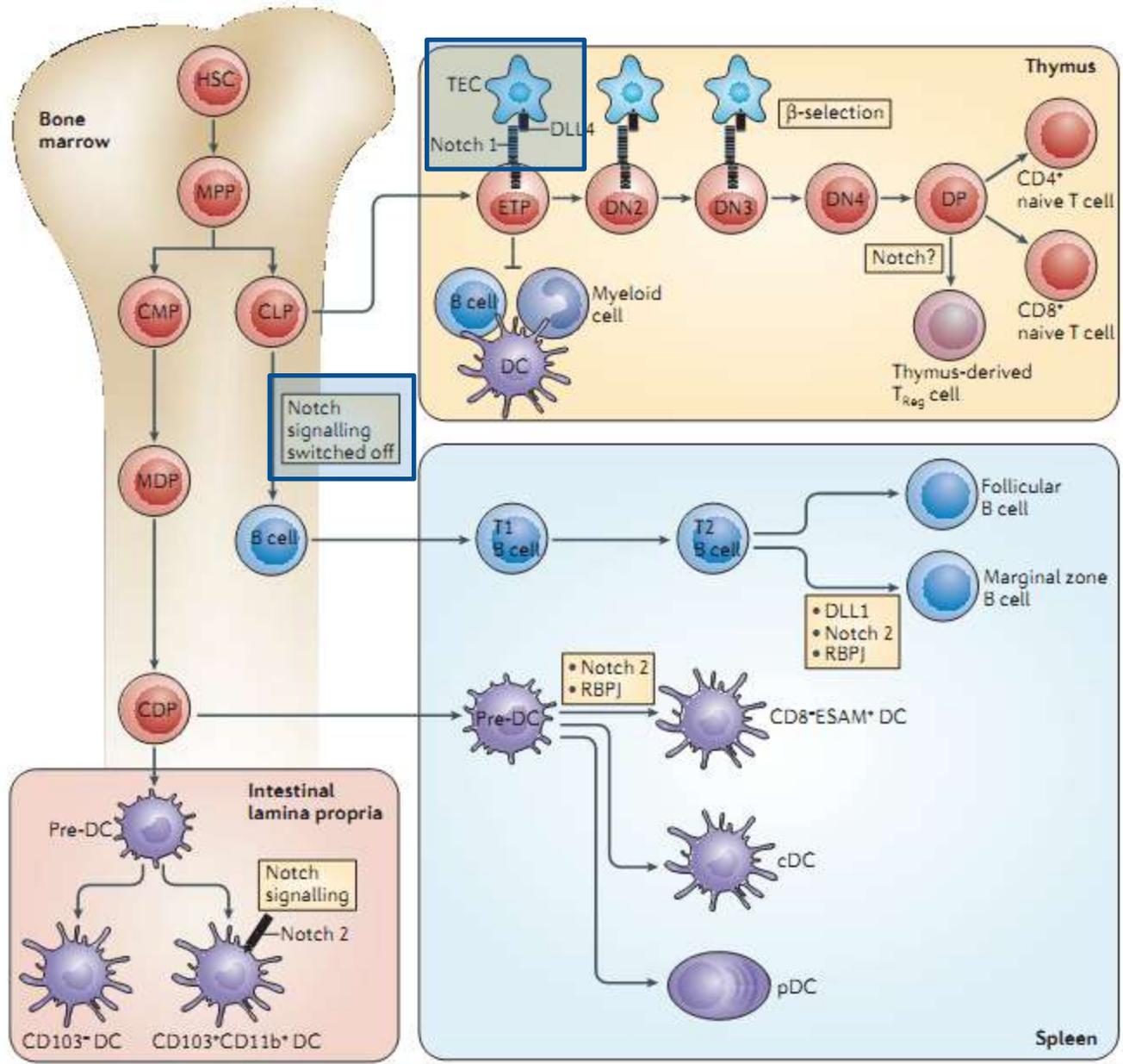
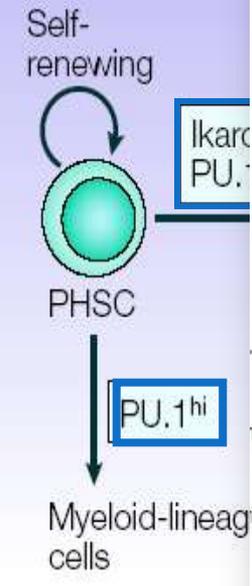


ón:
s. B

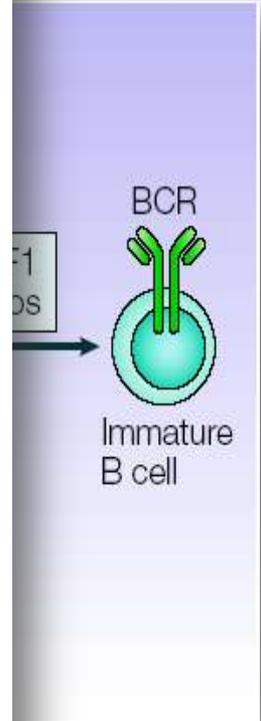


Factores involucra desarrollo

Que e Linaje



ón:
s. B

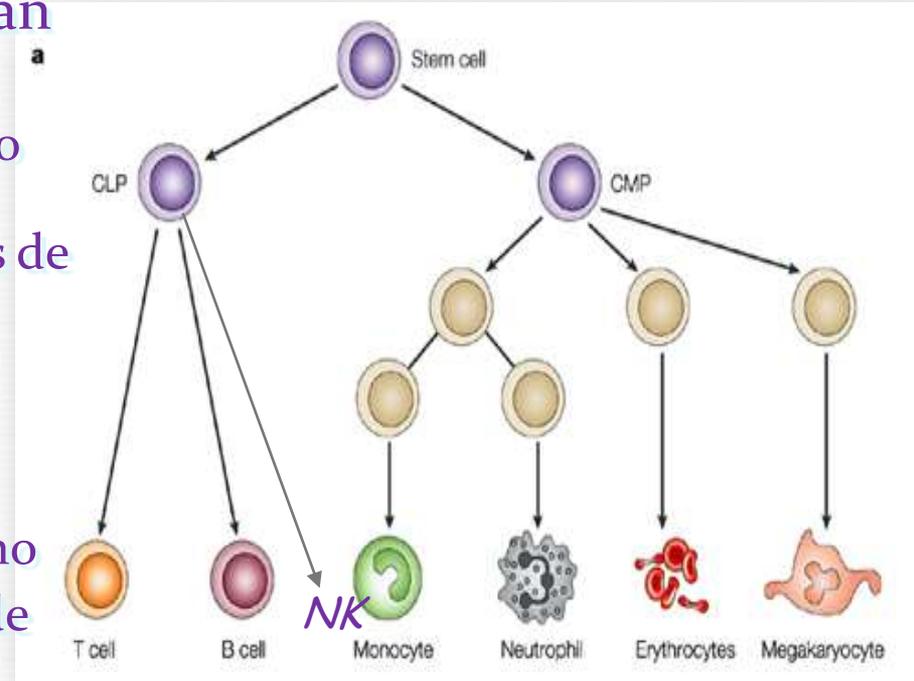


Factores involucra desarrollo

Ontogenia: SERIE LINFOIDE

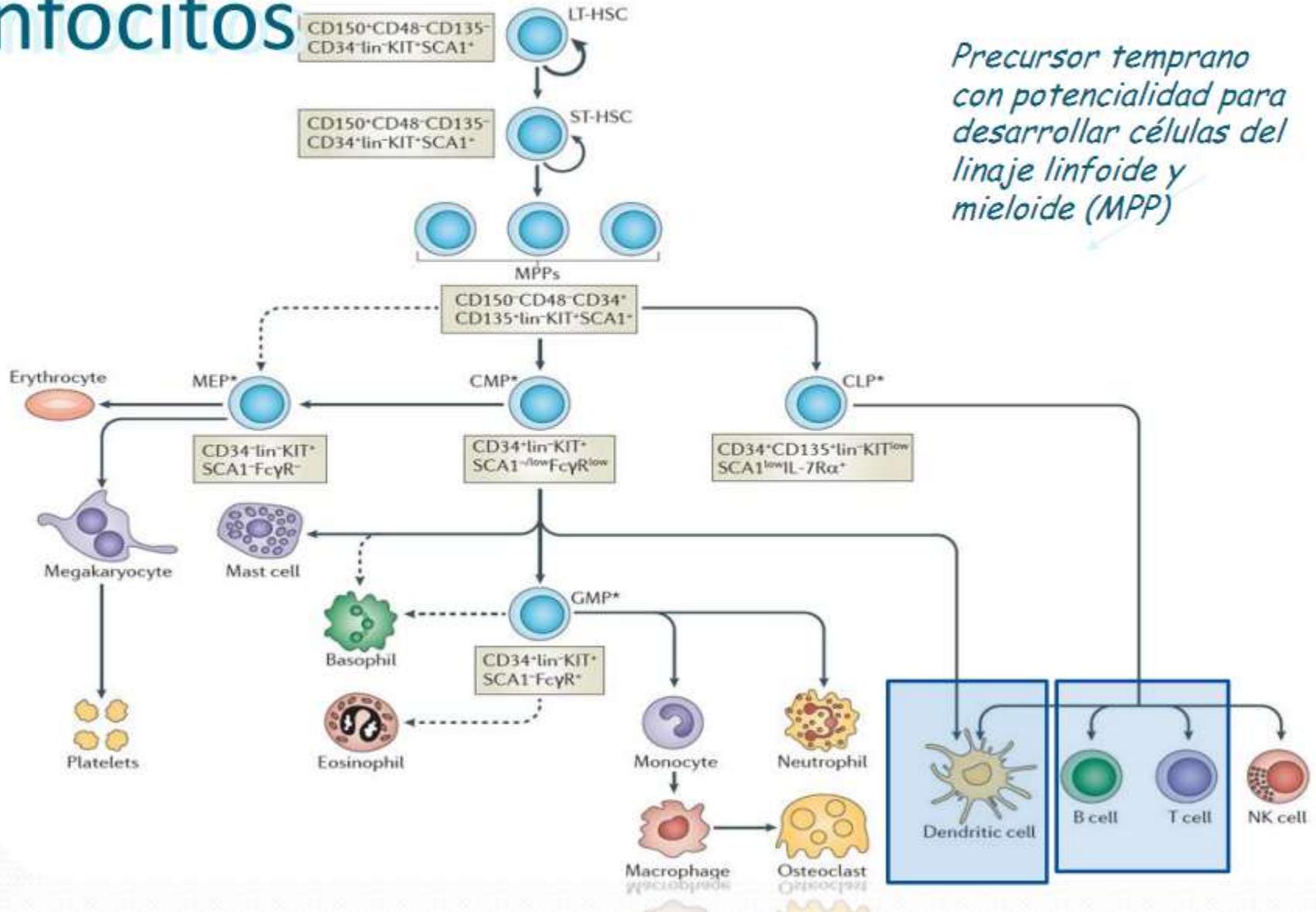
● Resumen

- Los linfocitos T, B y NK se originan de un precursor
- El primer evento es ubicarse en estadio *precursor linfoide común* (CLP), dará origen a: T, B, NK y células dendríticas de origen linfoide (plasmocitoides)
- Destinados a originar células B permanecen en la MO
- Destinados a madurar como células T egresan de la MO y se ubican en el timo
- IL-7 indispensable para el desarrollo de linfocitos T y B
- Mientras IL-15 es requerida para el desarrollo de NK



Ontogenia de linfocitos

Nat Rev CB 12, 2011: 643



Precursor temprano con potencialidad para desarrollar células del linaje linfoide y mieloide (MPP)

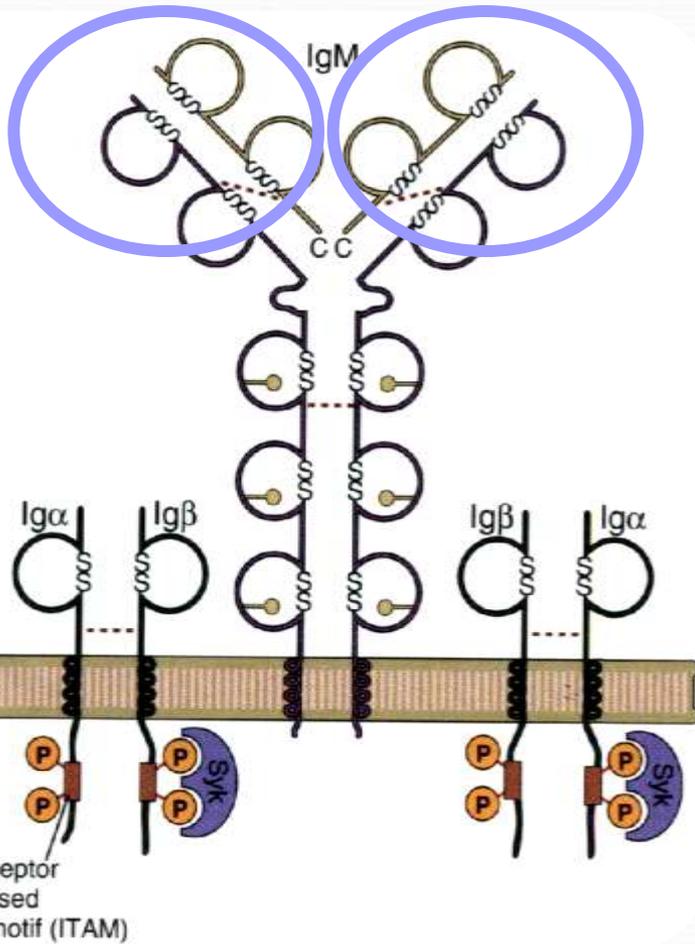
Ontogenia de los linfocitos

- El desarrollo de los linfocitos depende de tres procesos básicos:
 - Migración y proliferación
 - Diferenciación: adquisición de fenotipos maduros
 - Selección del repertorio: células específicas a los antígenos (Ag) extraños y restringidas por las moléculas de histocompatibilidad (MHC) propias

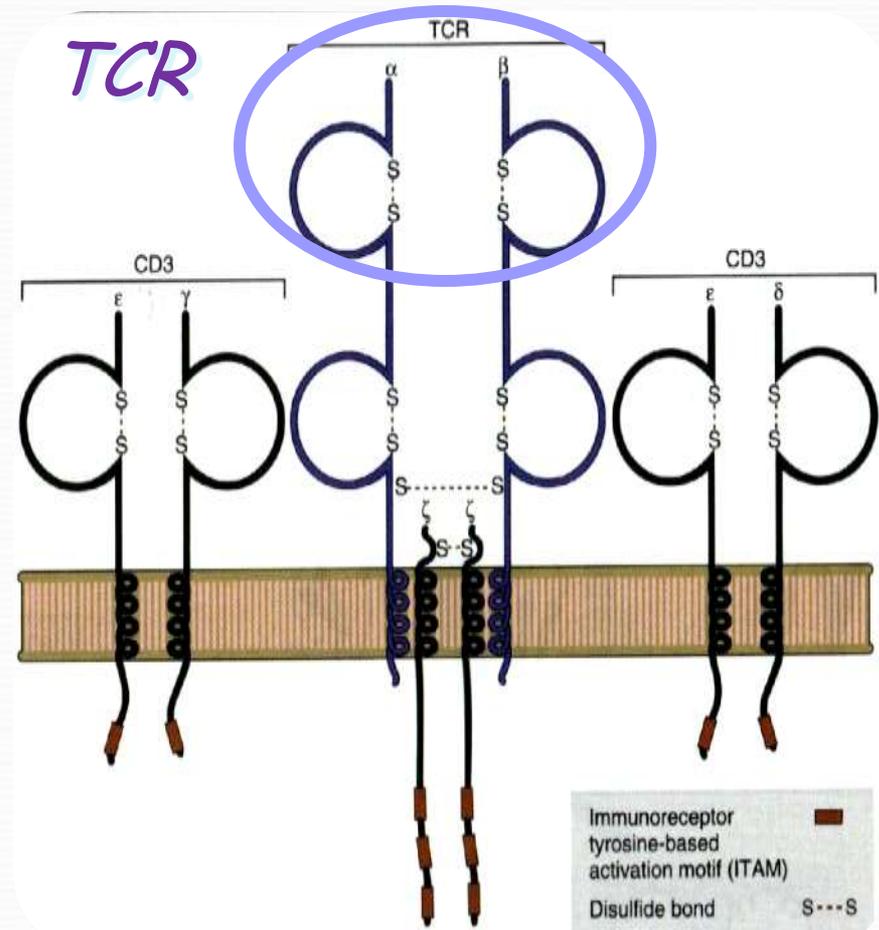
Uno de los objetivos fundamentales de la ontogenia:

Generación del receptor antigénico funcional en linfocitos B (BCR) Y T (TCR)

BCR



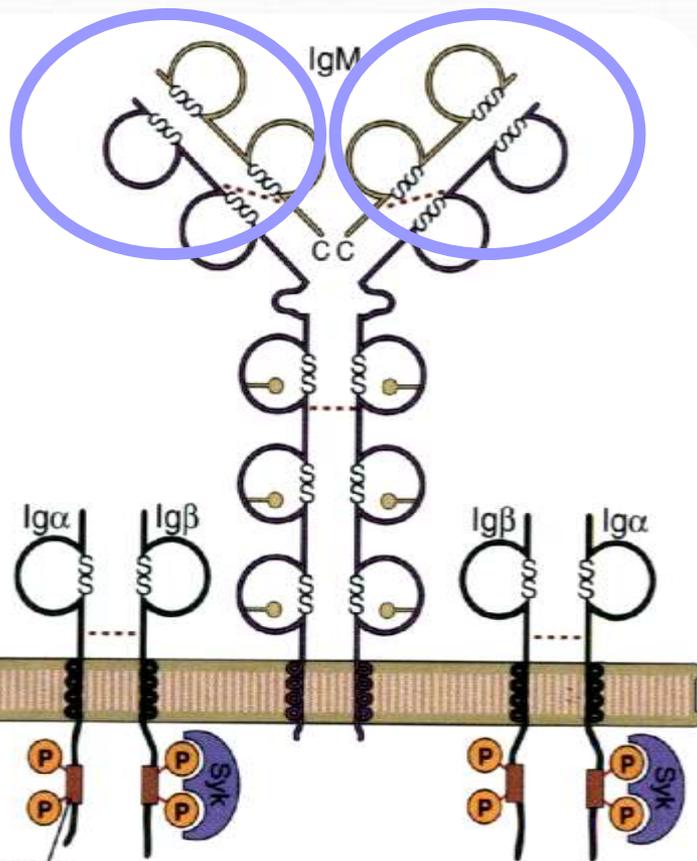
TCR



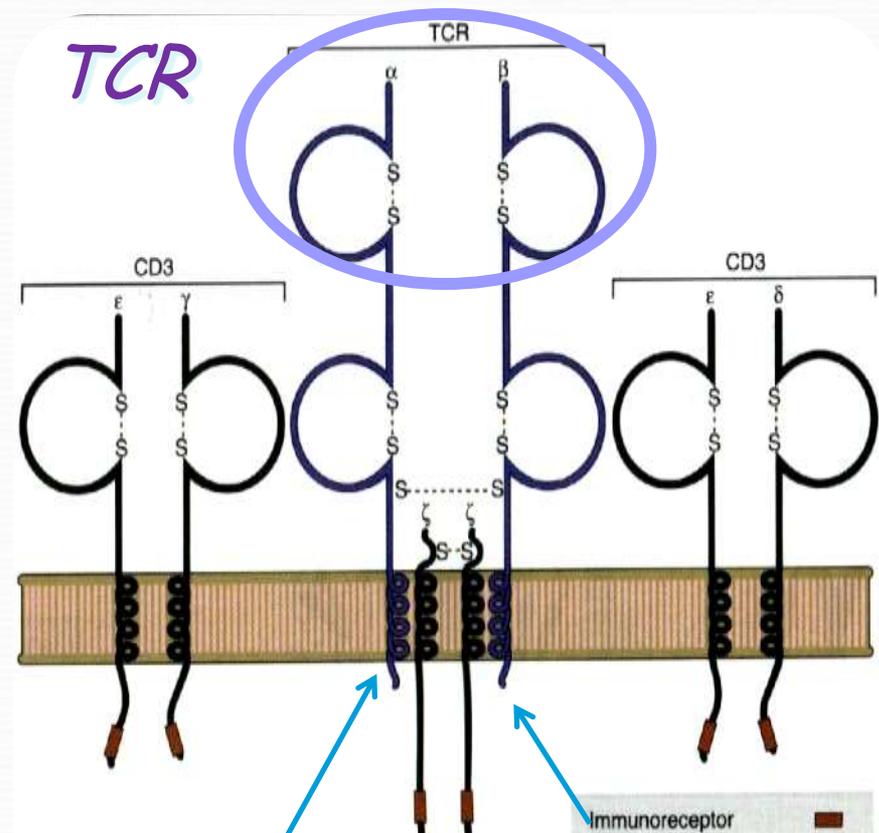
Uno de los objetivos fundamentales de la ontogenia:

Generación del receptor antigénico funcional en linfocitos B (BCR) Y T (TCR)

BCR



TCR

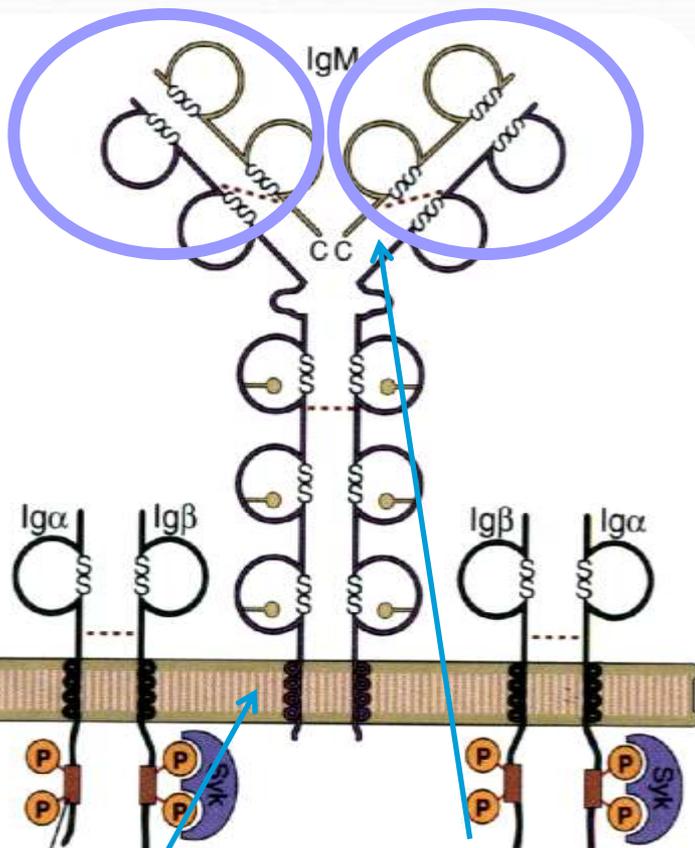


Cadena alfa y cadena beta

Uno de los objetivos fundamentales de la ontogenia:

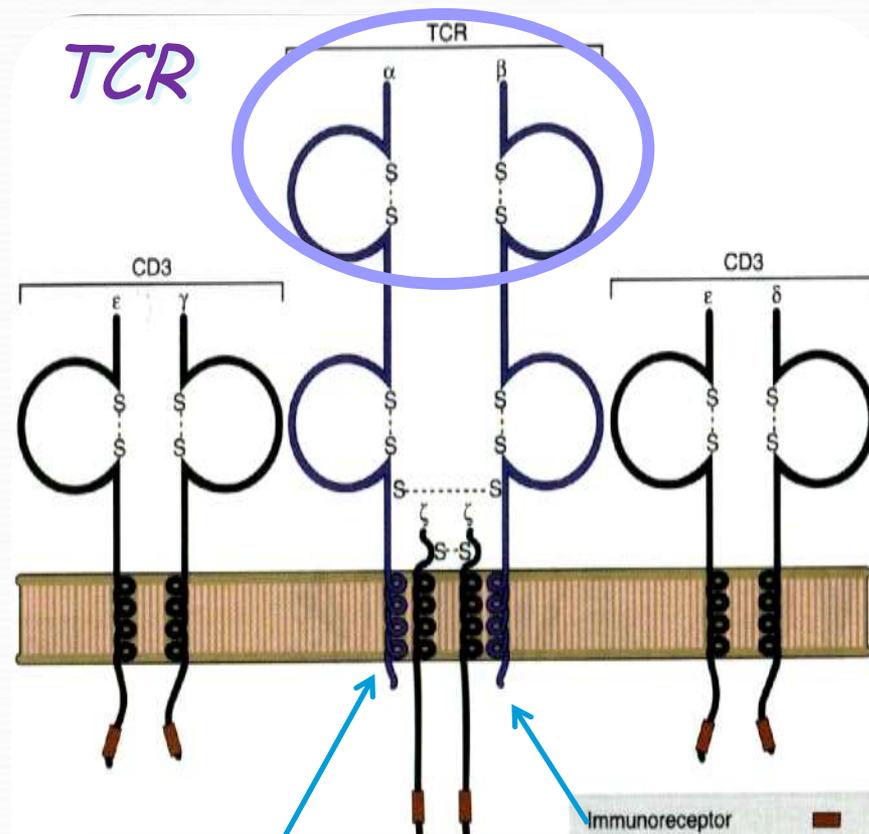
Generación del receptor antigénico funcional en linfocitos B (BCR) Y T (TCR)

BCR



Cadena pesada y cadena ligera

TCR

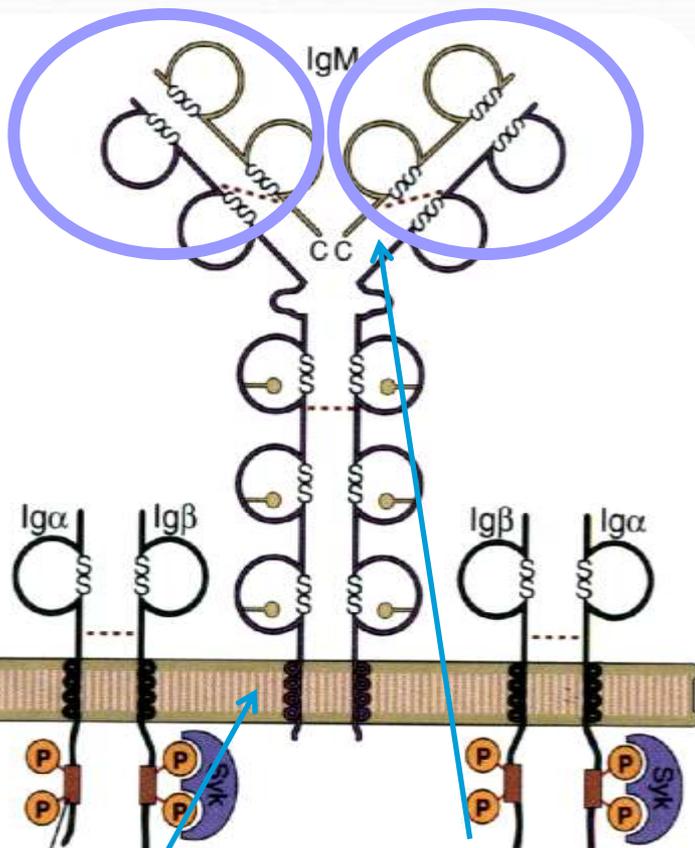


Cadena alfa y cadena beta

Uno de los objetivos fundamentales de la ontogenia:

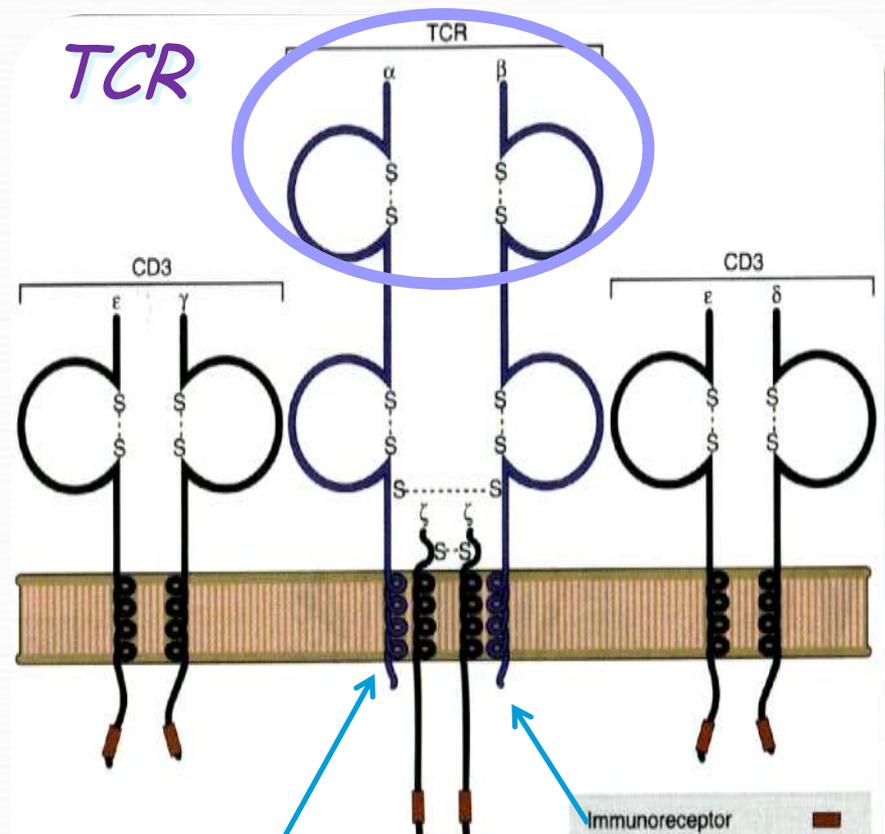
Generación del receptor antigénico funcional en linfocitos B (BCR) Y T (TCR)

BCR



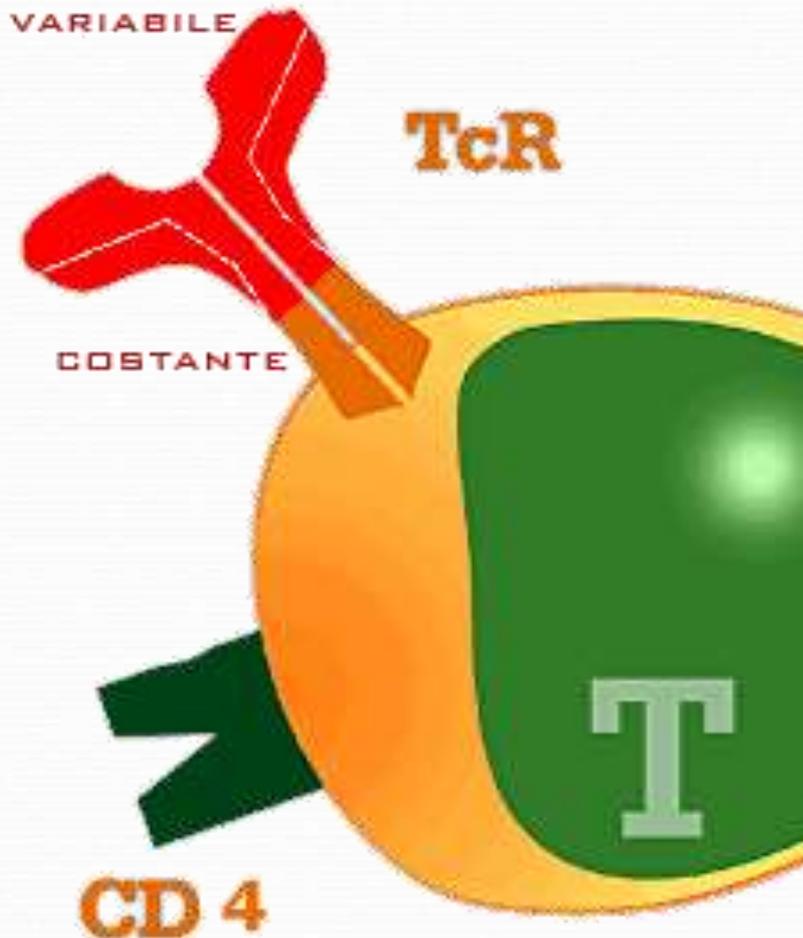
Cadena pesada y cadena ligera

TCR



Cadena alfa y cadena beta

Ontogenia de los linfocitos T



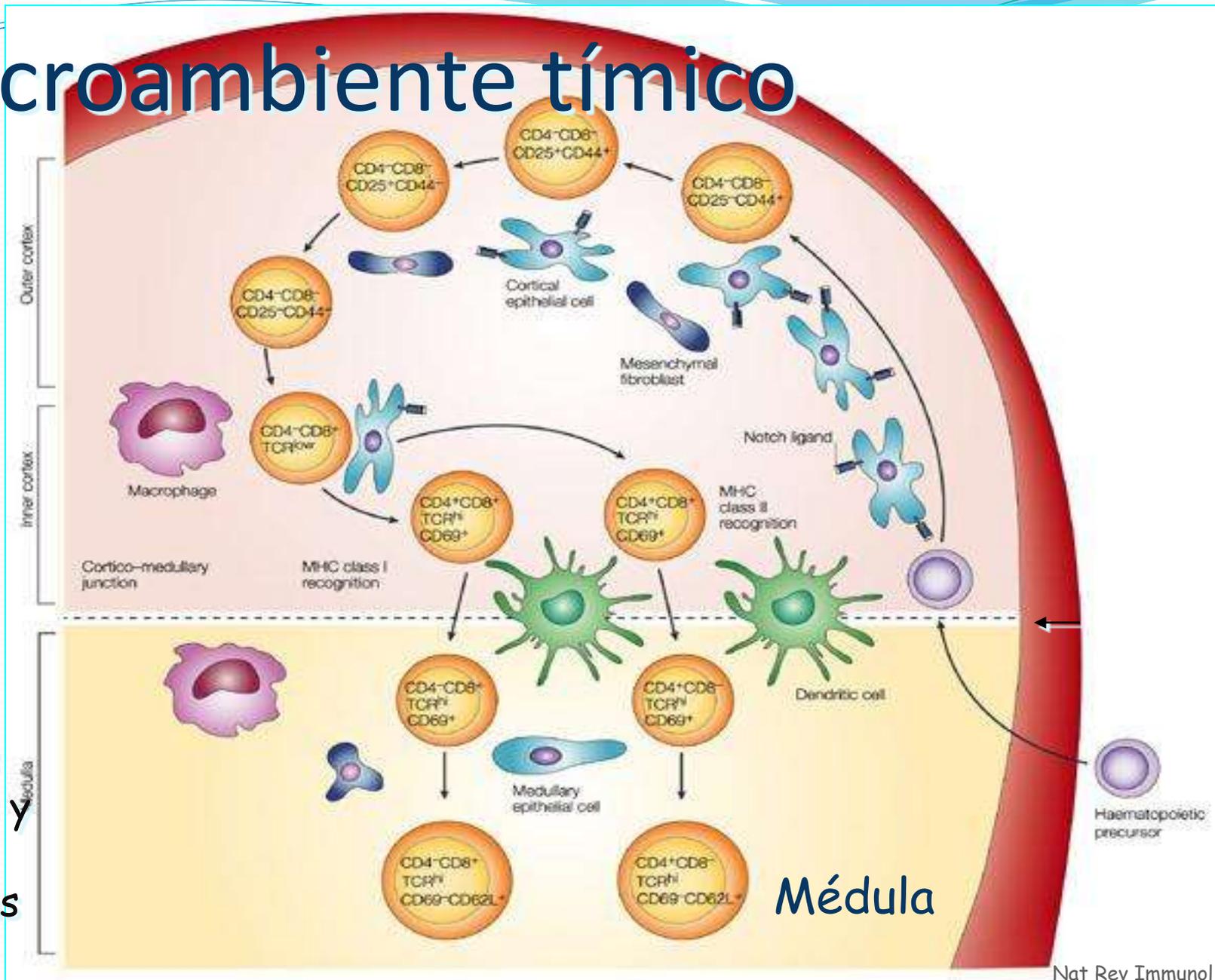
CD4 o CD8

TCR: cadenas α y β
(γ y δ) asociados
con CD3 (γ, δ, ϵ , y $\zeta\zeta$)
Moléculas que
permiten la
comunicación
intracelular

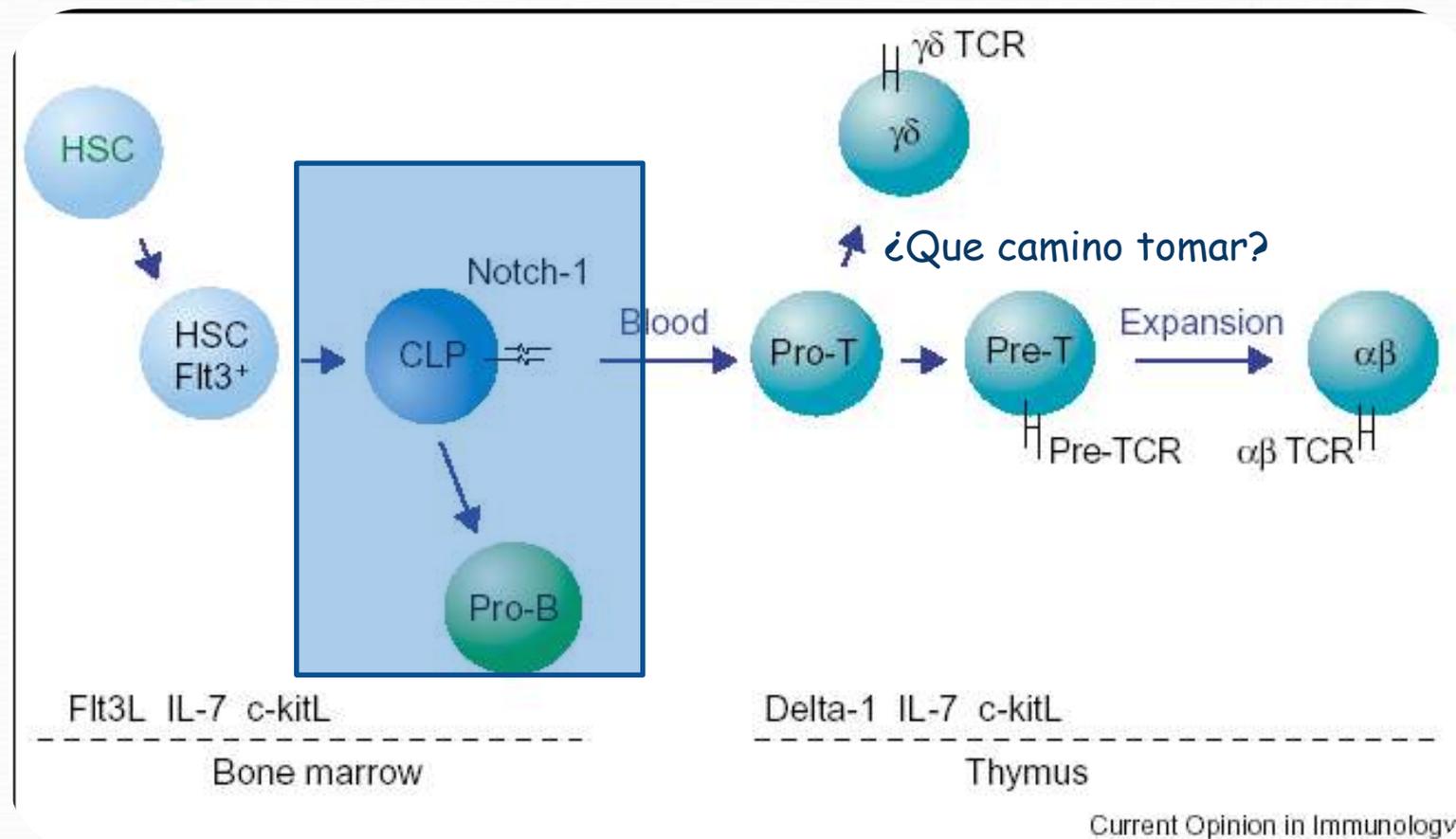
Microambiente tímico

Células
epiteliales
corticales

Células
epiteliales
medulares y
células
dendríticas



Ontogenia: SERIE LINFOIDE

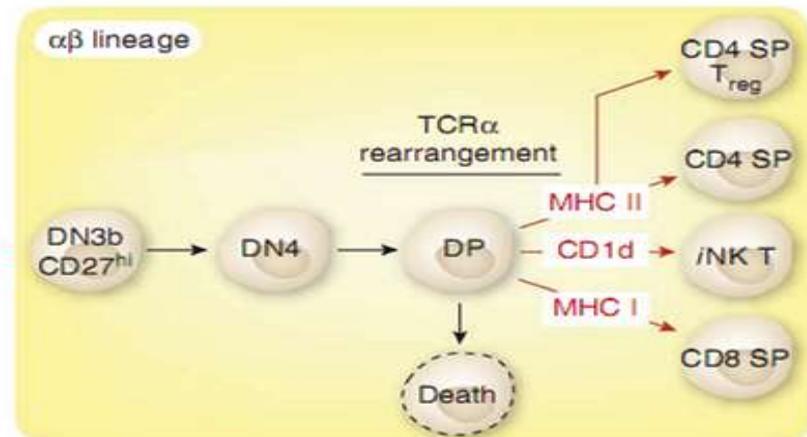
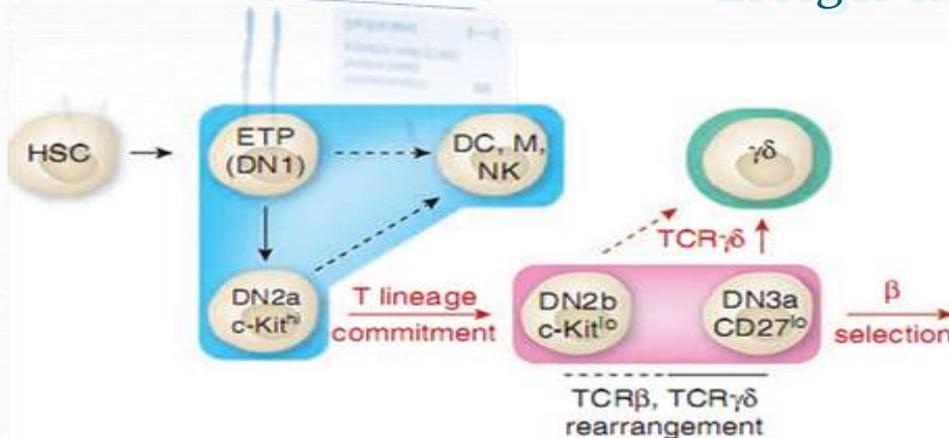
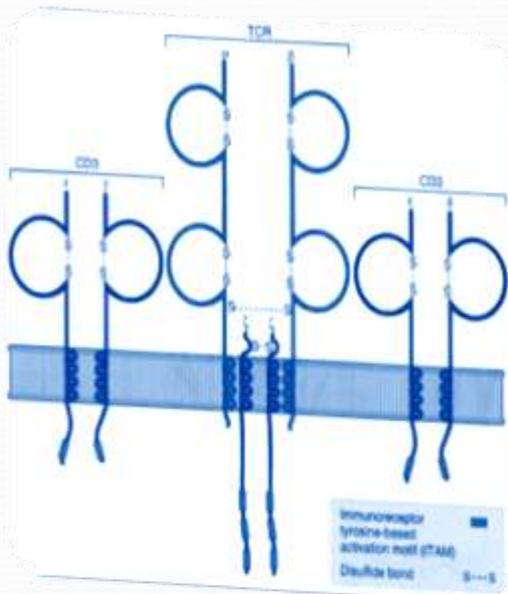


Ligando de Notch está presente en las células epiteliales corticales tímicas

Ontogenia de linfocitos T

• Durante la ontogenia de linfocitos T se toman las siguientes decisiones:

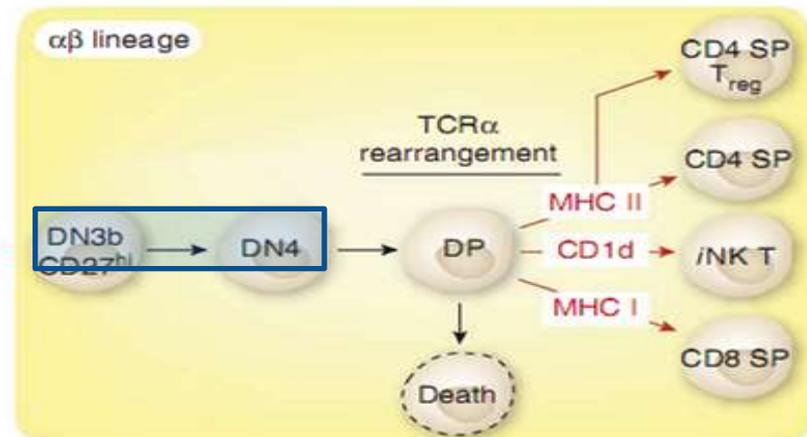
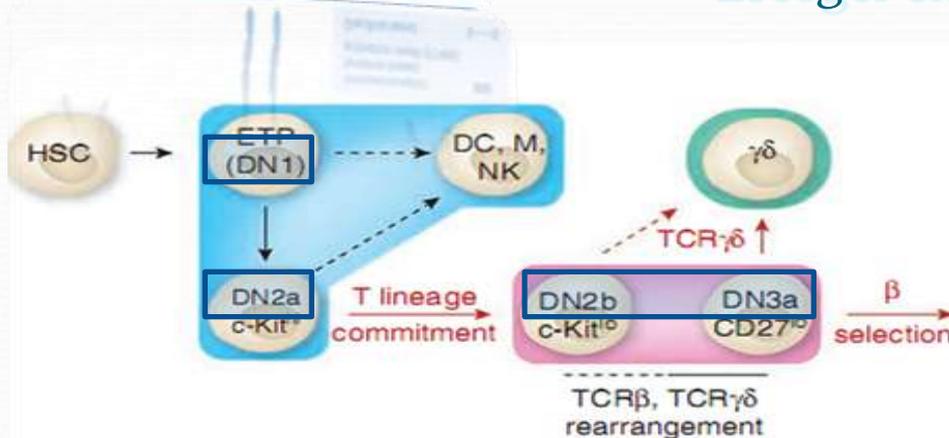
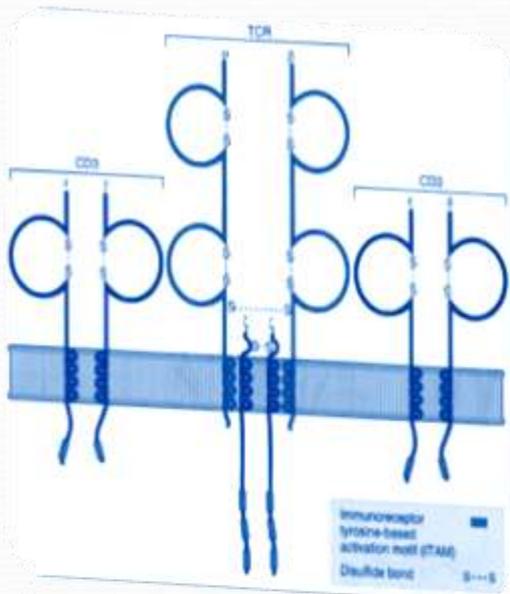
- Comisionar hacia el linaje linfoide y decidir hacia linfocito T o B
- Reordenamiento del TCR
- Escoger entre $TCR\gamma\delta$ o $TCR\alpha\beta$
- Selección de la cadena β , α
- Selección positiva y negativa
- Escoger entre CD4, CD8, NKT o Treg



Ontogenia de linfocitos T

• Durante la ontogenia de linfocitos T se toman las siguientes decisiones:

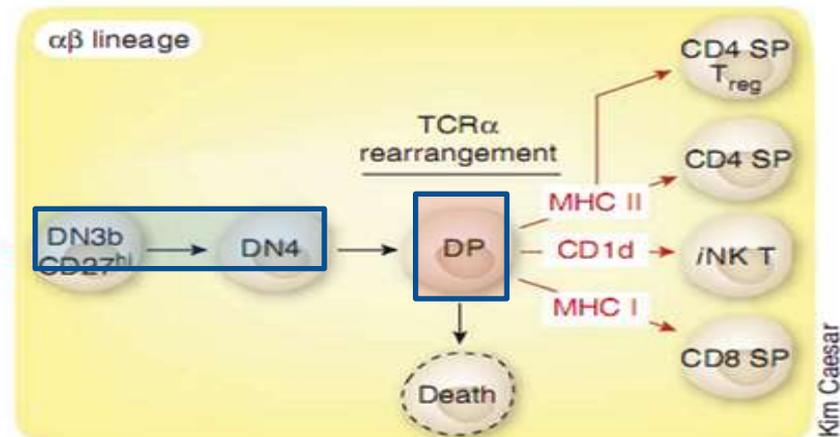
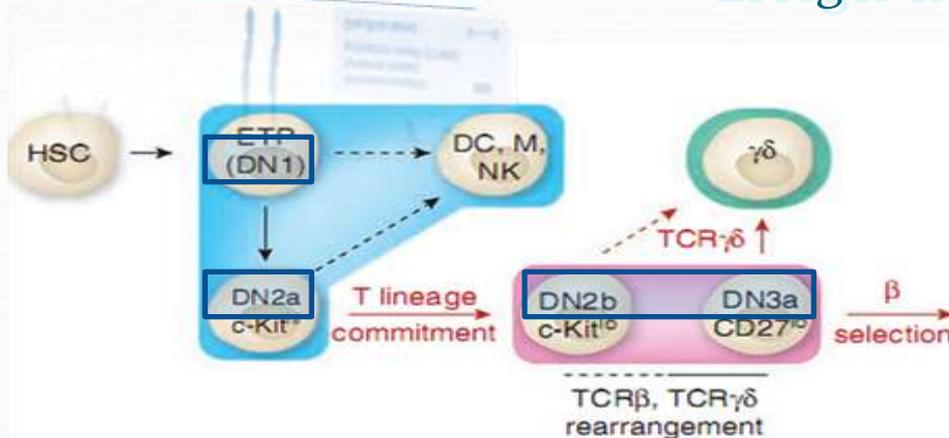
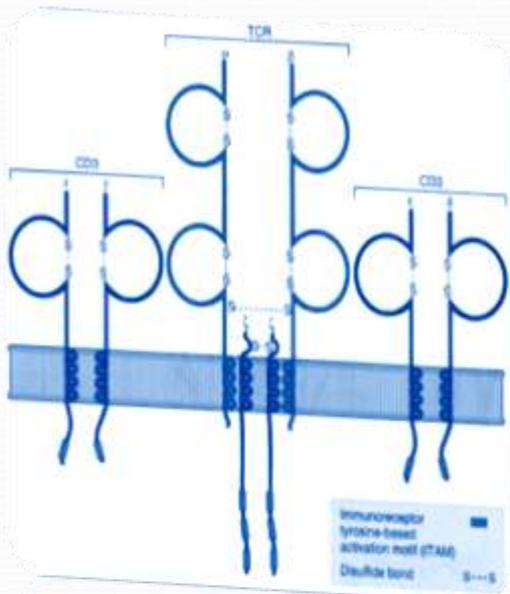
- Comisionar hacia el linaje linfoide y decidir hacia linfocito T o B
- Reordenamiento del TCR
- Escoger entre $TCR\gamma\delta$ o $TCR\alpha\beta$
- Selección de la cadena β , α
- Selección positiva y negativa
- Escoger entre CD4, CD8, NKT o Treg



Ontogenia de linfocitos T

• Durante la ontogenia de linfocitos T se toman las siguientes decisiones:

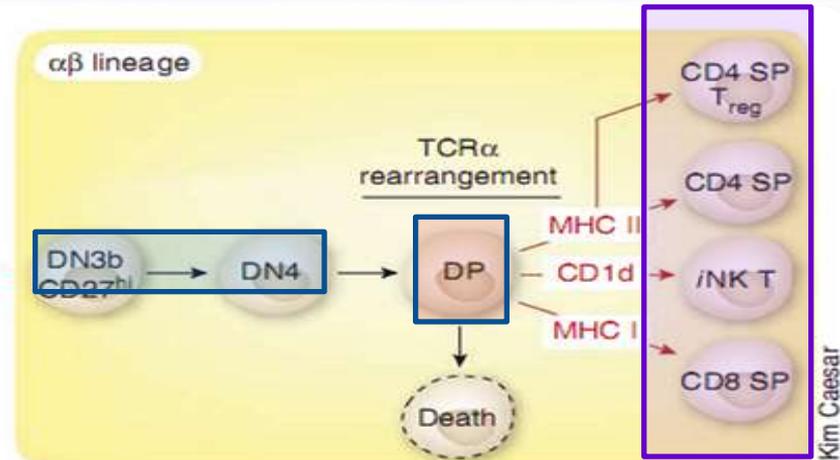
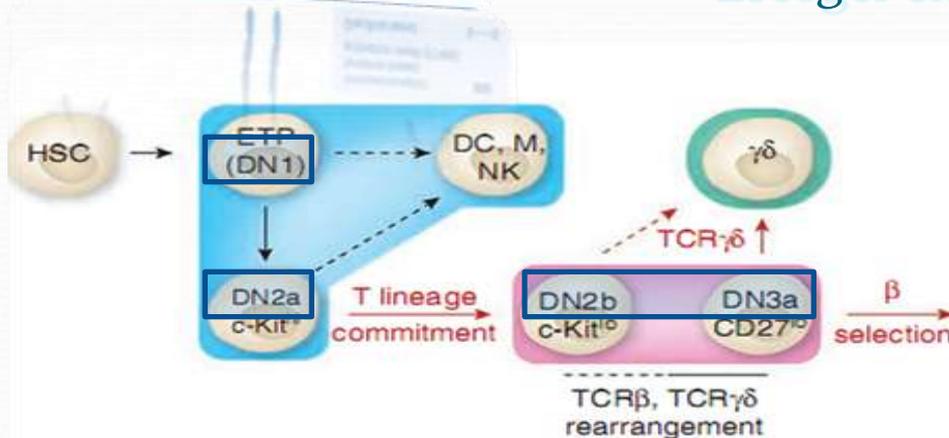
- Comisionar hacia el linaje linfoide y decidir hacia linfocito T o B
- Reordenamiento del TCR
- Escoger entre $TCR\gamma\delta$ o $TCR\alpha\beta$
- Selección de la cadena β , α
- Selección positiva y negativa
- Escoger entre CD4, CD8, NKT o Treg



Ontogenia de linfocitos T

• Durante la ontogenia de linfocitos T se toman las siguientes decisiones:

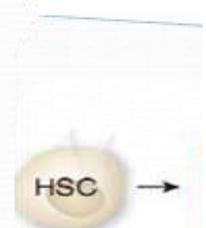
- Comisionar hacia el linaje linfoide y decidir hacia linfocito T o B
- Reordenamiento del TCR
- Escoger entre $TCR\gamma\delta$ o $TCR\alpha\beta$
- Selección de la cadena β , α
- Selección positiva y negativa
- Escoger entre CD4, CD8, NKT o Treg



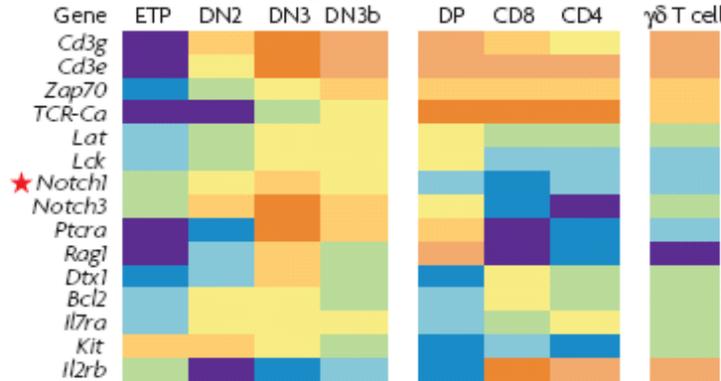
Ontogenia de linfocitos T

T se

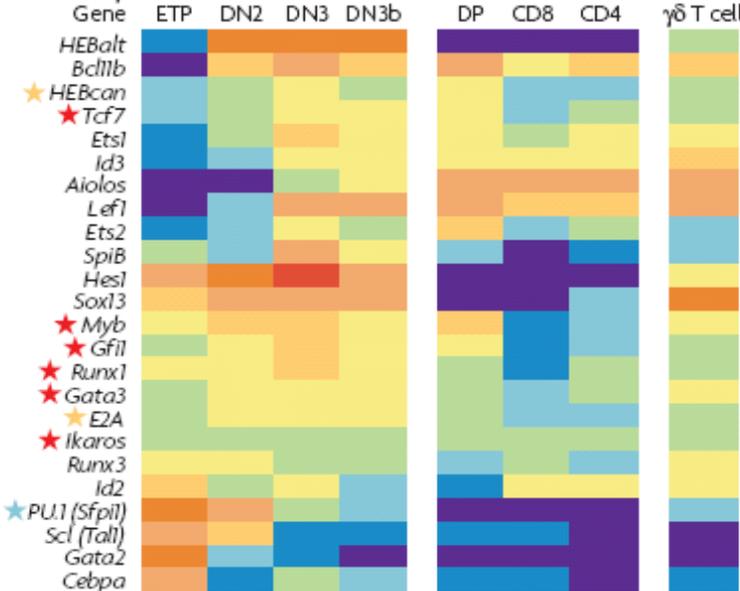
acidir hacia



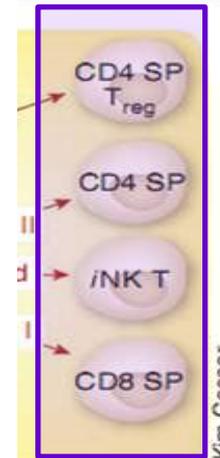
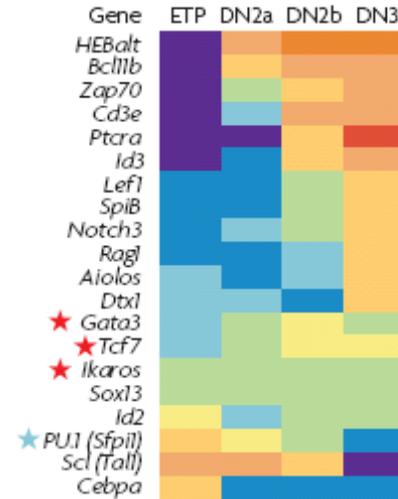
a Differentiation and receptor genes



b Transcription factors



c Close-up, ETP to DN3

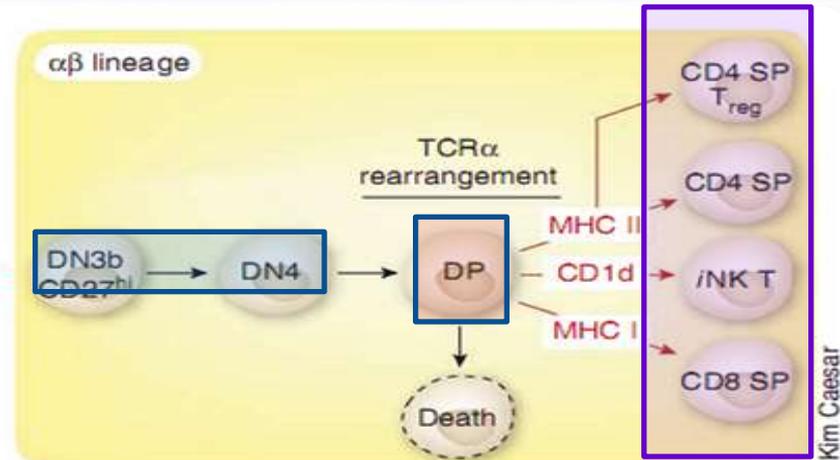
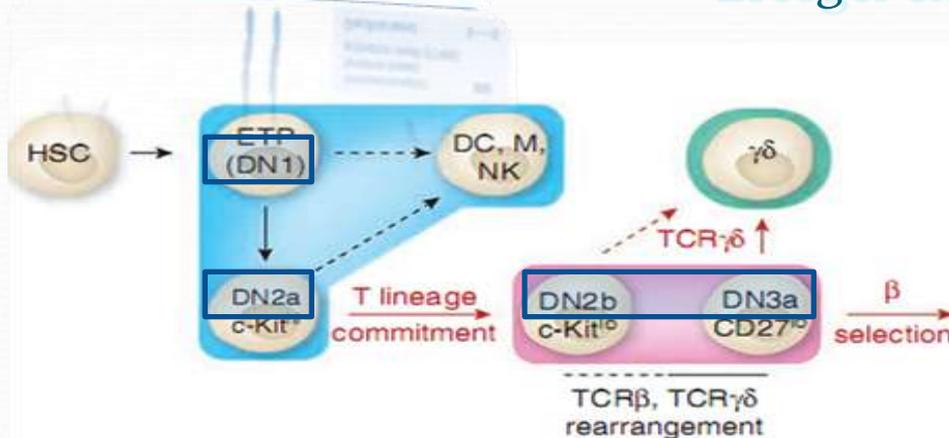


Kim Caesar

Ontogenia de linfocitos T

• Durante la ontogenia de linfocitos T se toman las siguientes decisiones:

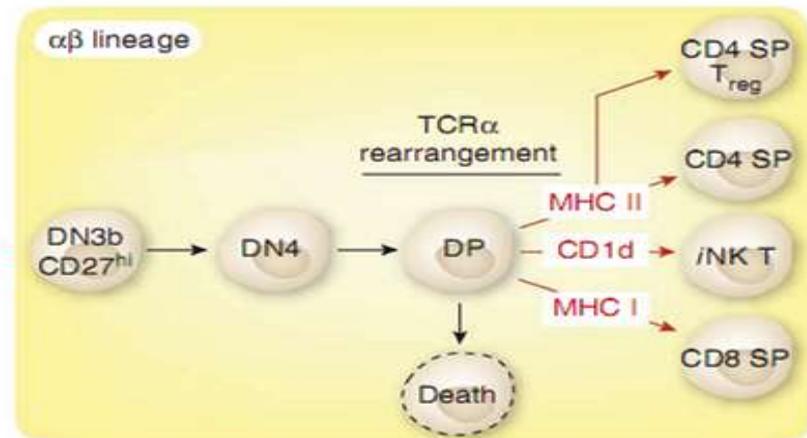
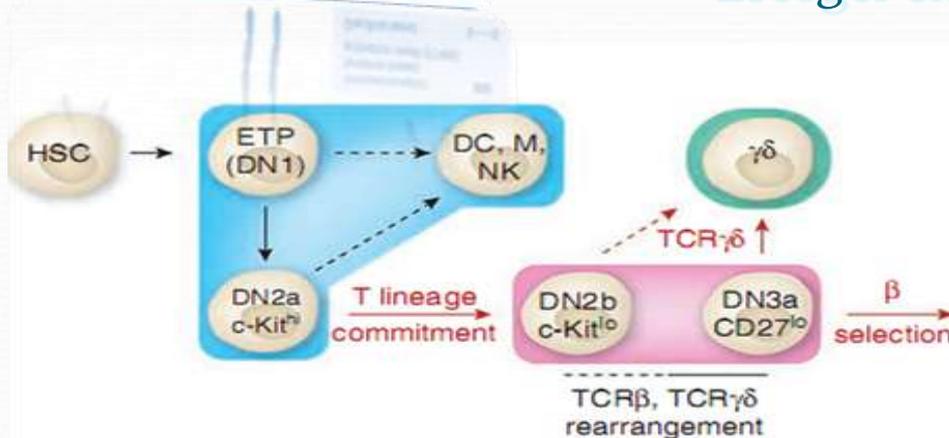
- Comisionar hacia el linaje linfoide y decidir hacia linfocito T o B
- Reordenamiento del TCR
- Escoger entre $TCR\gamma\delta$ o $TCR\alpha\beta$
- Selección de la cadena β , α
- Selección positiva y negativa
- Escoger entre CD4, CD8, NKT o Treg



Ontogenia de linfocitos T

• Durante la ontogenia de linfocitos T se toman las siguientes decisiones:

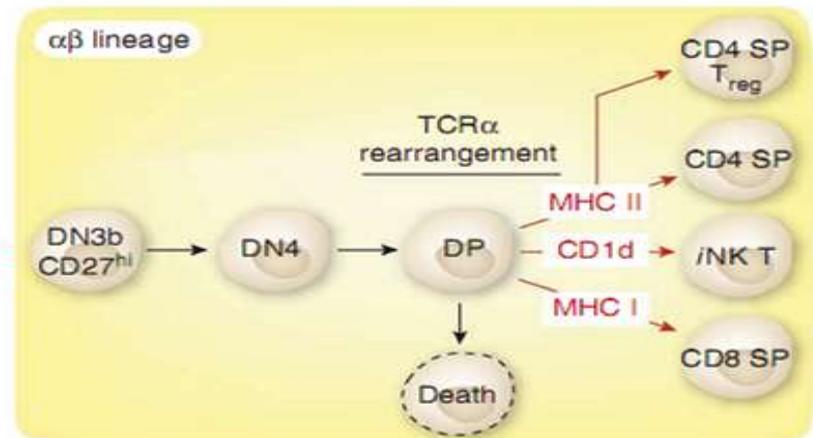
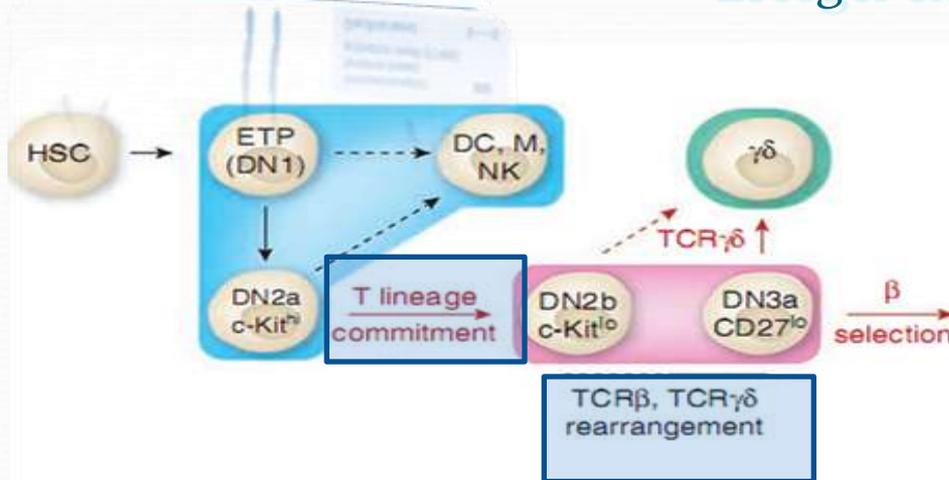
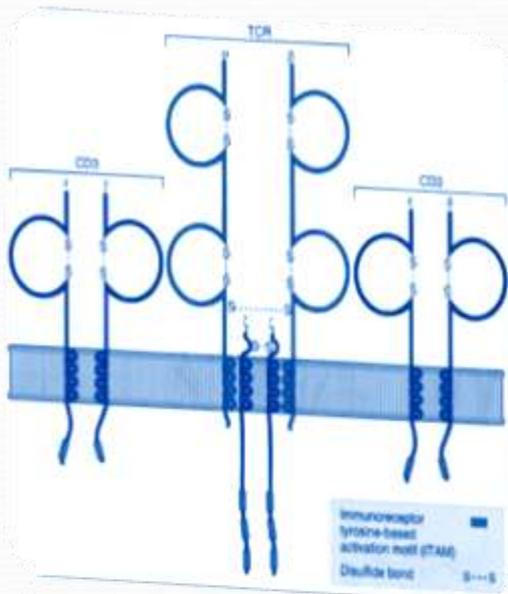
- Comisionar hacia el linaje linfoide y decidir hacia linfocito T o B
- Reordenamiento del TCR
- Escoger entre $TCR\gamma\delta$ o $TCR\alpha\beta$
- Selección de la cadena β , α
- Selección positiva y negativa
- Escoger entre CD4, CD8, NKT o Treg



Ontogenia de linfocitos T

• Durante la ontogenia de linfocitos T se toman las siguientes decisiones:

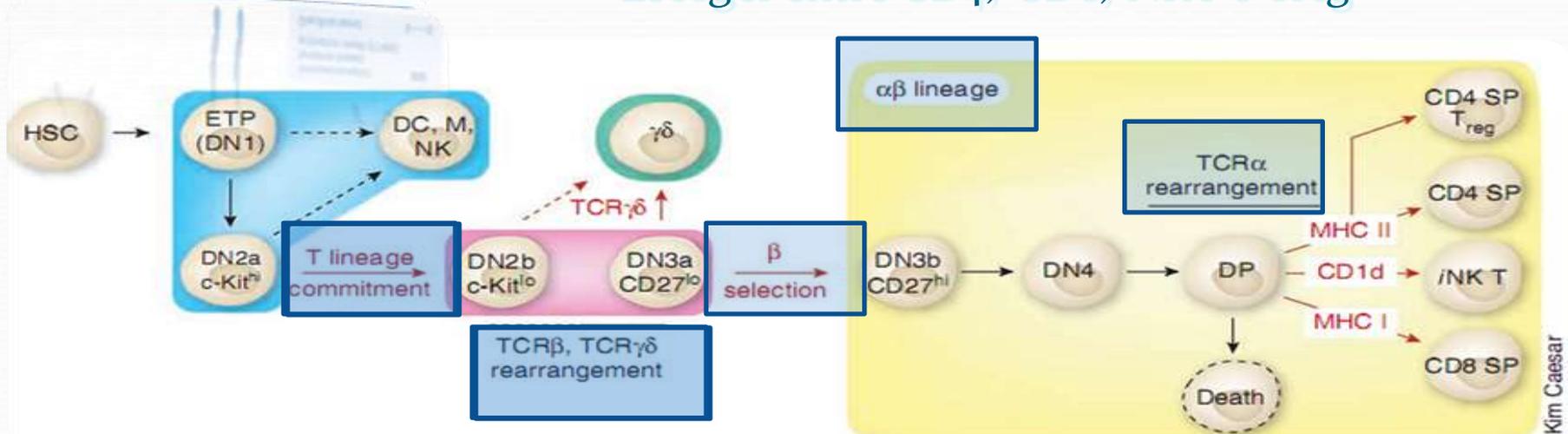
- Comisionar hacia el linaje linfoide y decidir hacia linfocito T o B
- Reordenamiento del TCR
- Escoger entre $TCR\gamma\delta$ o $TCR\alpha\beta$
- Selección de la cadena β , α
- Selección positiva y negativa
- Escoger entre CD4, CD8, NKT o Treg



Ontogenia de linfocitos T

• Durante la ontogenia de linfocitos T se toman las siguientes decisiones:

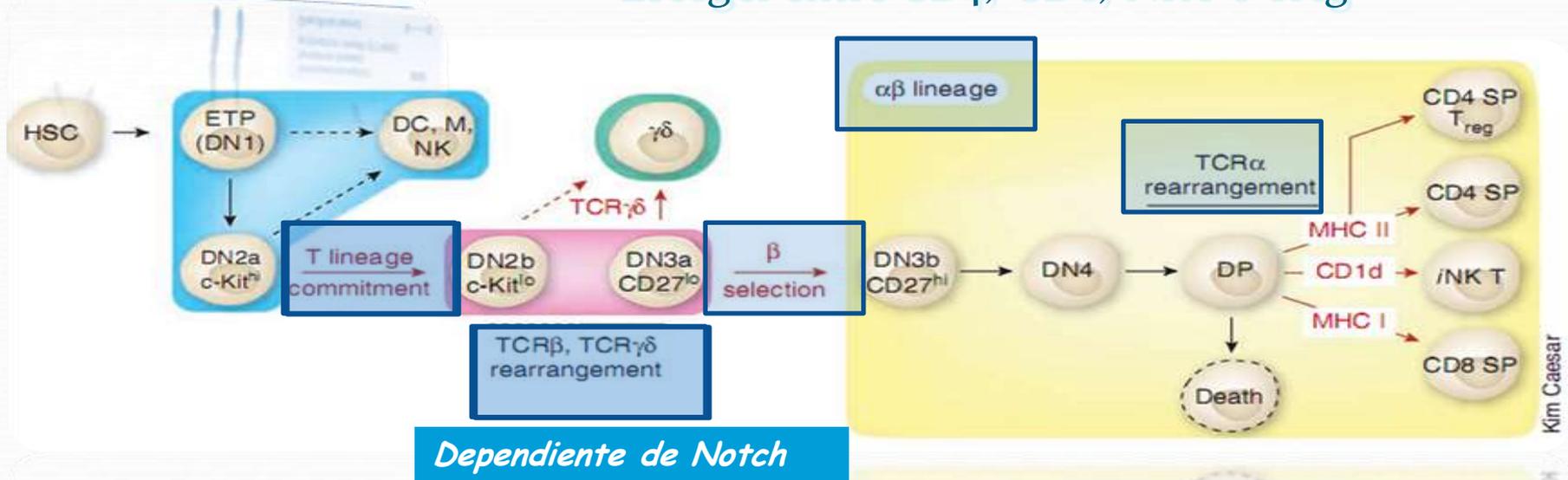
- Comisionar hacia el linaje linfoide y decidir hacia linfocito T o B
- Reordenamiento del TCR
- Escoger entre $TCR\gamma\delta$ o $TCR\alpha\beta$
- Selección de la cadena β , α
- Selección positiva y negativa
- Escoger entre CD4, CD8, NKT o Treg

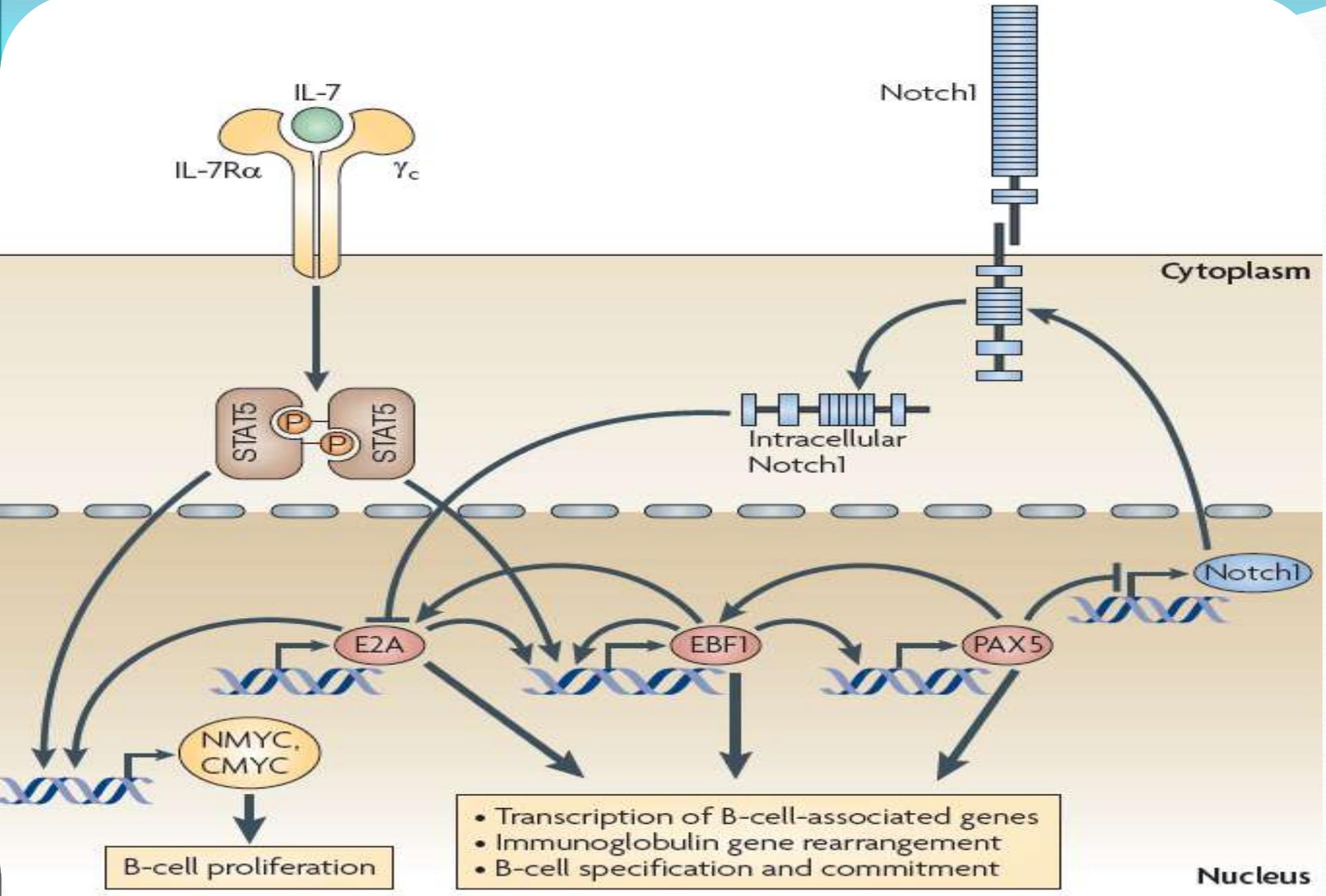


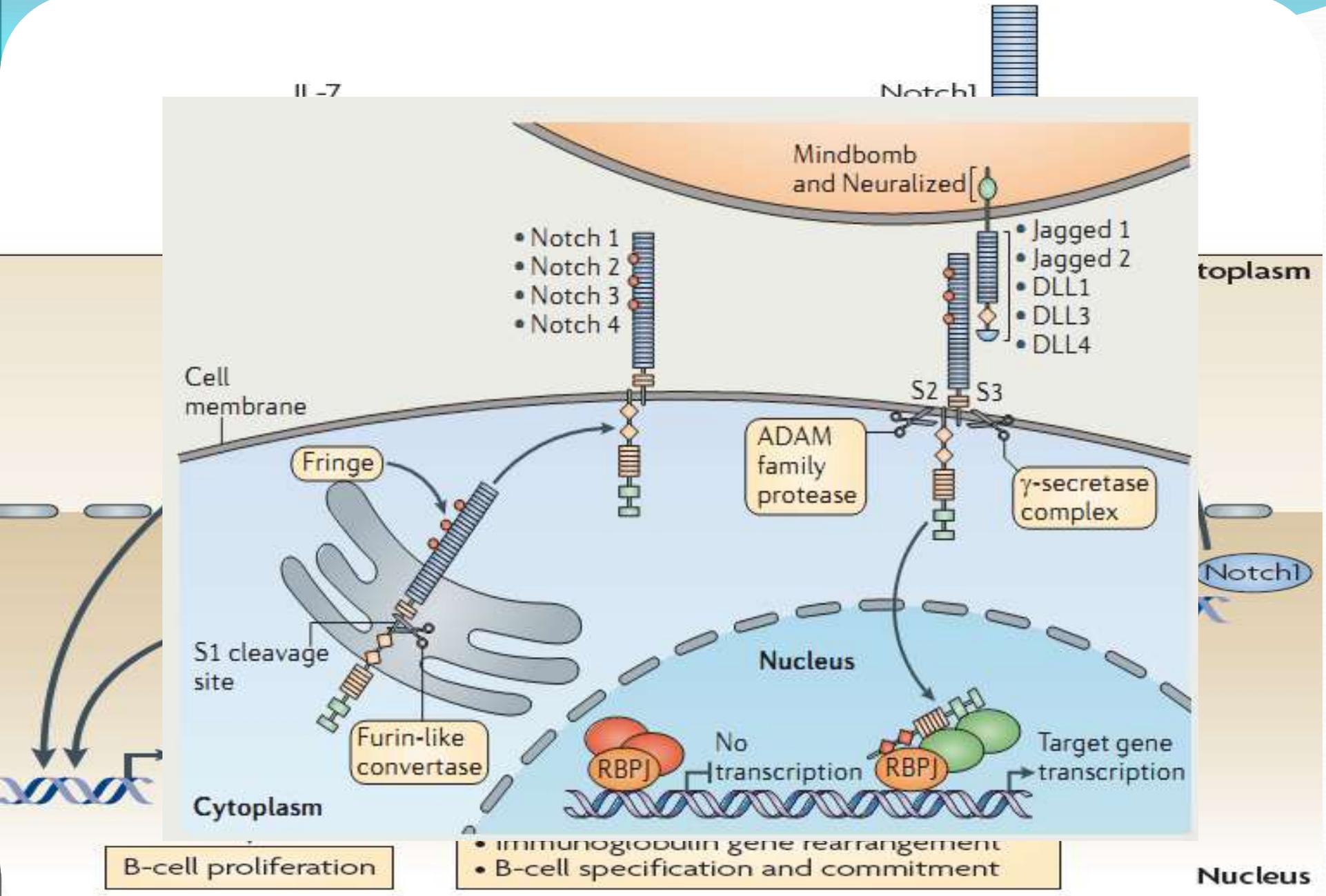
Ontogenia de linfocitos T

• Durante la ontogenia de linfocitos T se toman las siguientes decisiones:

- Comisionar hacia el linaje linfoide y decidir hacia linfocito T o B
- Reordenamiento del TCR
- Escoger entre $TCR\gamma\delta$ o $TCR\alpha\beta$
- Selección de la cadena β , α
- Selección positiva y negativa
- Escoger entre CD4, CD8, NKT o Treg





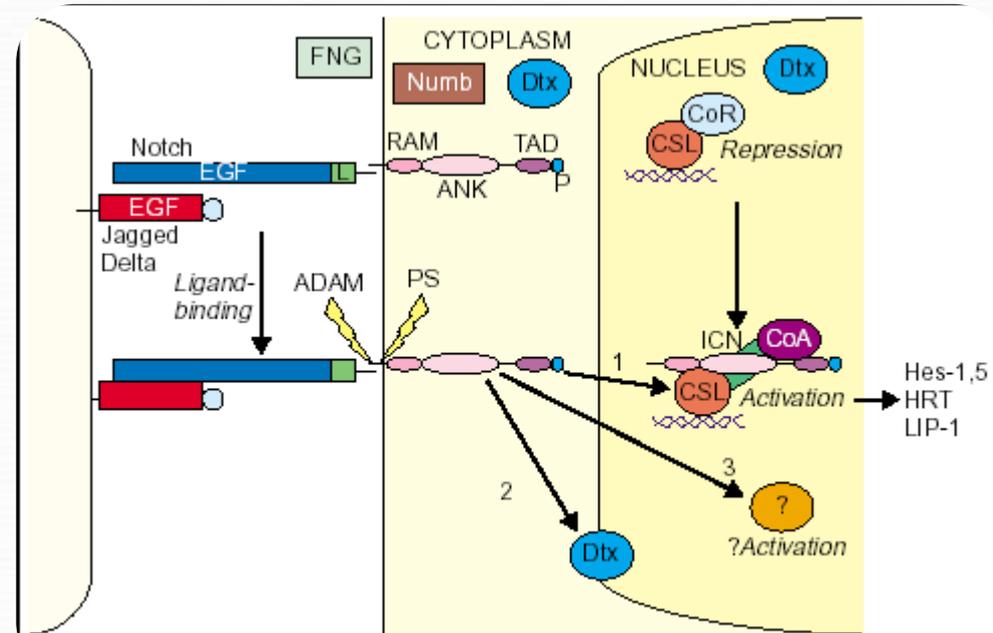


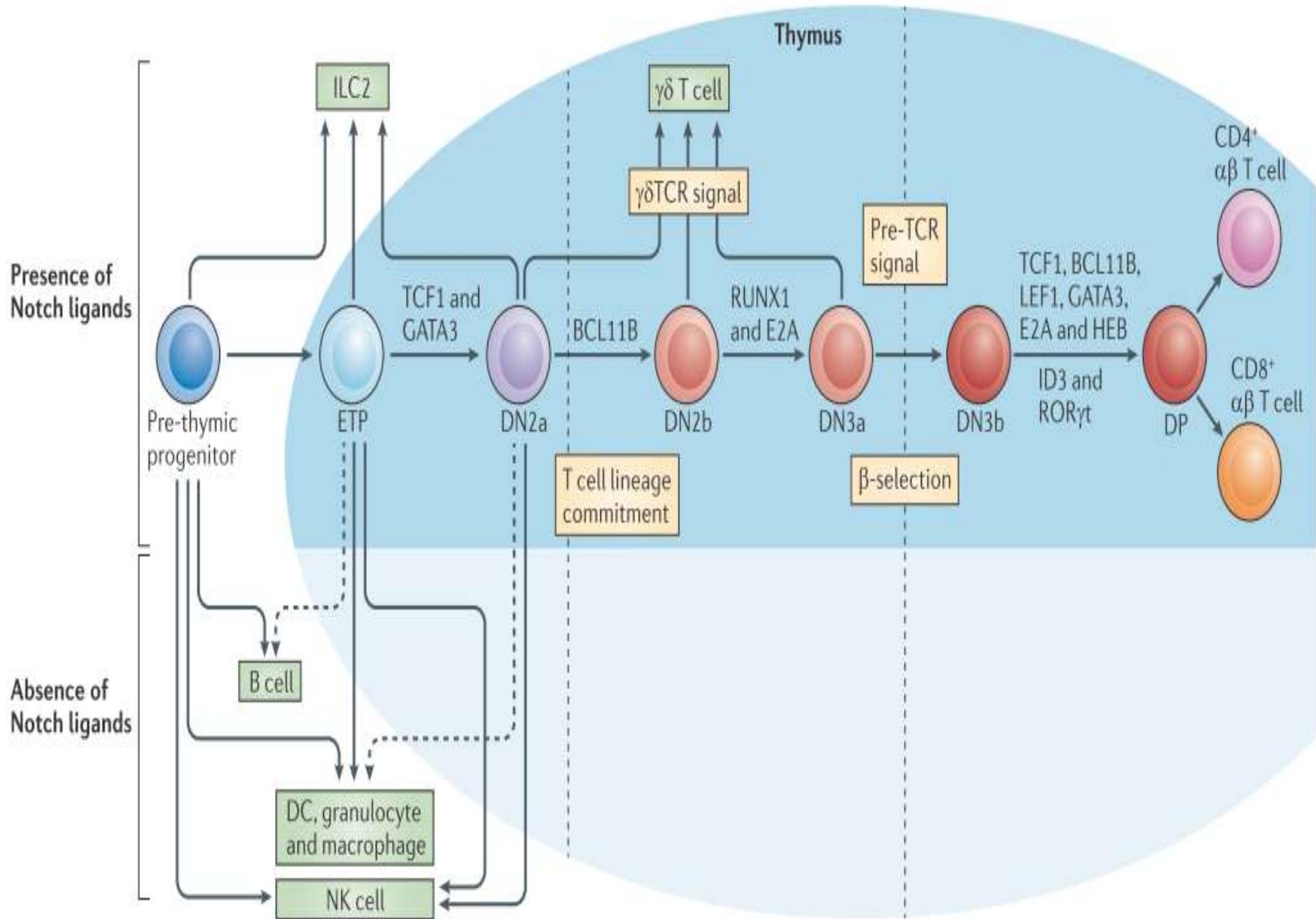
Ontogenia: LINFOCITOS T

Papel de Notch

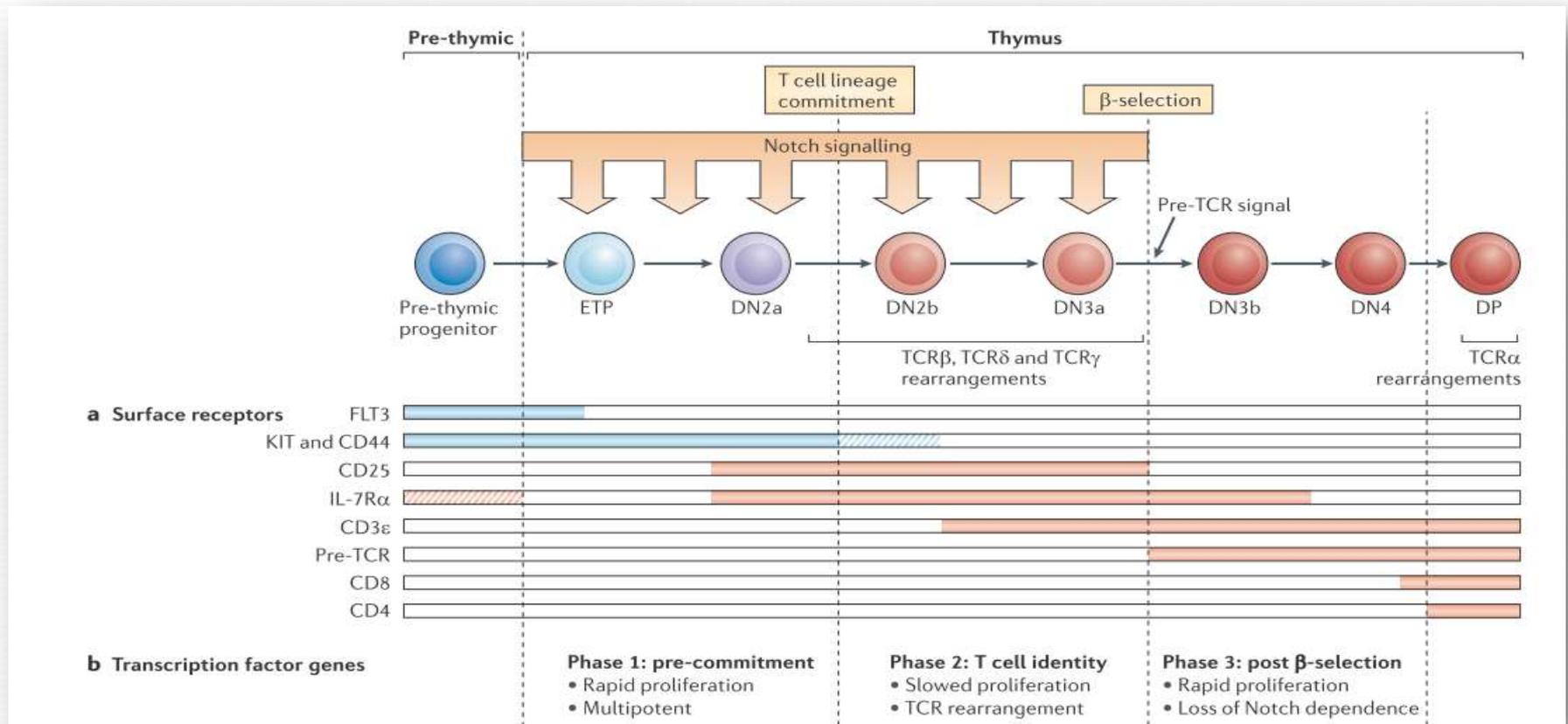
- Ligando de Notch, DELTA-1/4 es expresado en la unión córtico-medular
 - Favorece desarrollo de $T\alpha\beta$ sobre $\gamma\delta$
- Notch bloquea EA2/Pax5 (importante en la inducción del desarrollo de linf B)

- Notch media ensamblaje del pre-TCR y sinergiza con él, en la selección de linfocitos TCR β
- Pero luego es inhibido por el pre-TCR



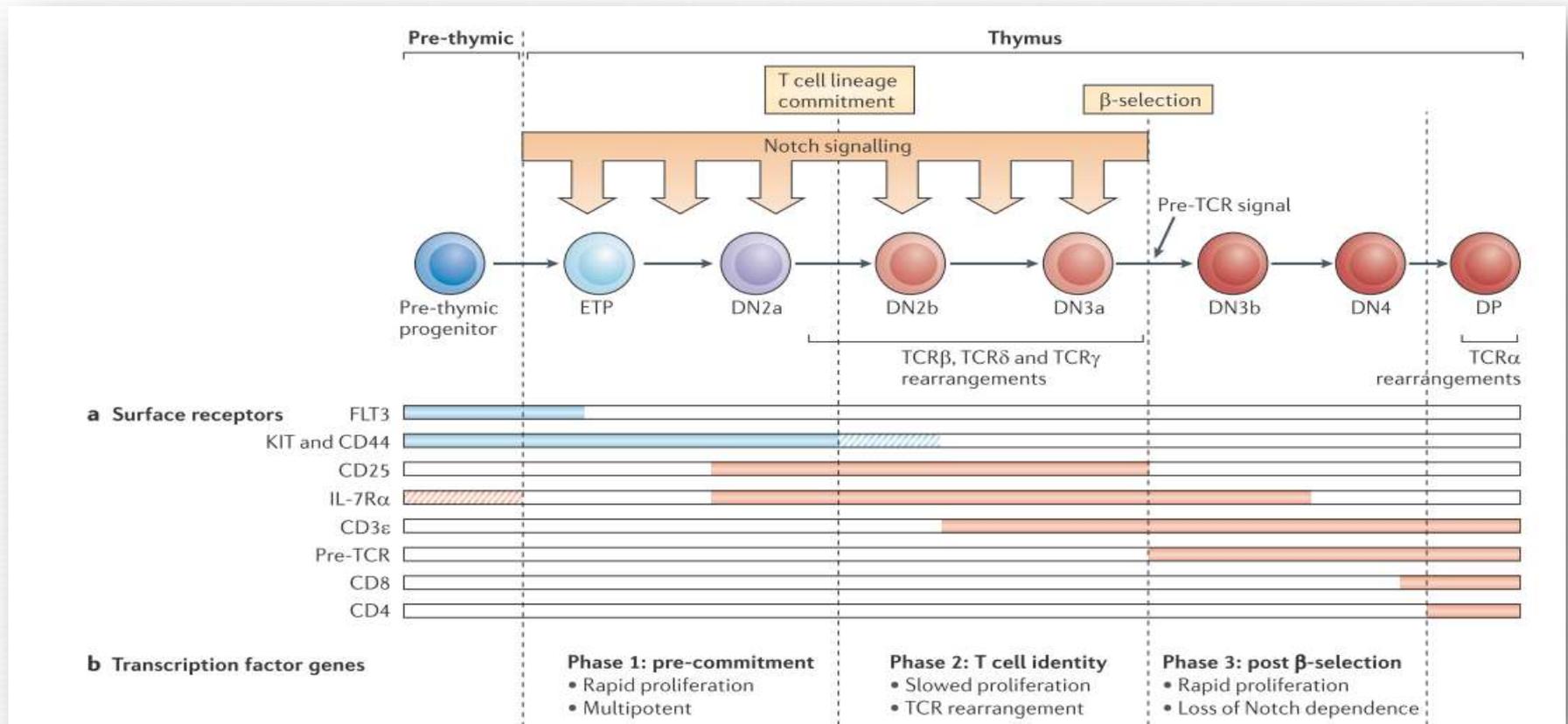


Señales mediadas por Notch durante la ontogenia de linfocitos T



Señales mediadas por Notch durante la ontogenia de linfocitos T

Dos fases: Notch-dependiente (pre-commitment (fase 1) y fase 2 que determina la identidad del linaje T (fase 2)

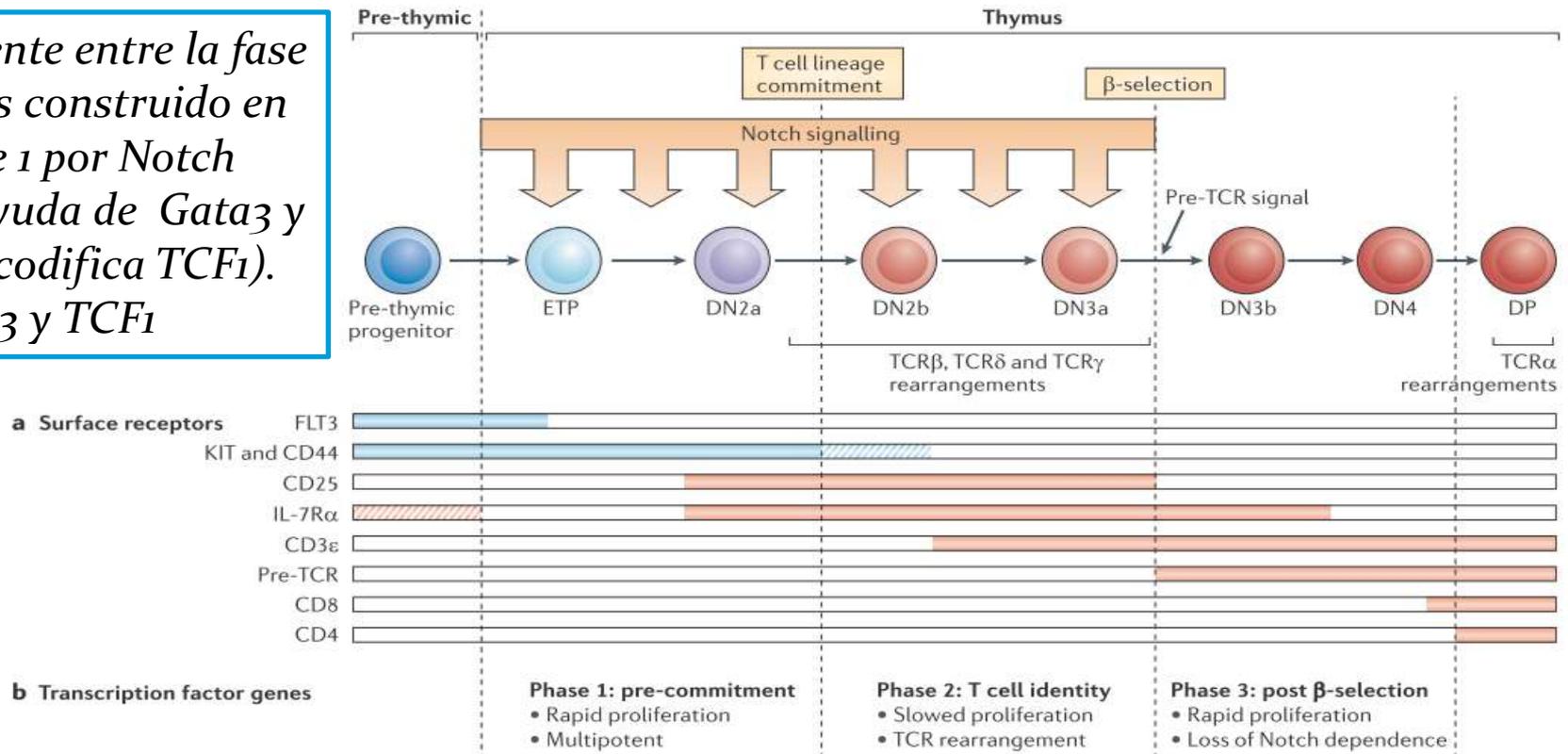


Señales mediadas por Notch de linfocitos T

Señales a través del pre-TCR apaga la expresión de genes target de Notch DN2-DN3

Dos fases: Notch-dependiente (pre-commitment (fase 1) y fase 2 que determina la identidad del linaje T (fase 2)

El puente entre la fase 2 y 1 es construido en la fase 1 por Notch con ayuda de Gata3 y Tcf7 (codifica TCF1). GATA3 y TCF1



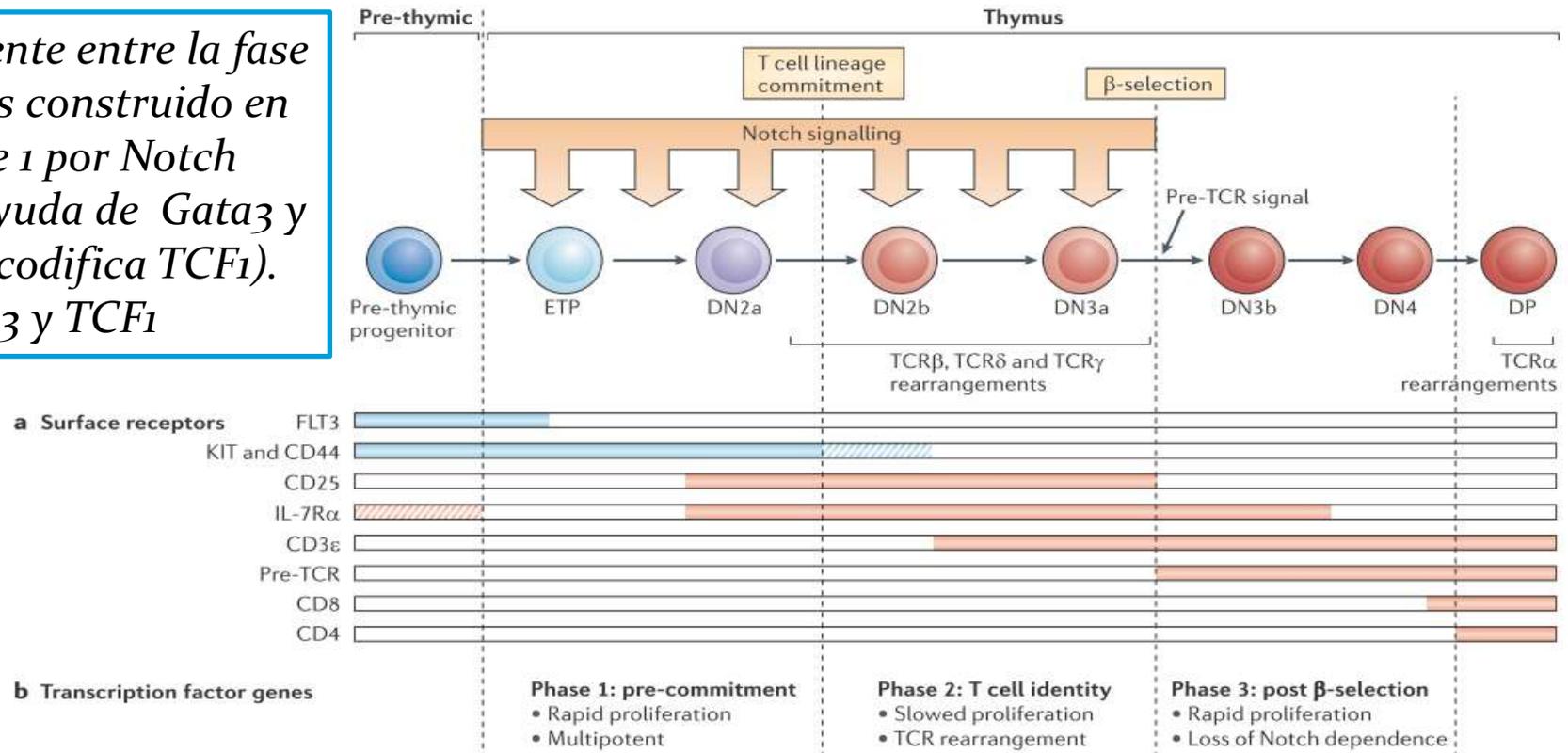
Cruciales de T cell *Tcf7*, *Gata3* y *Bcl11b* inducido por ligandos timico de Notch

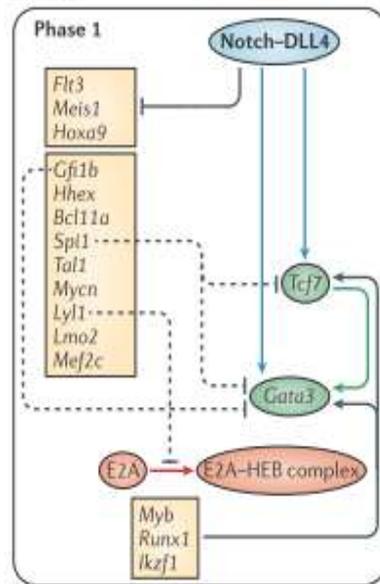
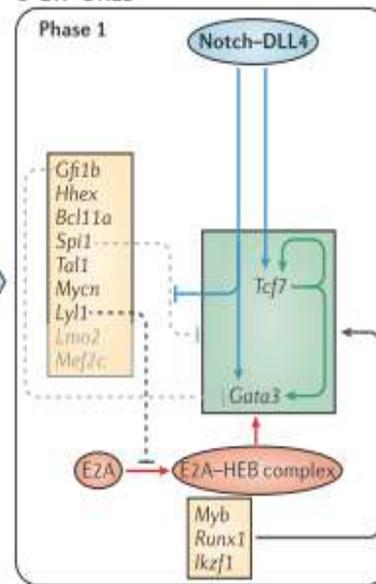
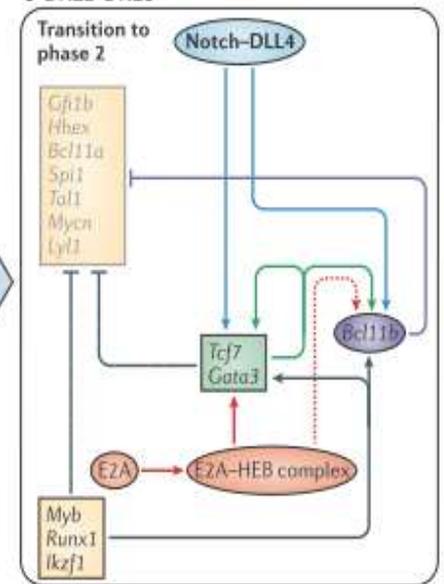
Notch de

Señales a través del pre-TCR apaga la expresión de genes target de Notch DN2-DN3

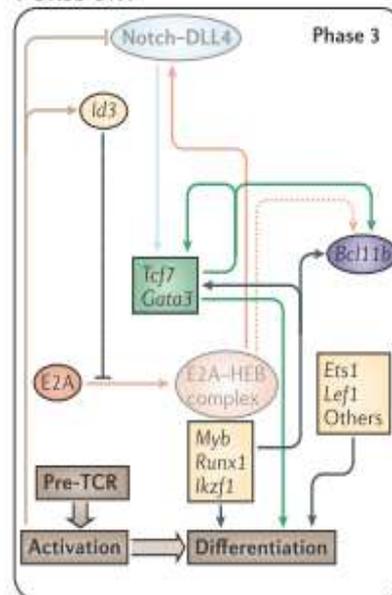
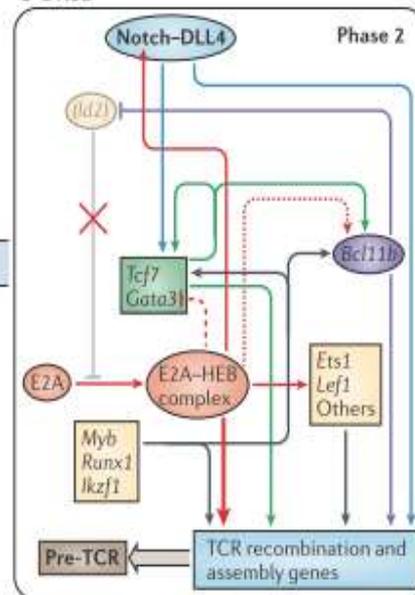
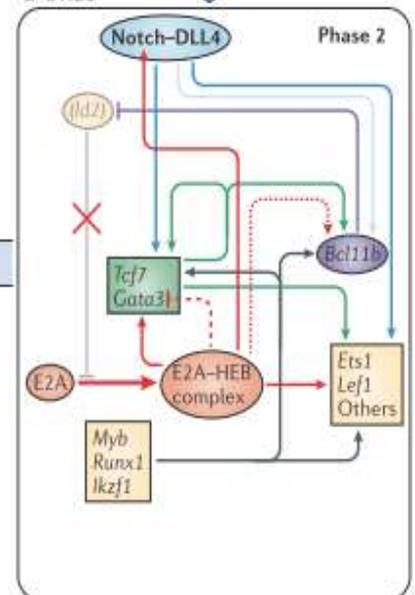
Dos fases: Notch-dependiente (pre-commitment (fase 1) y fase 2 que determina la identidad del linaje T (fase 2)

El puente entre la fase 2 y 1 es construido en la fase 1 por Notch con ayuda de *Gata3* y *Tcf7* (codifica *TCF1*). *GATA3* y *TCF1*

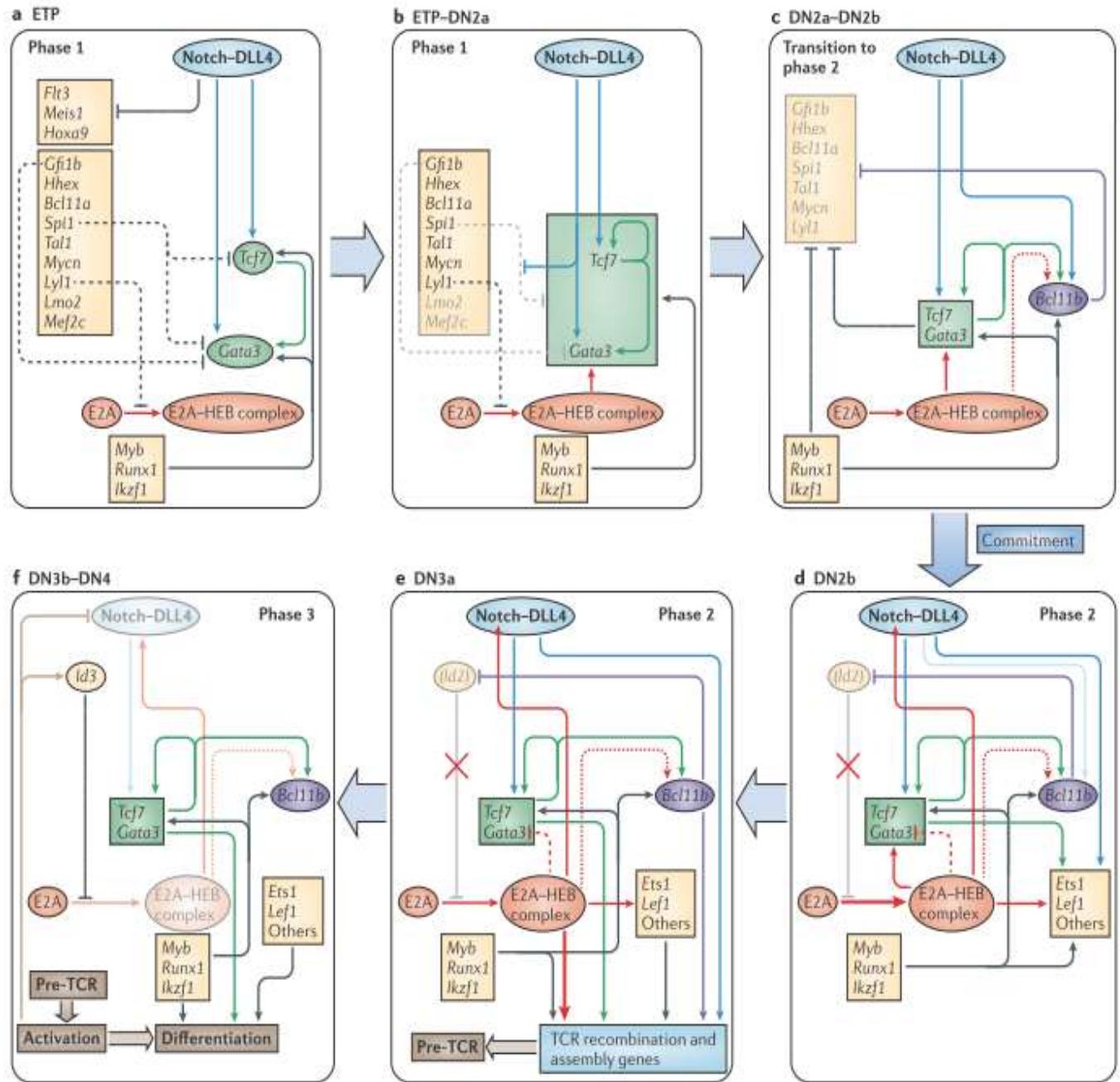


a ETP**b ETP-DN2a****c DN2a-DN2b**

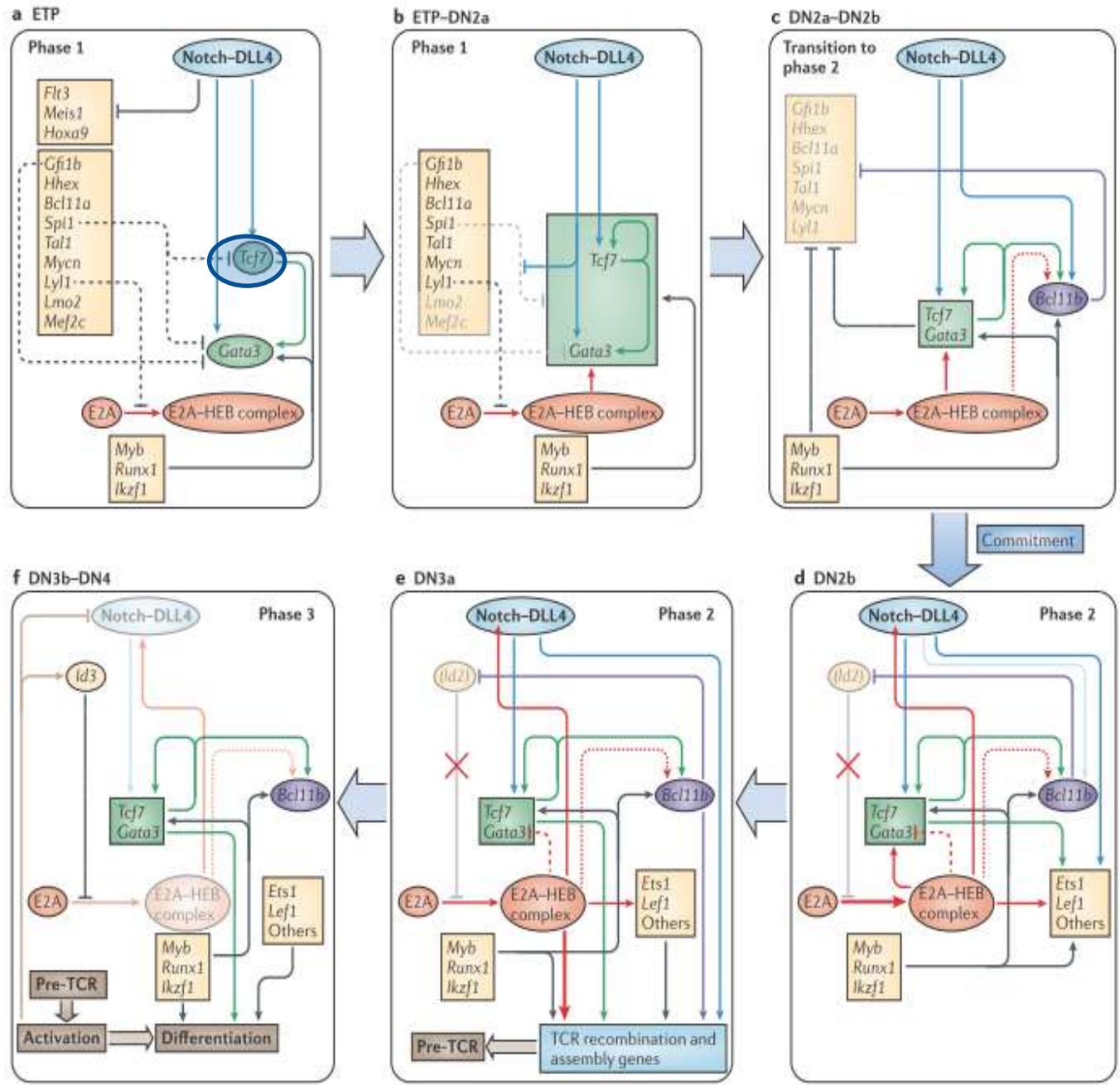
Commitment

f DN3b-DN4**e DN3a****d DN2b**

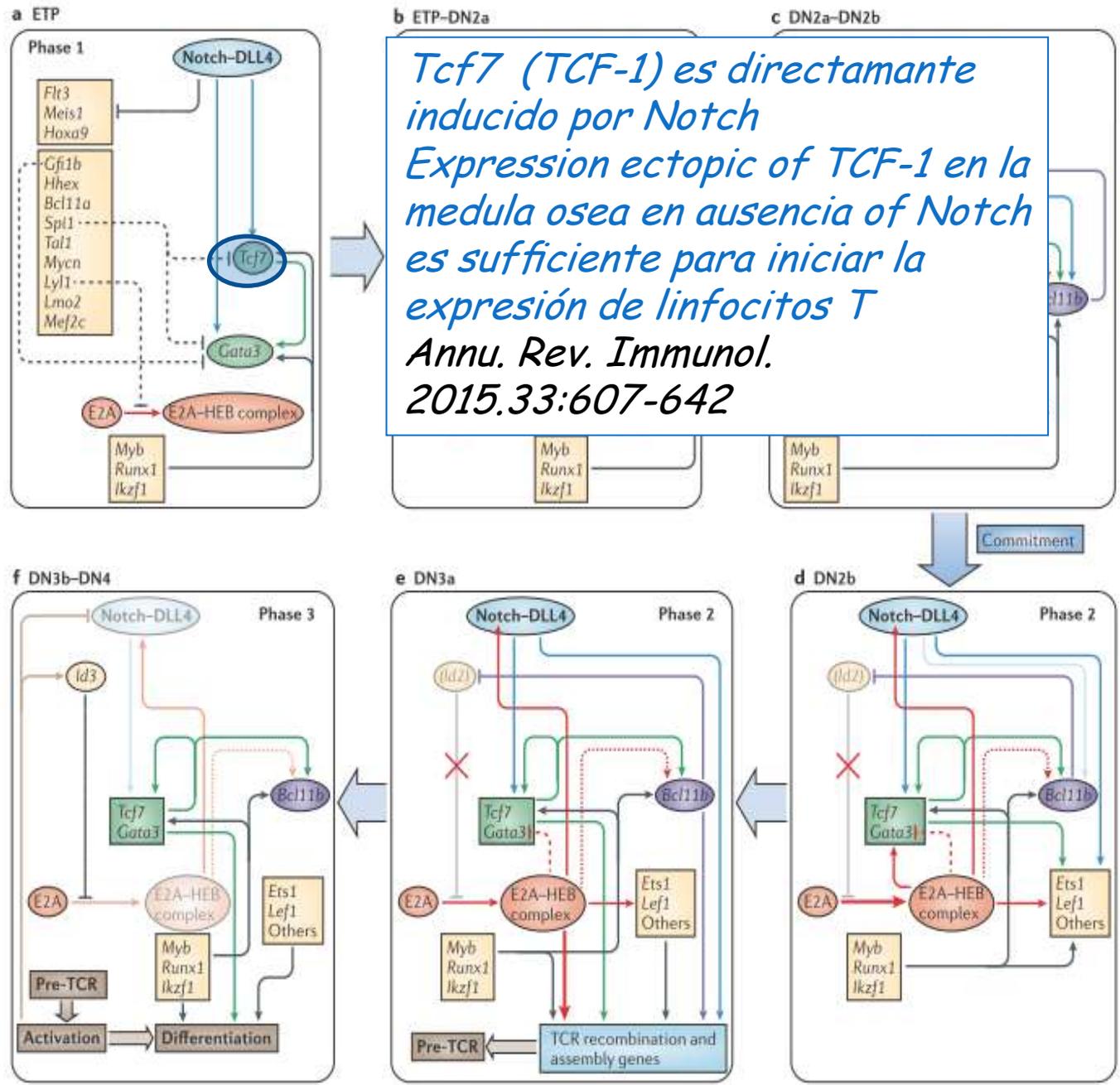
Notch1 y su ligando DLL4



Notch1 y su ligando DLL4

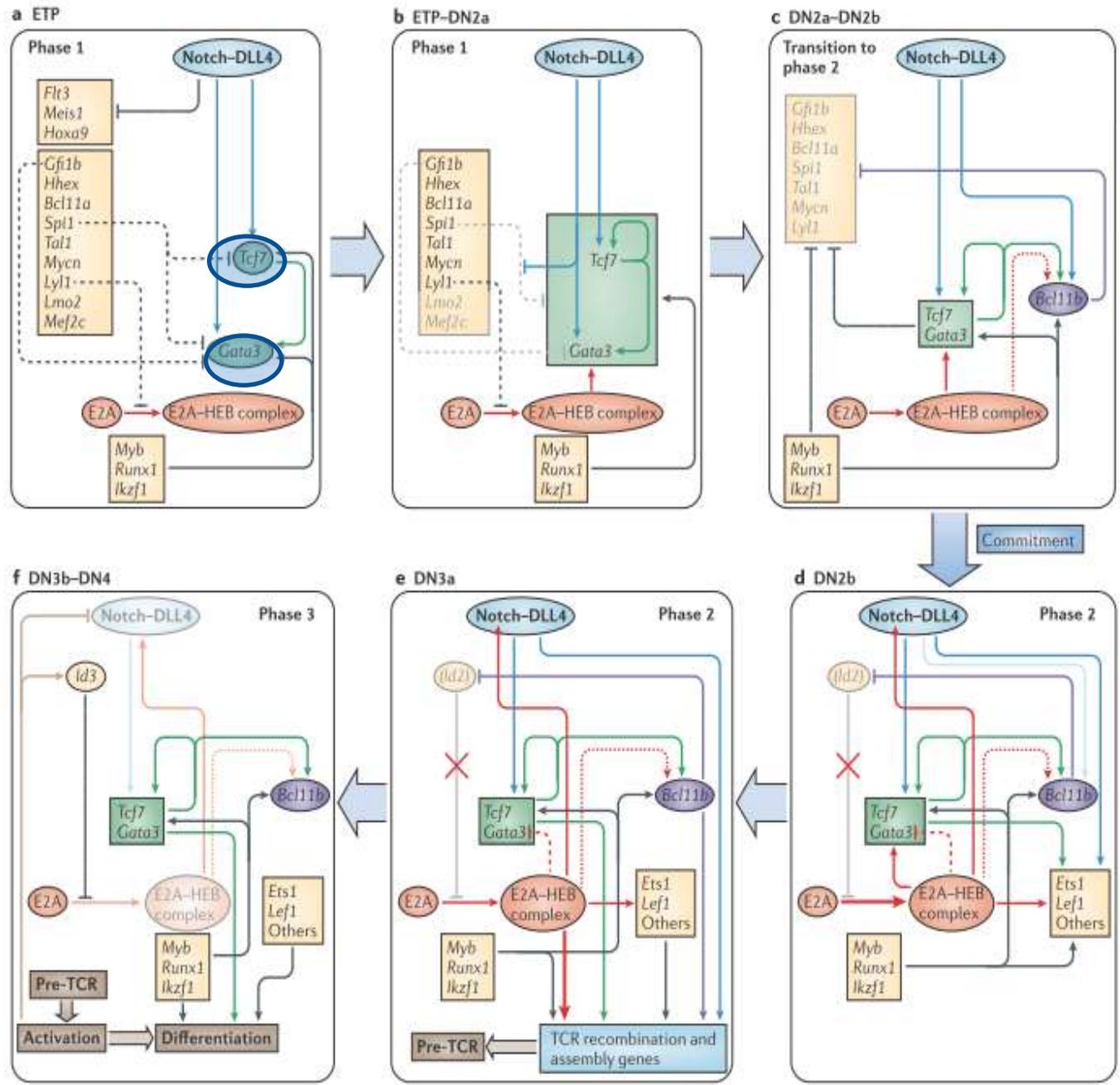


Notch1 y su ligando DLL4

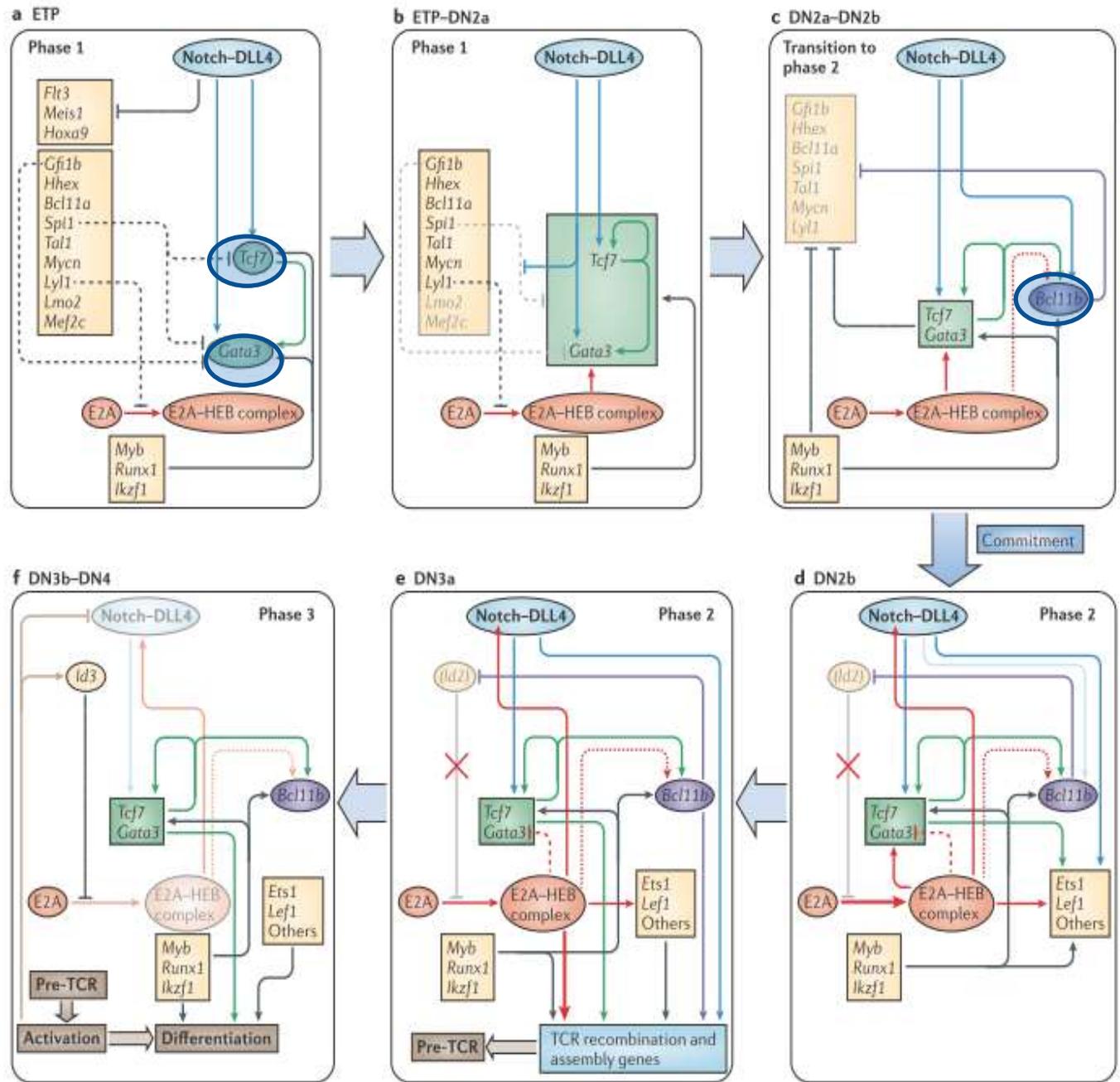


Tcf7 (TCF-1) es directamente inducido por Notch
Expression ectopica of TCF-1 en la medula osea en ausencia of Notch es suficiente para iniciar la expresi3n de linfocitos T
Annu. Rev. Immunol. 2015.33:607-642

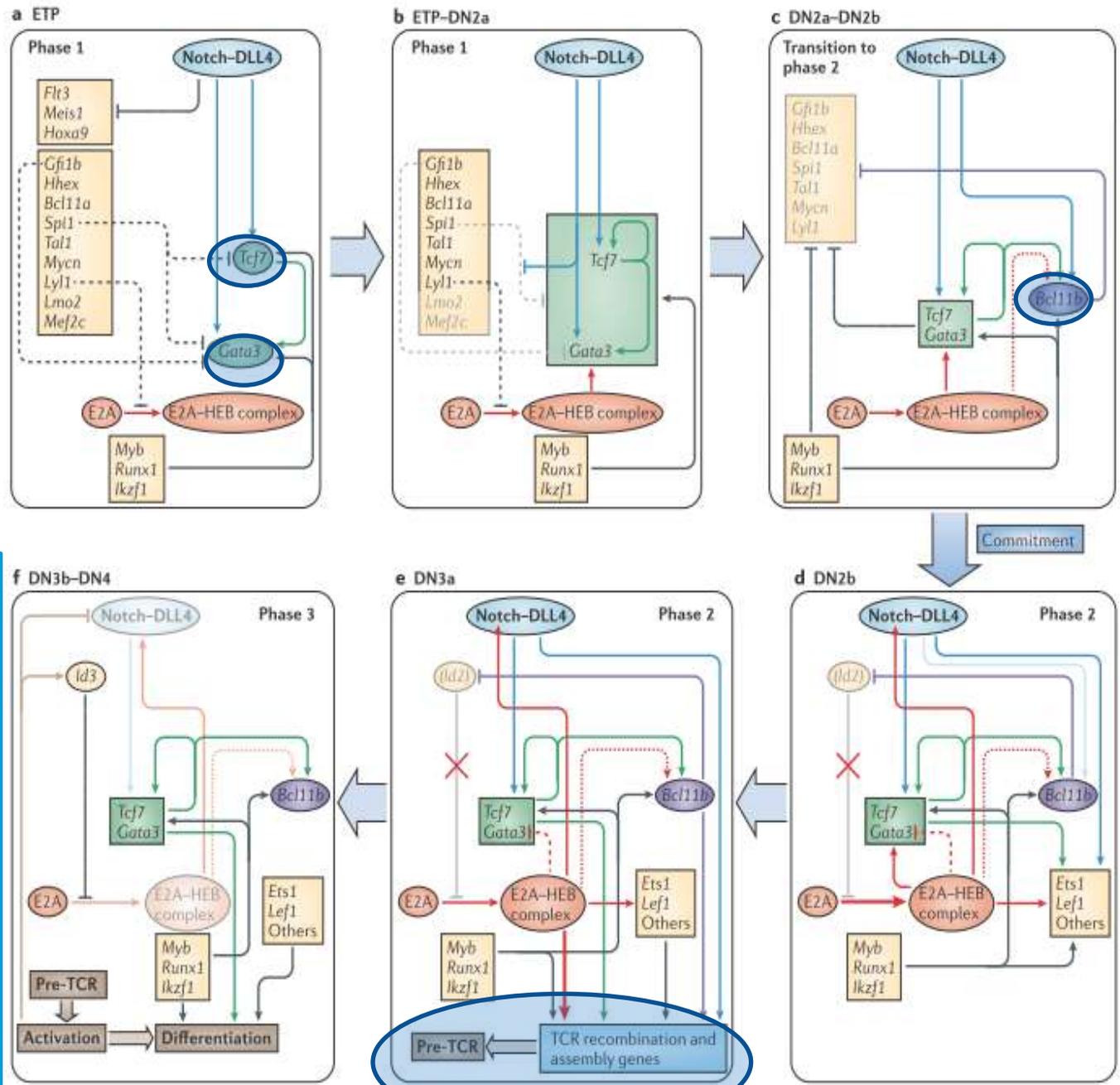
Notch1 y su ligando DLL4



Notch1 y su ligando DLL4

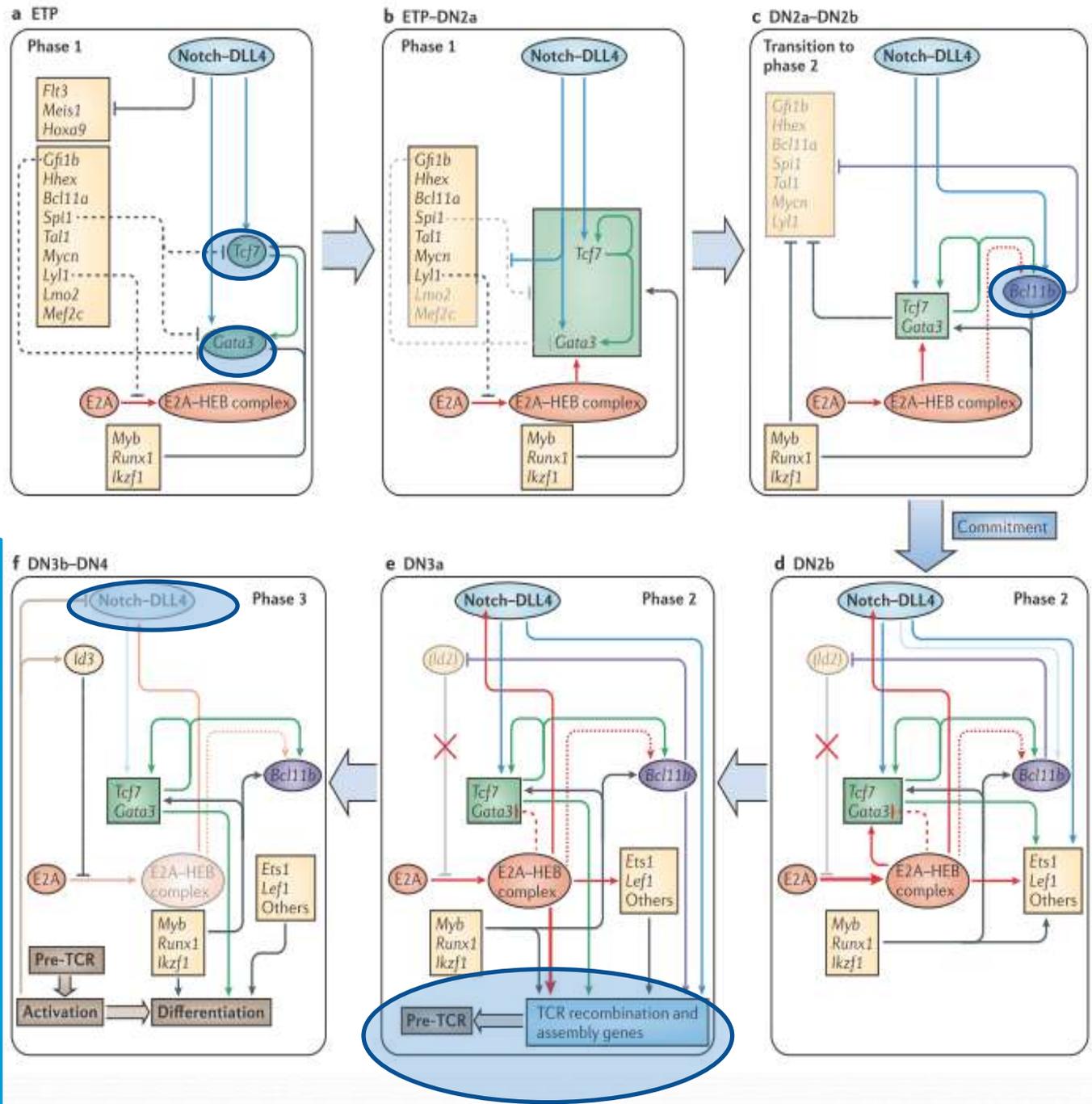


Notch1 y su ligando DLL4



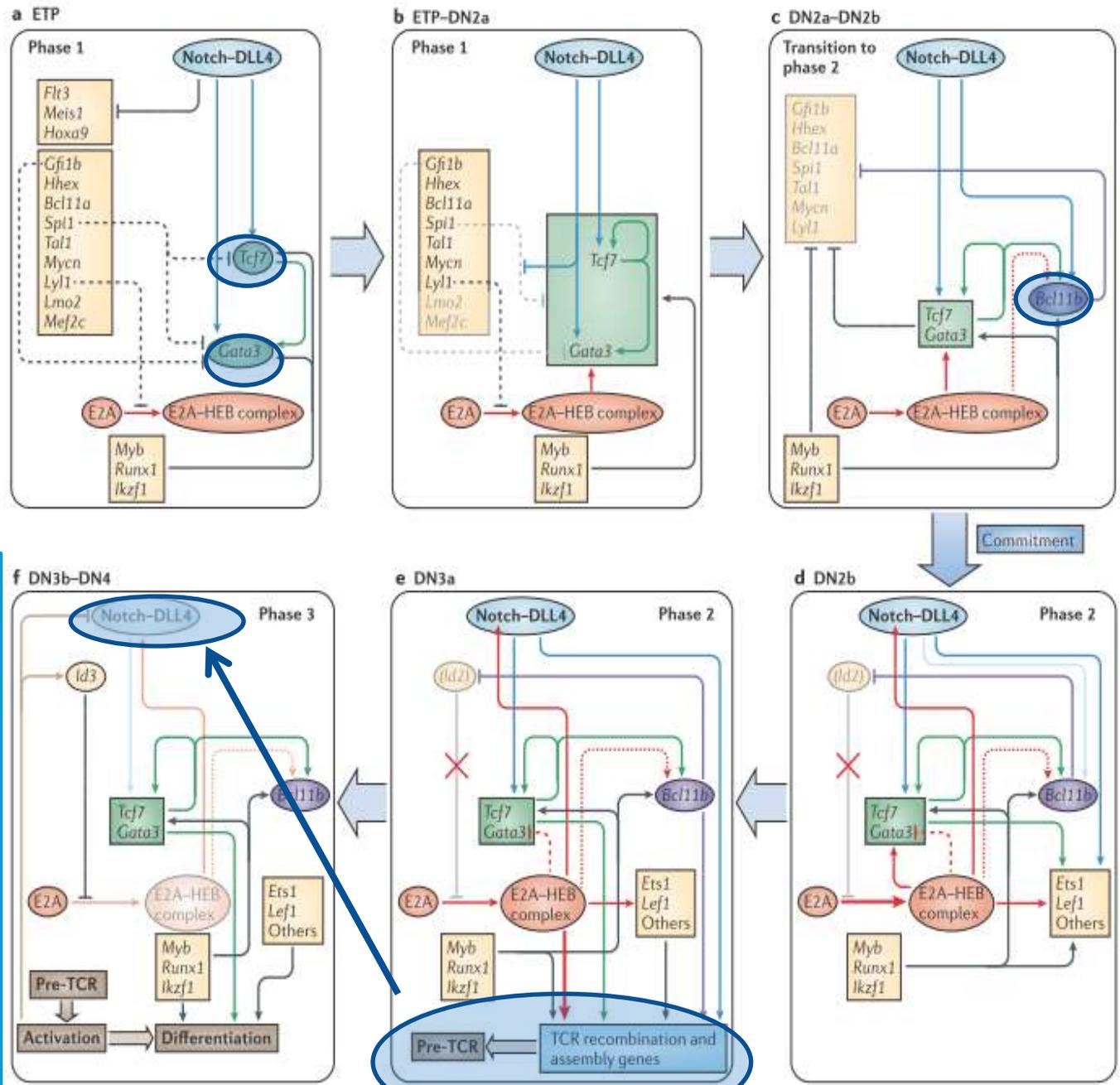
E protein-dependent y Notch-dependiente incrementan la expresi3n de recombination activating gene 1 (Rag1), Rag2, Ptcra, terminal deoxynucleotidyl - transferase (tdt) y Cd3e.

Notch1 y su ligando DLL4



E protein-dependent y Notch-dependiente incrementan la expresi3n de recombination activating gene 1 (Rag1), Rag2, Ptcra, terminal deoxynucleotidyl - transferase (tdt) y Cd3e.

Notch1 y su ligando DLL4

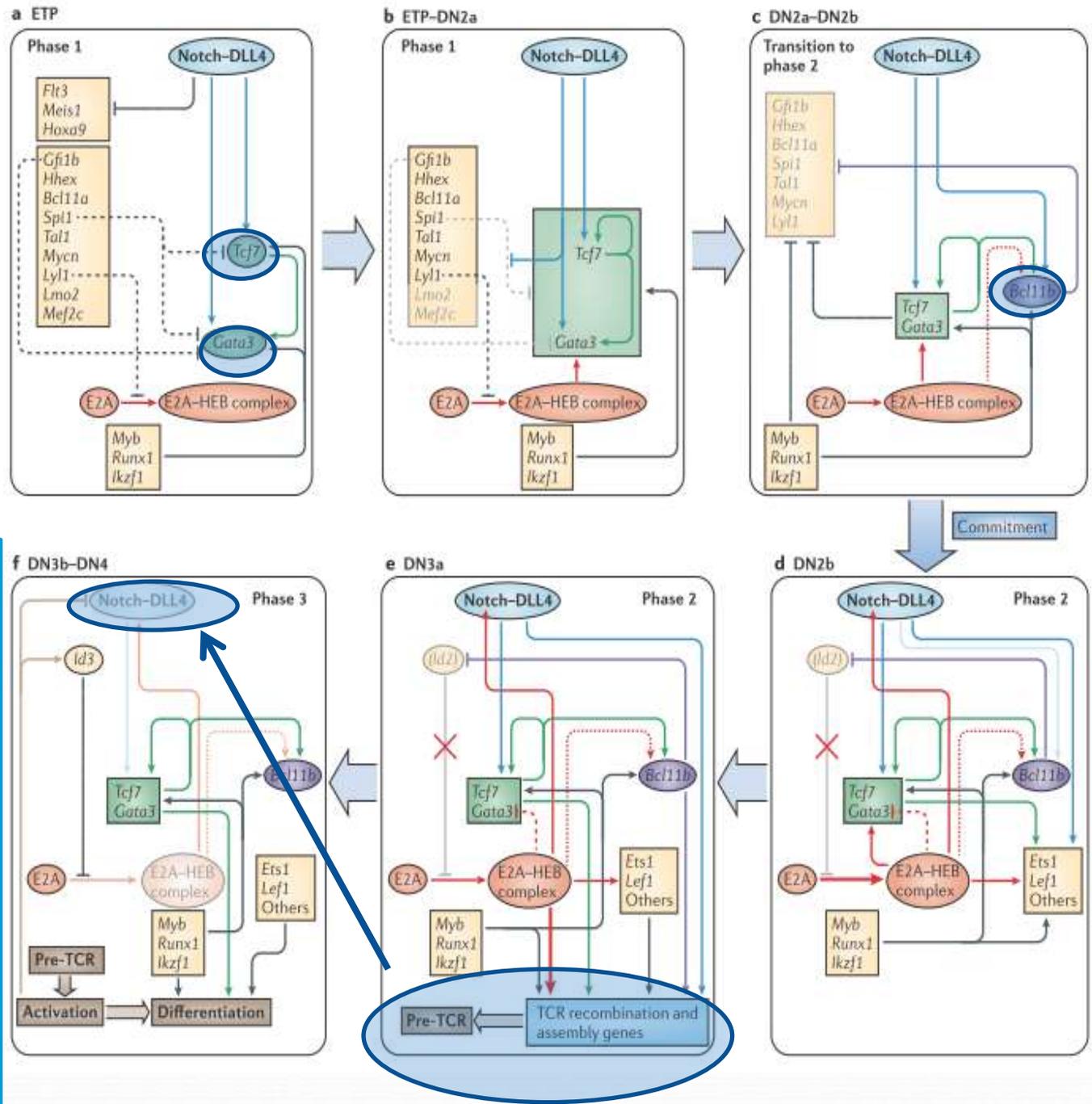


E protein-dependent y Notch-dependiente incrementan la expresión de recombination activating gene 1 (Rag1), Rag2, Ptcra, terminal deoxynucleotidyl - transferase (tdt) y Cd3e.

Notch1 y su ligando DLL4

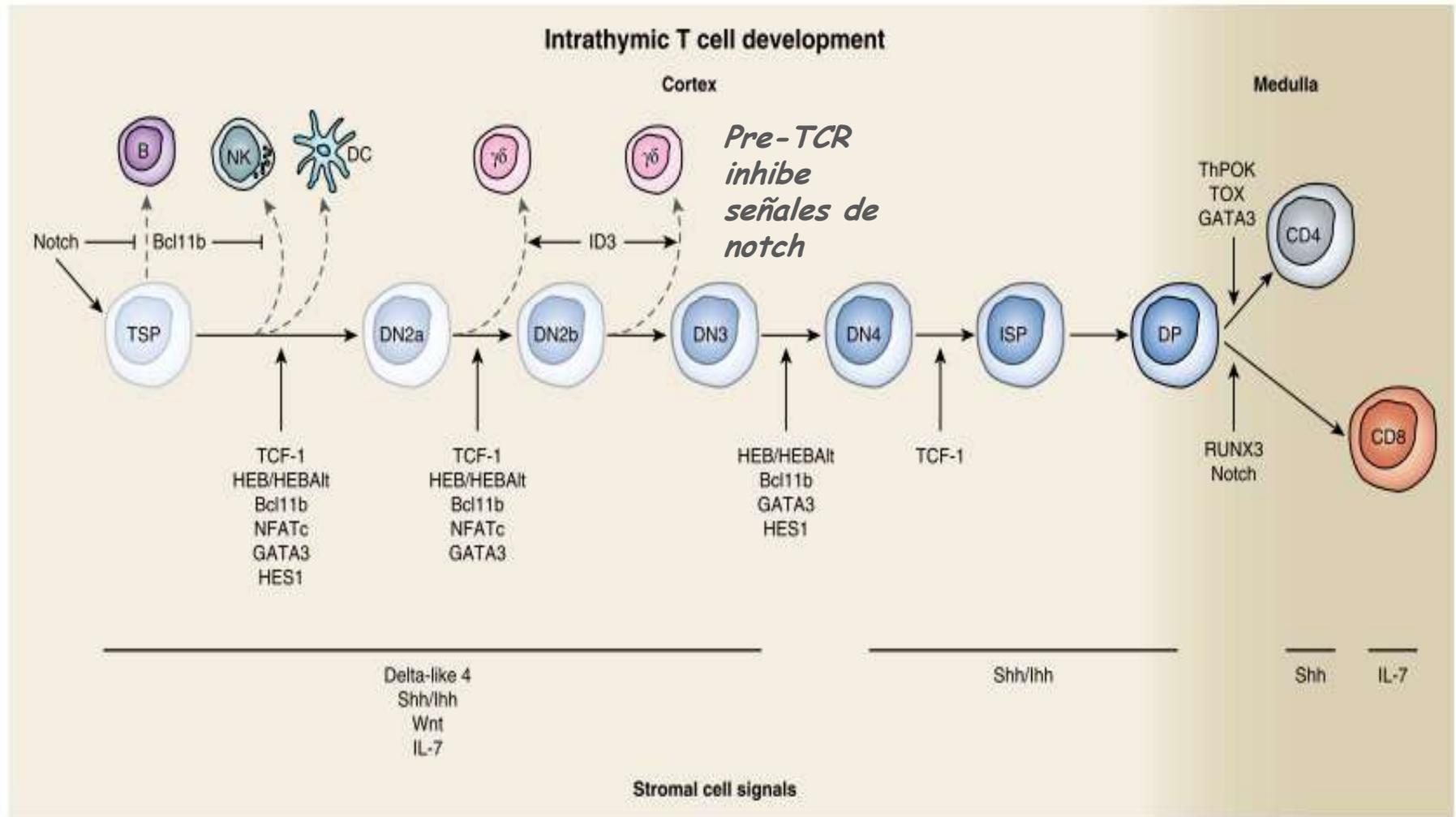
pre-TCR-media incremento de Id3 y antagonismo de E2A conducen a perdida de expresion de Notch1

Annu. Rev. Immunol. 2015.33:607-642



E protein-dependent y Notch-dependiente incrementan la expresion de recombination activating gene 1 (*Rag1*), *Rag2*, *Ptcra*, terminal deoxynucleotidyl - transferase (*tdt*) y *Cd3e*.

Resumen

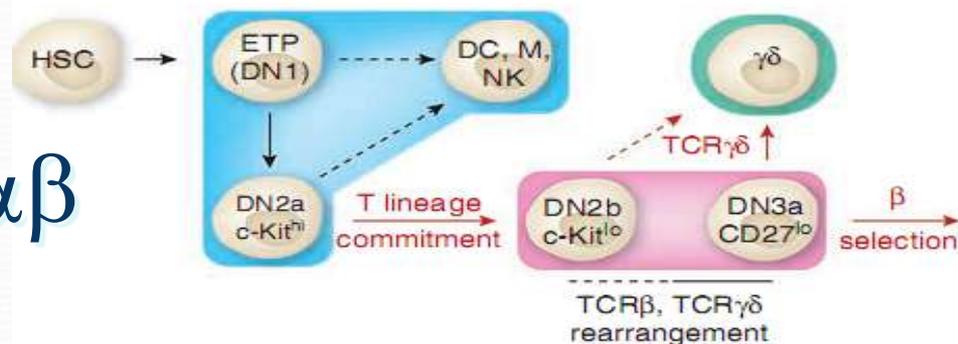


Ontogenia de Linfocitos T

• Decisión T $\gamma\delta$ vrs T $\alpha\beta$

• Células T $\gamma\delta$

- Comienzan a desarrollarse primero que los precursores de linfocitos T $\alpha\beta$
- Sin embargo, predomina desarrollo de T $\alpha\beta$
- Su desarrollo en el timo es inhibido por la expresión del **pre-TCR**
- Emigran del timo, para ubicarse en las barreras epiteliales, donde culminan su desarrollo



Ontogenia de Linfocitos T

Generation



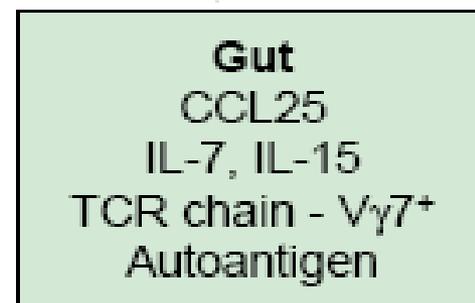
β
→
election

Migration

CCR10

CCR9

Homing
and expansion



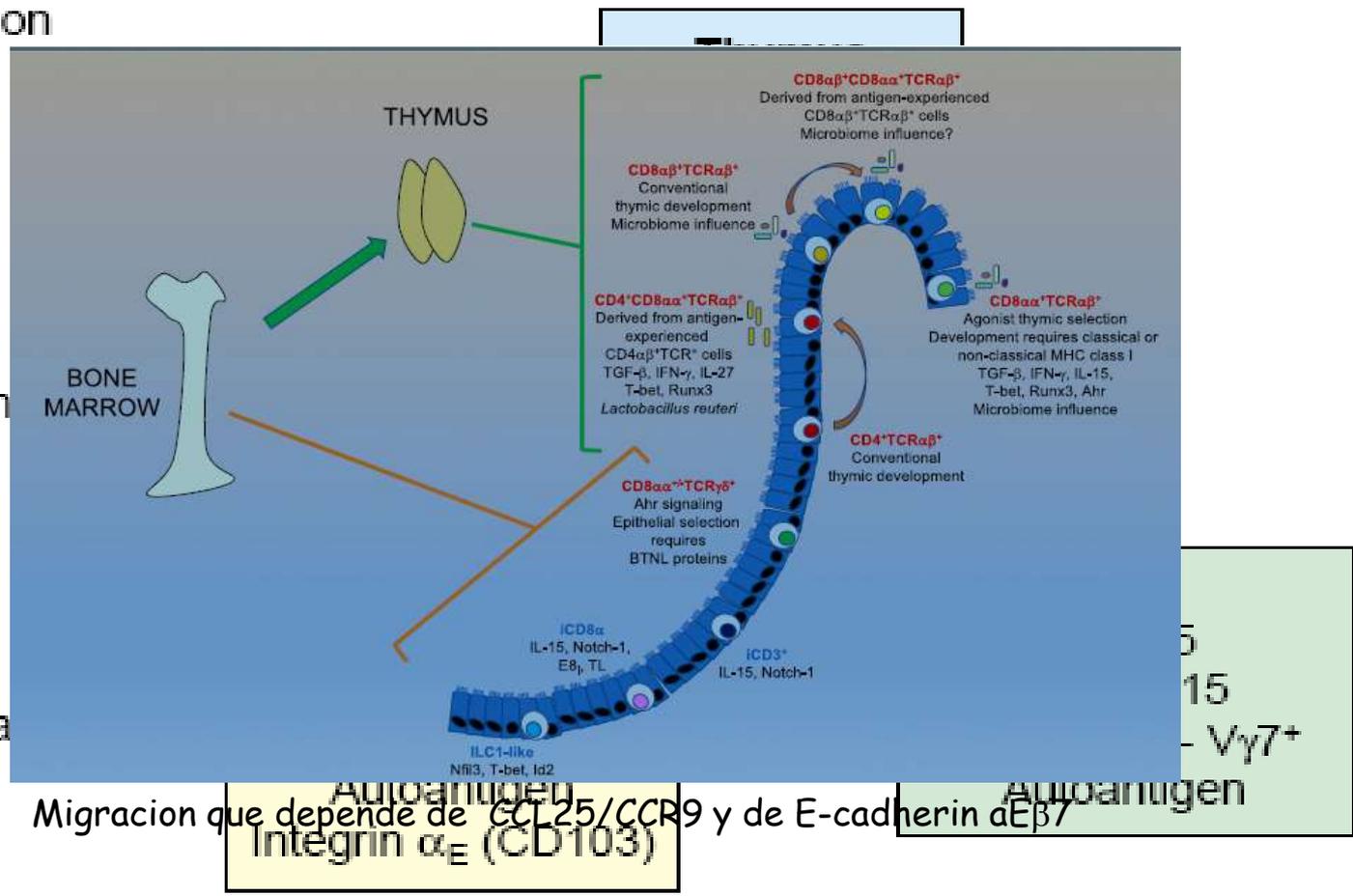
Current Opinion in Immunology

Ontogenia de Linfocitos T

Generation

Migration

Homing and expansion



β
election

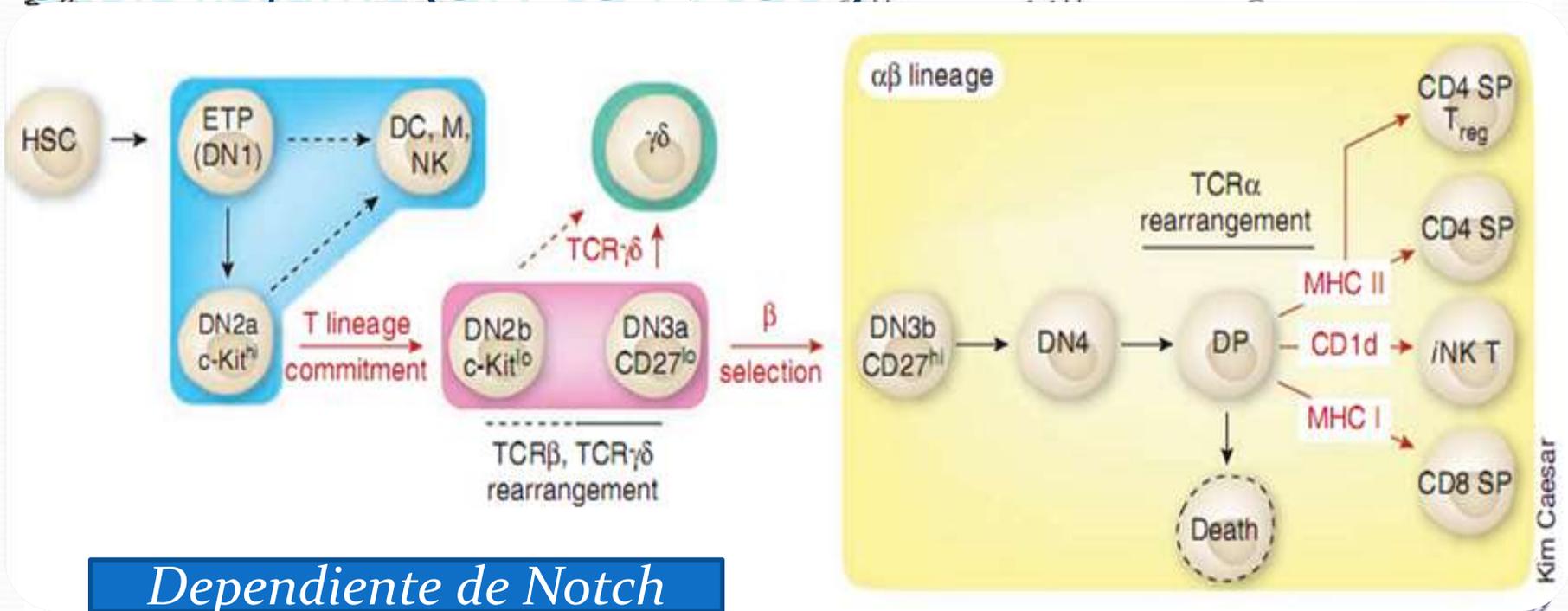
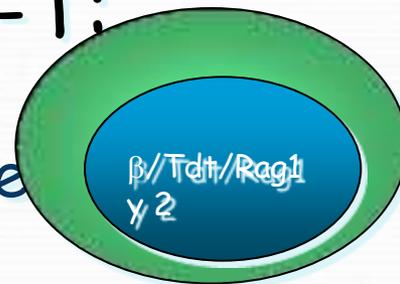
Current Opinion in Immunology

Ontogenia de Linfocitos T

Timocito temprano: Pro-T;

Reordenamiento de la Cadena β del TCR (receptor de linfocito T)

Doble negativo (DN=CD4-/CD8-)



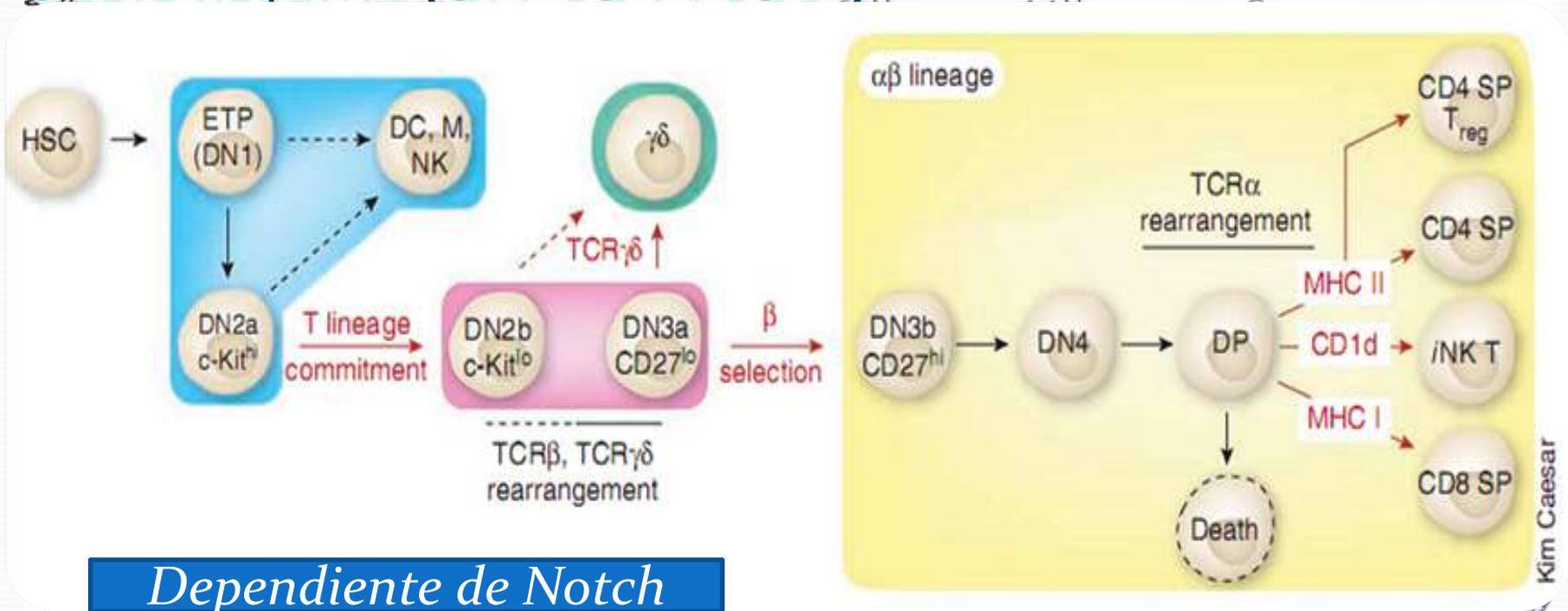
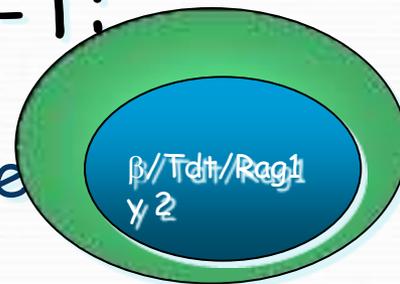
Dependiente de Notch

Ontogenia de Linfocitos T

Timocito temprano: Pro-T;

Reordenamiento de la Cadena β del TCR (receptor de linfocito T)

Doble negativo (DN=CD4-/CD8-)



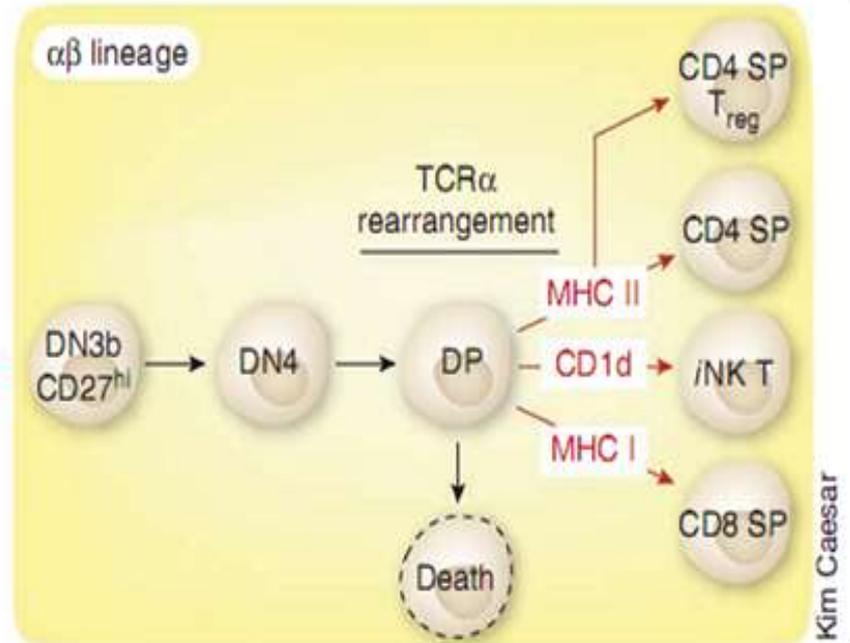
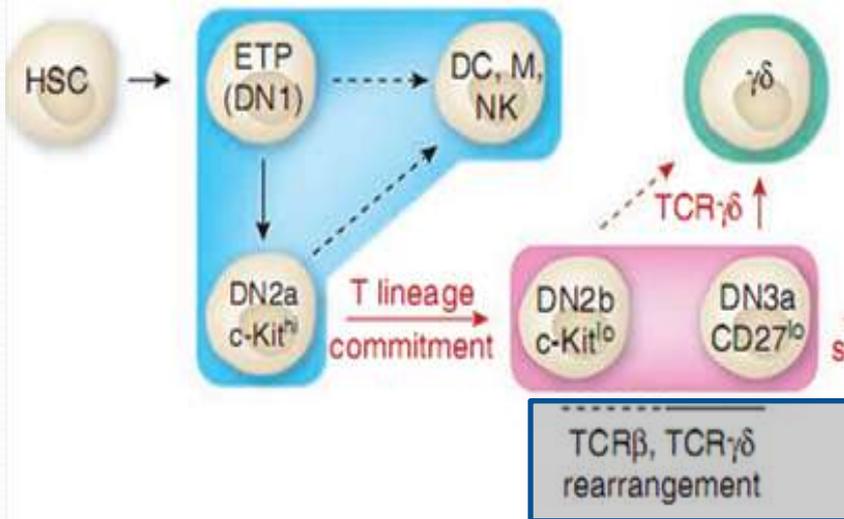
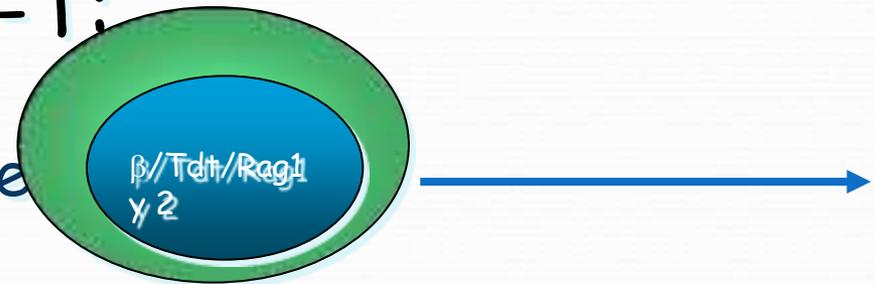
Dependiente de Notch

Ontogenia de Linfocitos T

Timocito temprano: Pro-T;

Reordenamiento de la Cadena β del TCR (receptor de linfocito T)

Doble negativo (DN=CD4-/CD8-)



Kim Caesar

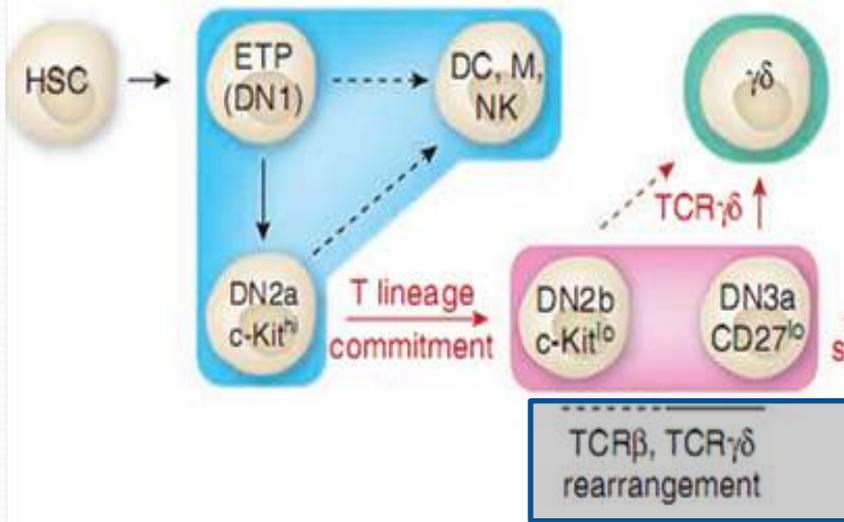
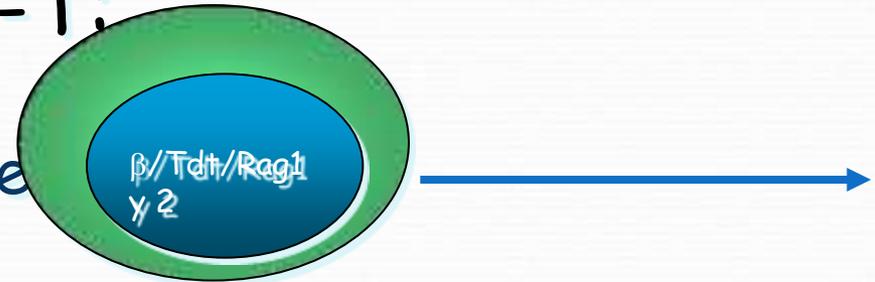
Dependiente de Notch

Ontogenia de Linfocitos T

Timocito temprano: Pro-T;

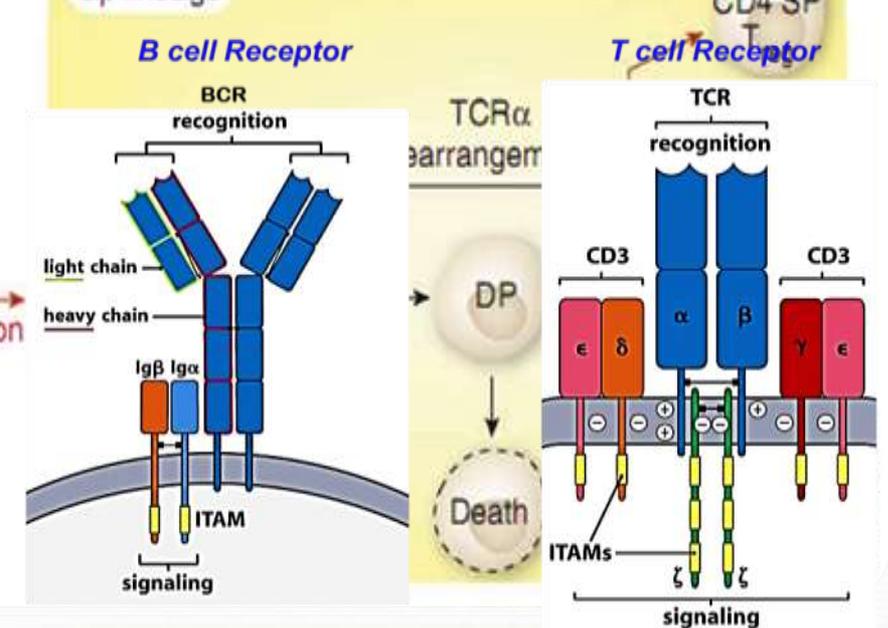
Reordenamiento de la Cadena β del TCR (receptor de linfocito T)

Doble negativo (DN=CD4⁻/CD8⁻)

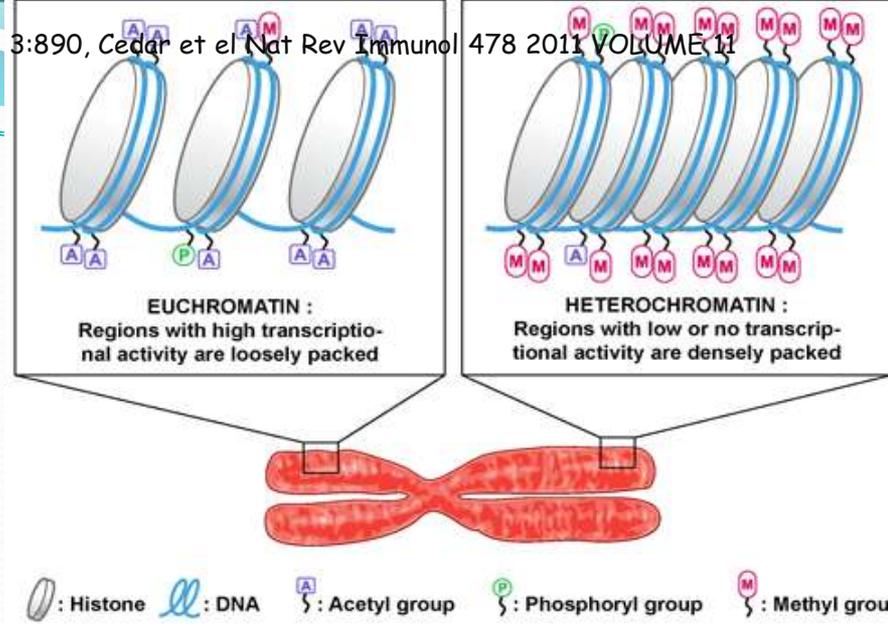


Dependiente de Notch

T Cell and B Cell Antigen Receptors (TCR and BCR)

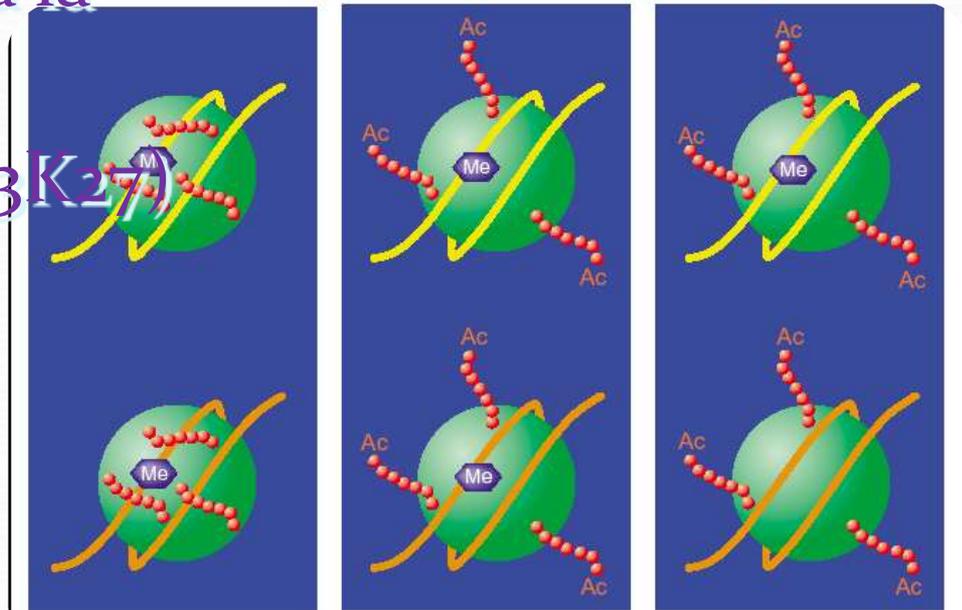


Ontogenia: REORDENAMIENTO DEL TCR Y BCR

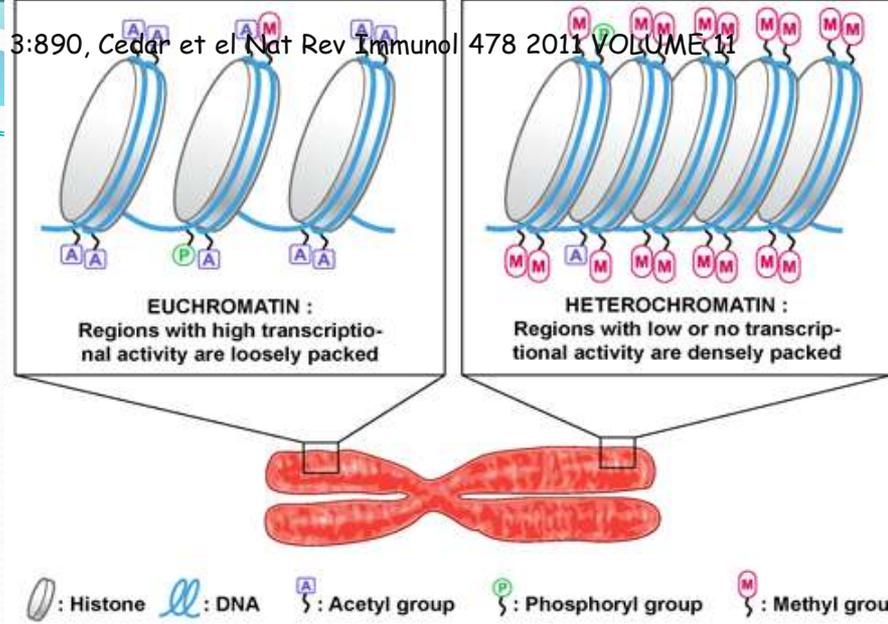


Modificaciones de las histonas

- Acetilación: accesibilidad a la cromatina
- Demetilación del ADN (H₃K₂₇)
 - Un solo alelo
 - Exclusión alélica



Ontogenia: REORDENAMIENTO DEL TCR Y BCR

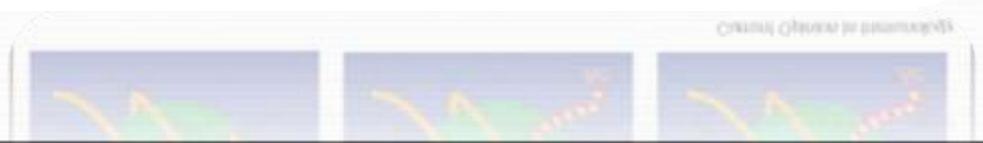
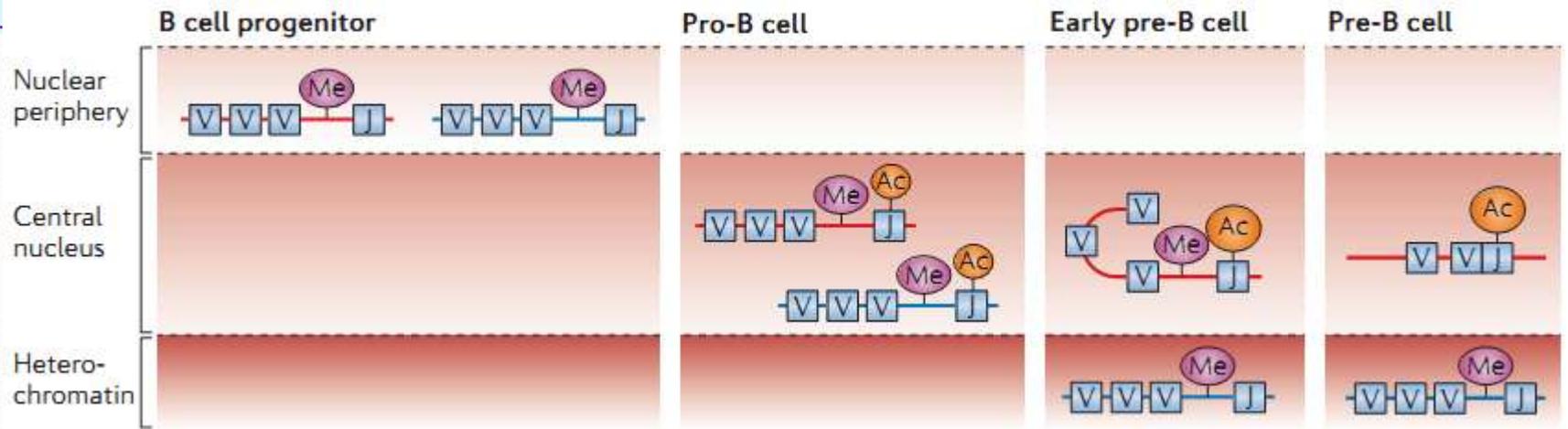


Modificaciones de las histonas

- Acetilación: accesibilidad a la cromatina



- I



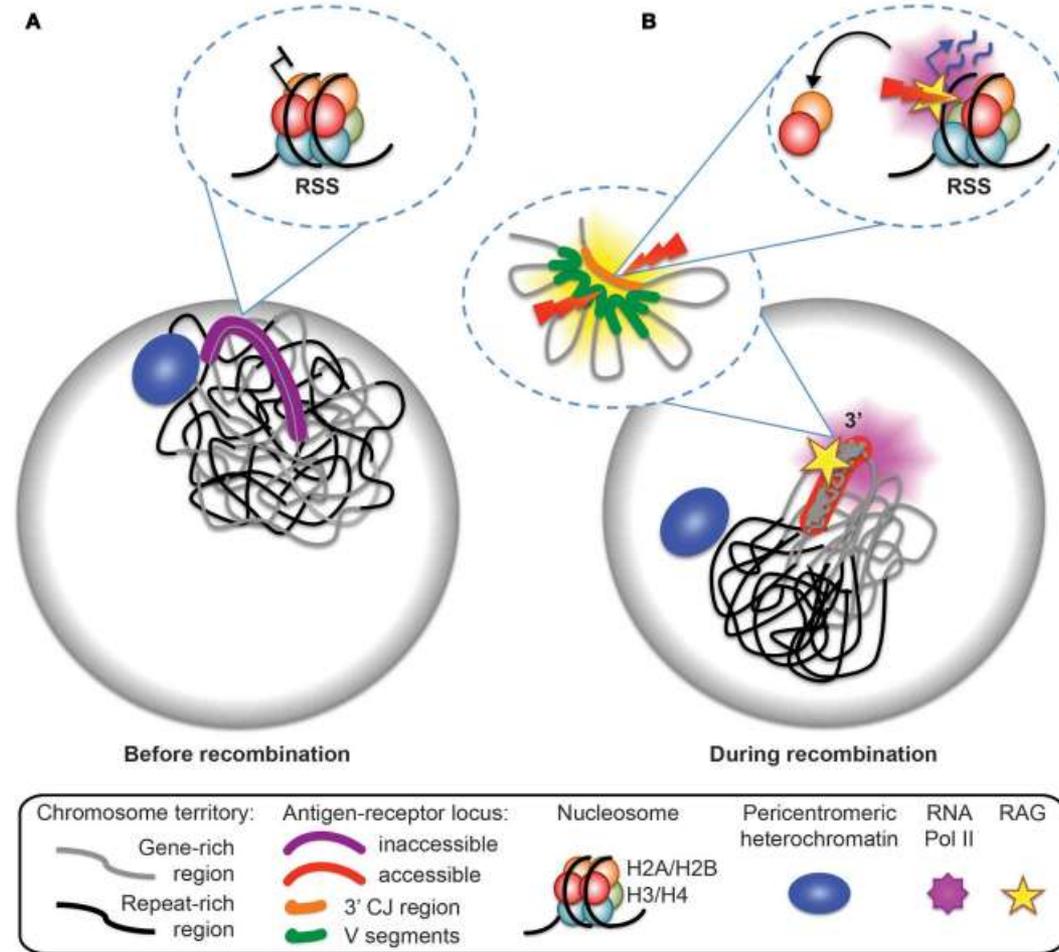
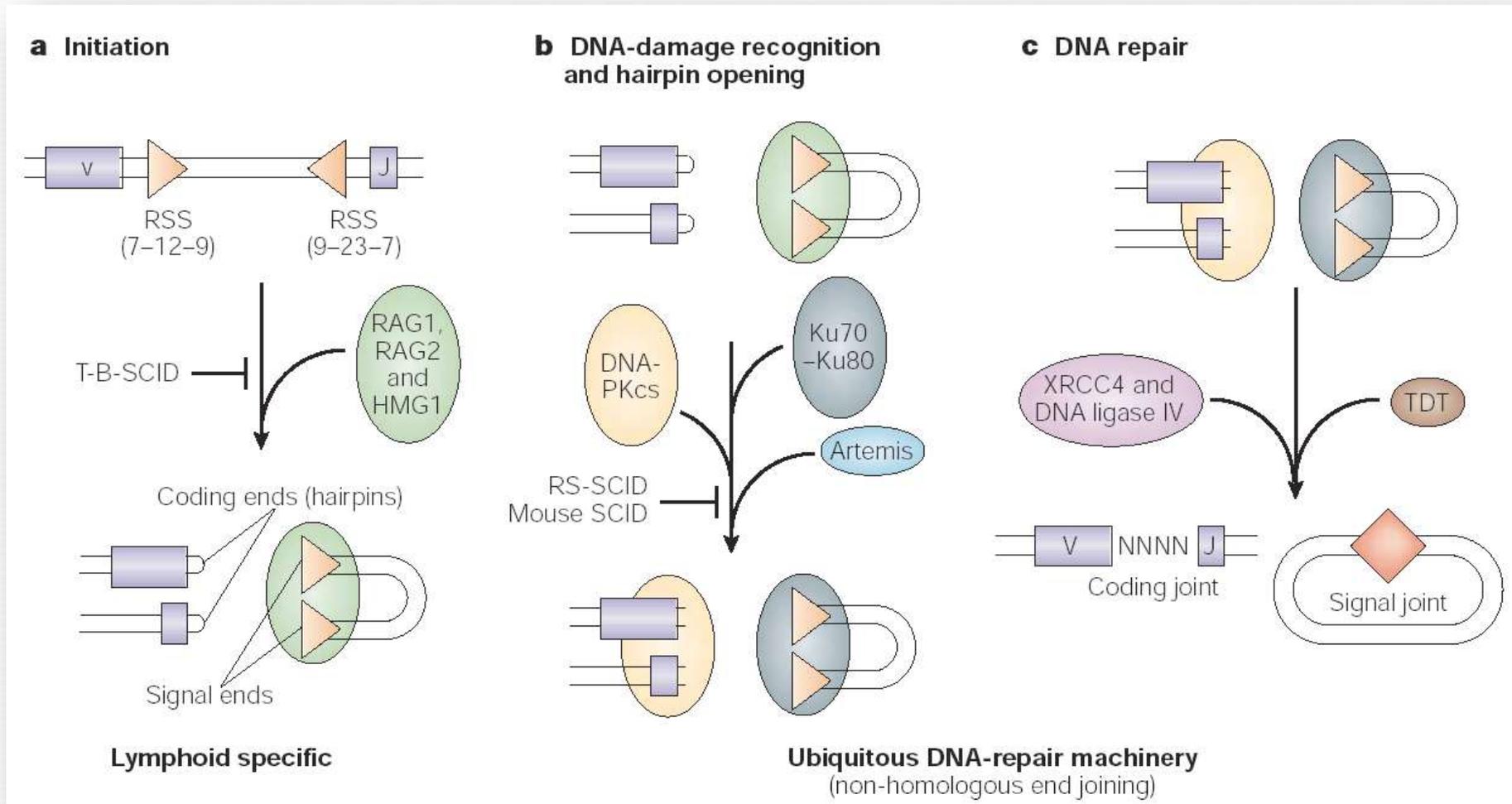


FIGURE 5 | Model for antigen-receptor locus accessibility to the RAG complex at the time of recombination. (A) In non-recombining cells, the antigen-receptor locus is inactive, decontracted, and stays within its chromosome territory. It is located at the nuclear periphery or close to pericentromeric heterochromatin (PCH). **(B)** At the time of recombination, the antigen-receptor locus leaves the vicinity of the

nuclear periphery or PCH, becomes contracted (forming internal loops), loops out from the repeat-rich core of the chromosome territory, and becomes accessible to the RAG machinery. Transcription dependent eviction of H2A/H2B dimers from the nucleosomes and the formation of hexamers provides a mechanism for RAG access at recombination signal sequences (RSS).

TdT añade nucleótidos a la unión V-D y D-J favoreciendo aun mas la diversidad (incrementa la diversidad de CDR3) o pérdida de nucleótidos

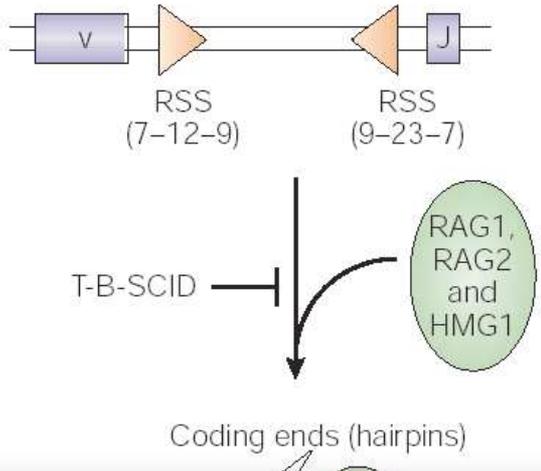
Ontogenia: REORDENAMIENTO DEL TCR Y BCR



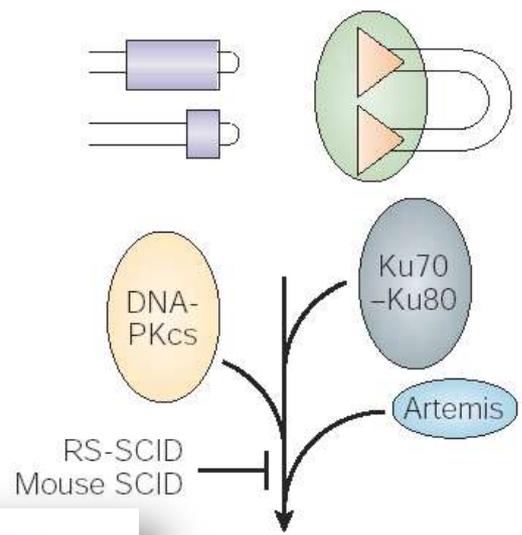
TdT añade nucleótidos a la unión V-D y D-J favoreciendo aun mas la diversidad (incrementa la diversidad de CDR3) o pérdida de nucleótidos

Ontogenia: REORDENAMIENTO DEL TCR Y BCR

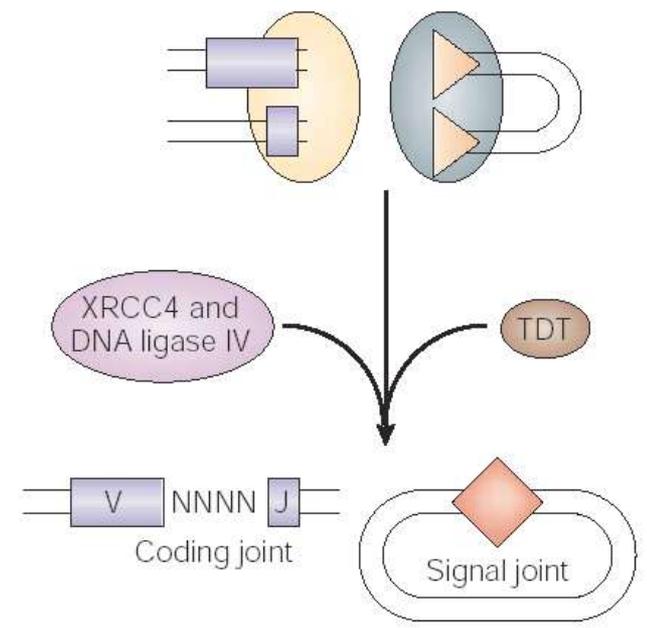
a Initiation



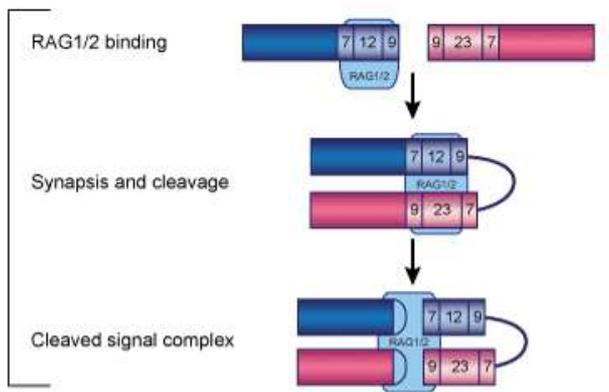
b DNA-damage recognition and hairpin opening



c DNA repair



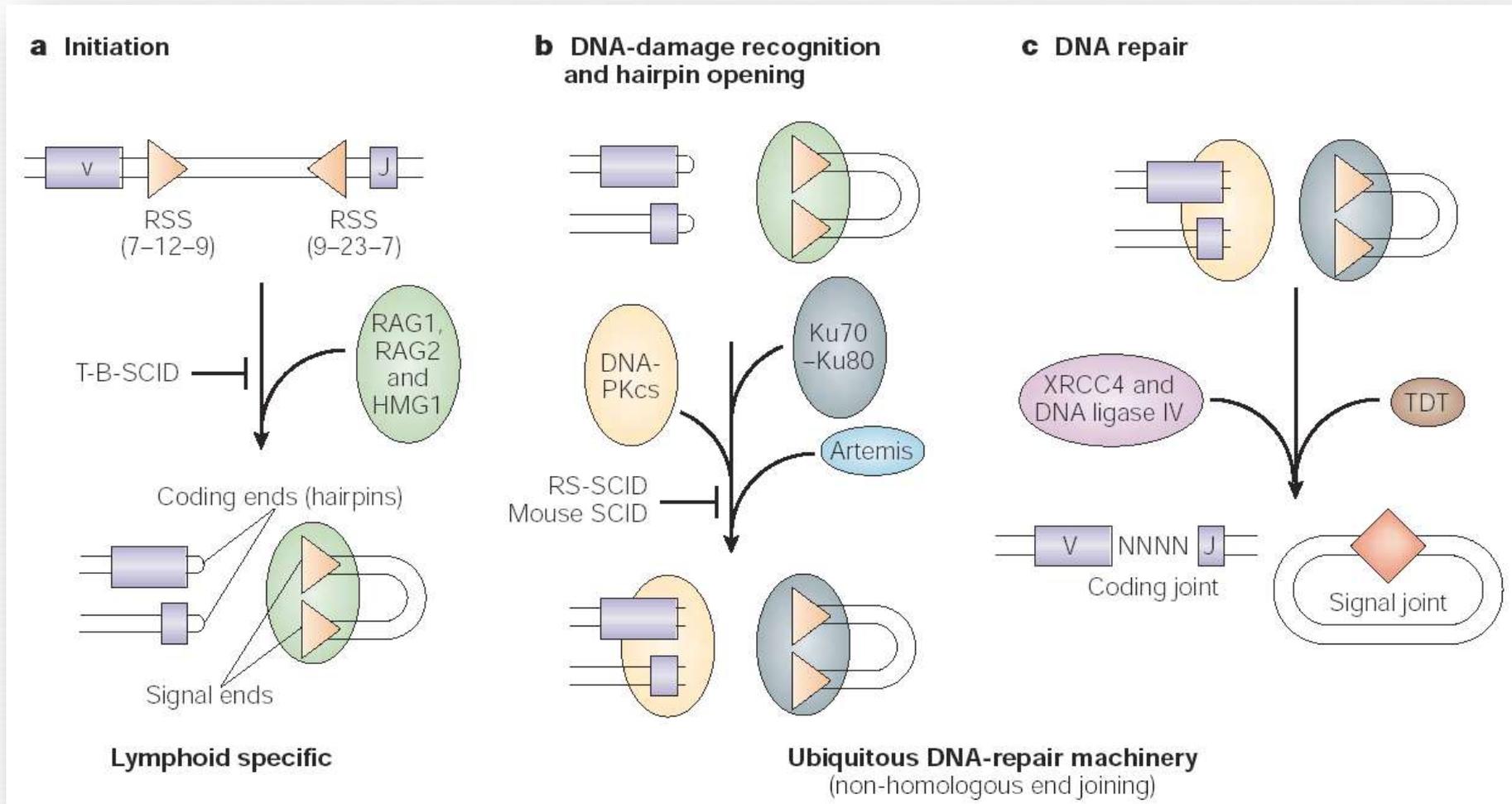
Phase 1



Ubiquitous DNA-repair machinery
(non-homologous end joining)

TdT añade nucleótidos a la unión V-D y D-J favoreciendo aun mas la diversidad (incrementa la diversidad de CDR3) o pérdida de nucleótidos

Ontogenia: REORDENAMIENTO DEL TCR Y BCR



TdT añade nucleótidos a la unión V-D y D-J favoreciendo aun mas la diversidad (incrementa la diversidad de CDR3) o pérdida de nucleótidos

Ontogenia: REORDENAMIENTO DEL TCR Y BCR

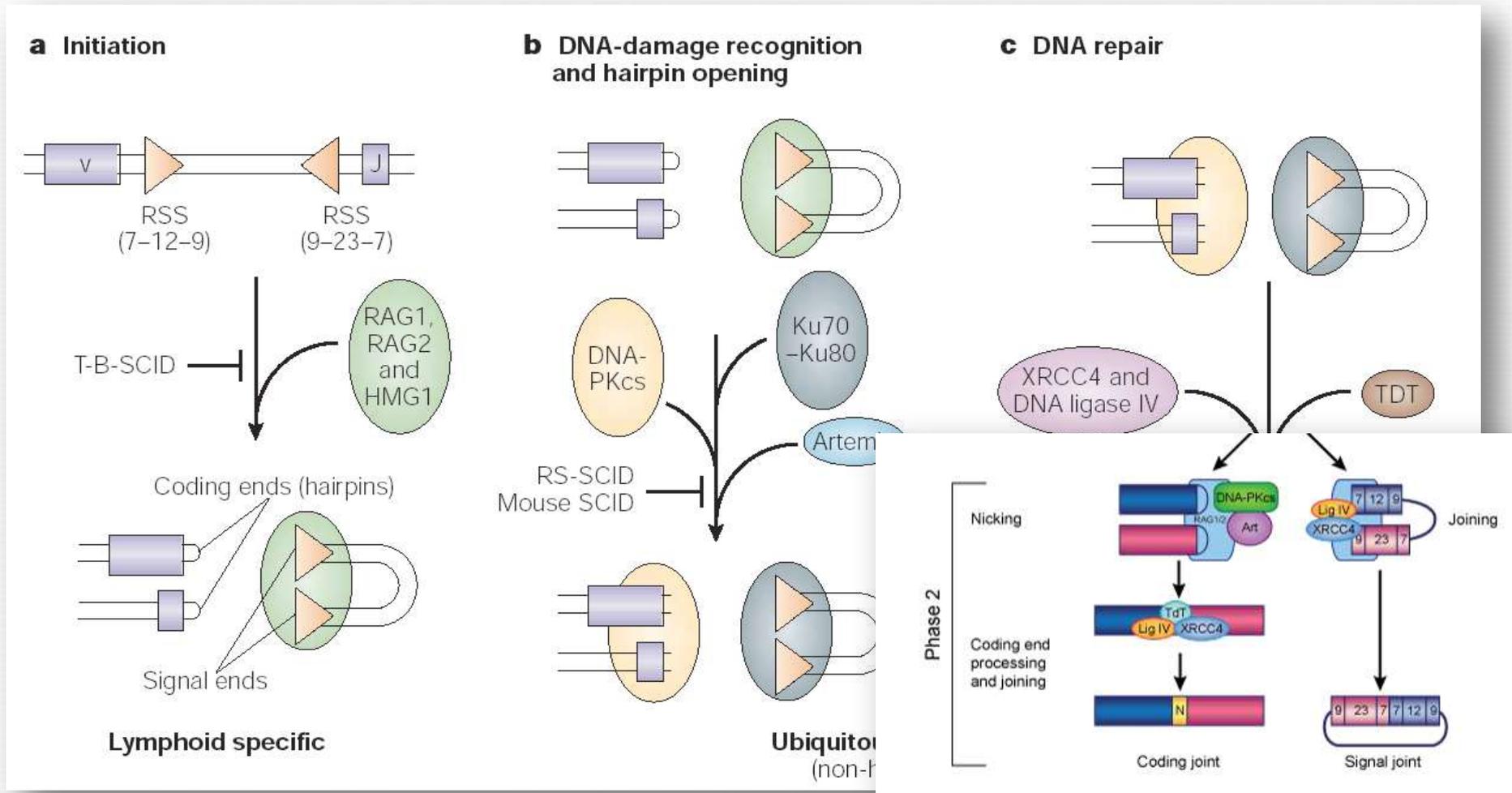


Figure 5. V(D)J Recombination. The two DNA coding segments to be joined are shown as dark blue and pink rectangles.

TdT añade nucleótidos a la unión V-D y D-J favoreciendo aun mas la diversidad (incrementa la diversidad de CDR3) o pérdida de nucleótidos

Ontogenia: REORDENAMIENTO DEL TCR Y BCR

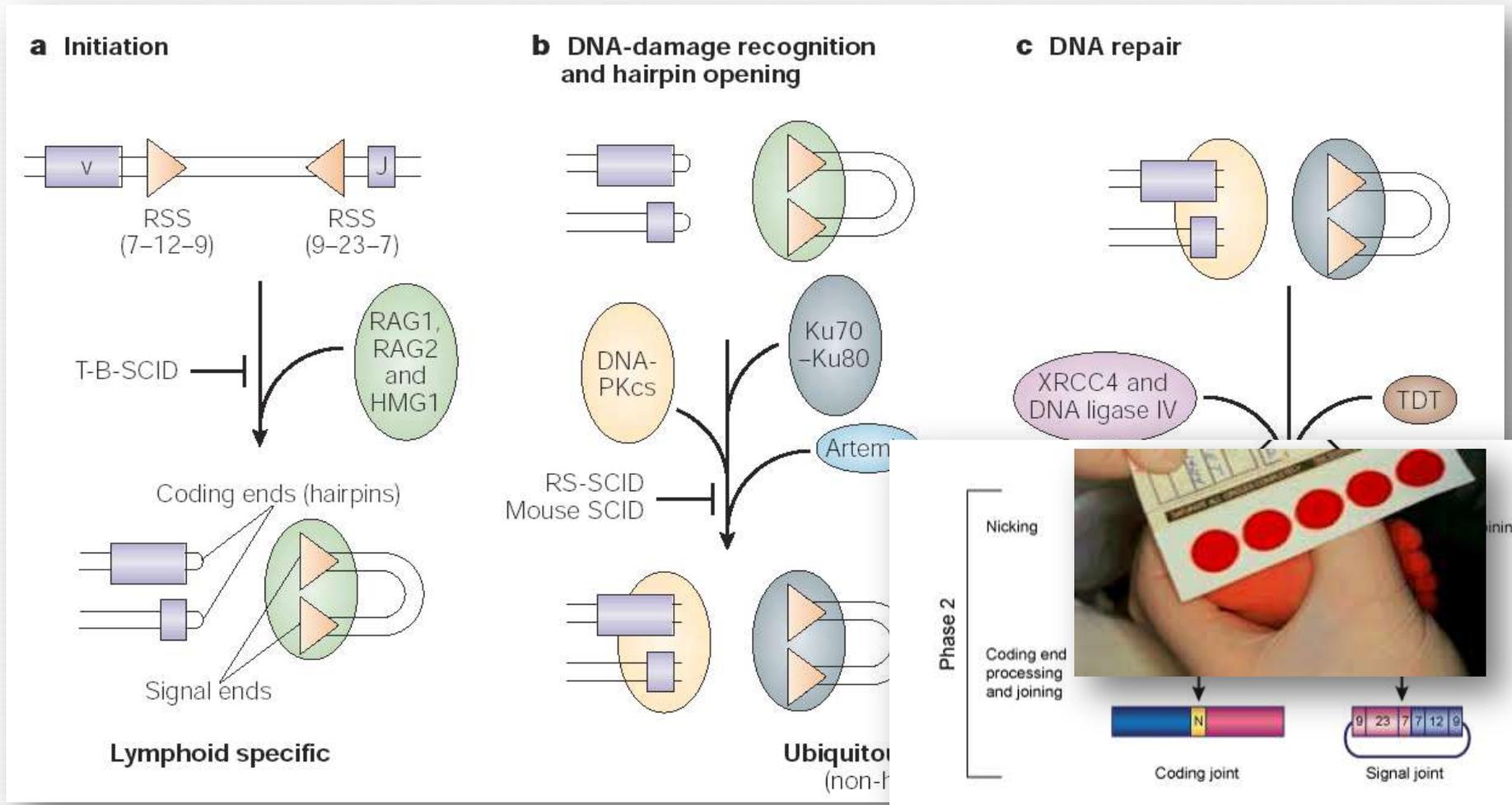
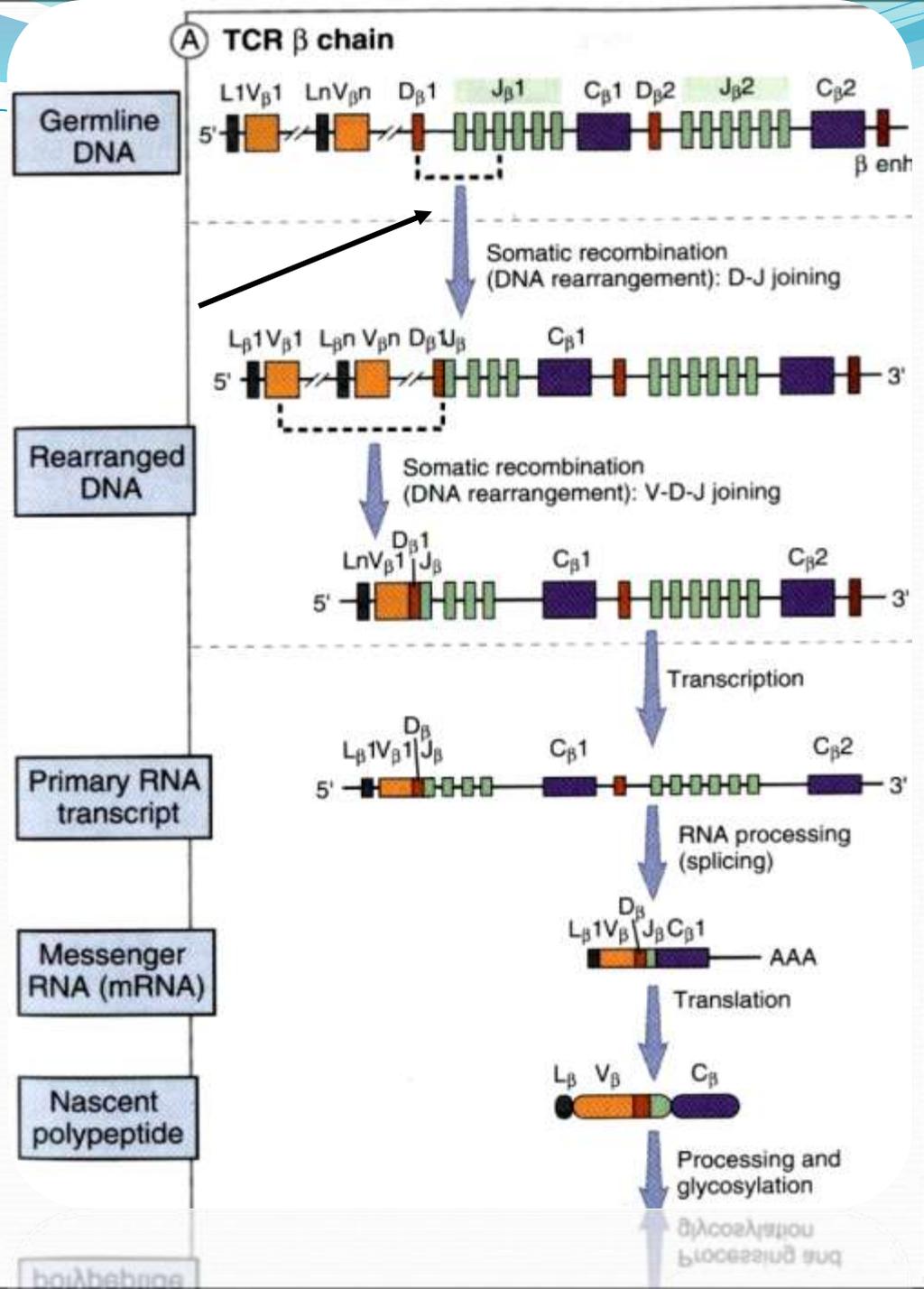


Figure 5. V(D)J Recombination. The two DNA coding segments to be joined are shown as dark blue and pink rectangles.

Reordenamiento de los genes que codifican para la cadena β

Dos alelos: el reordenamiento exitoso de uno de ellos inhibe el reordenamiento del otro: **EXCLUSIÓN ALÉLICA**

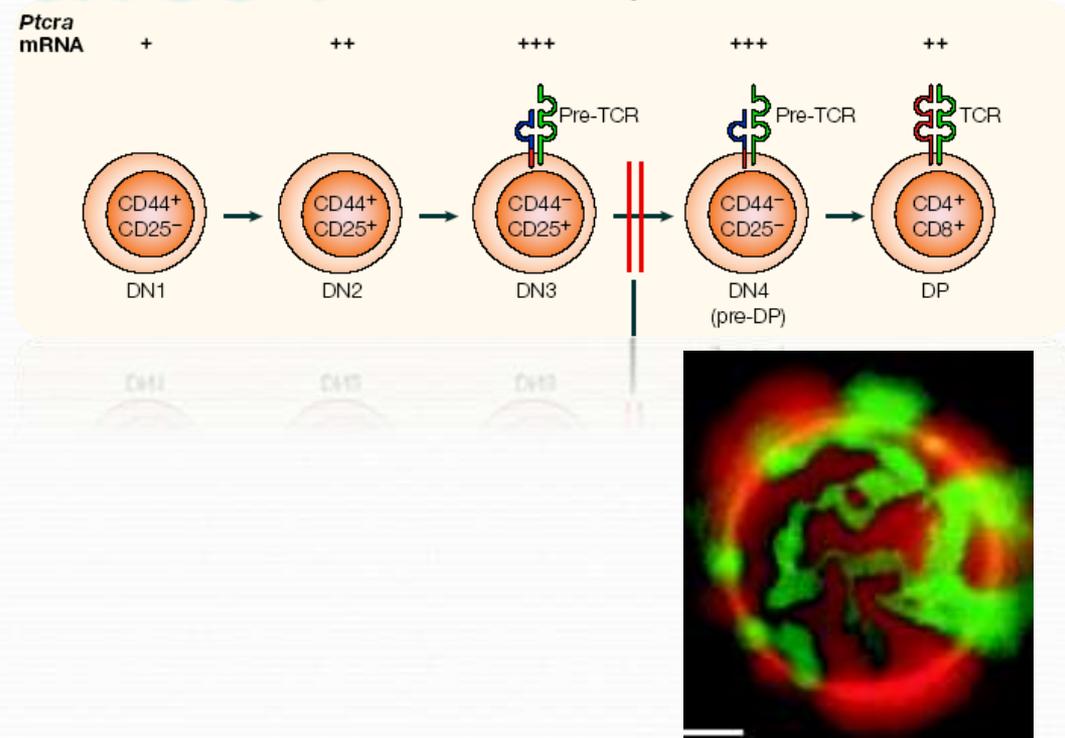


Ontogenia: LINFOCITOS T

preTCR (cadena β recién reordenada + pTa (cadena alfa temporal o sustituta)) = Punto de control:

- Es expresado seguido al reordenamiento exitoso de TCR β .
- Media señales debido a su localización constitutiva en microdominios de membrana ("rafts lipídicos"):

- Fosforilación y degradación de recombinasas (*RAG1* y *2*), asegura que no ocurra más reordenamiento de β (*exclusión alélica*)
- Favorece reordenamiento de la cadena α
- Proliferación y da paso a timocitos Doble Positivos (co-expresión de CD4 y CD8)



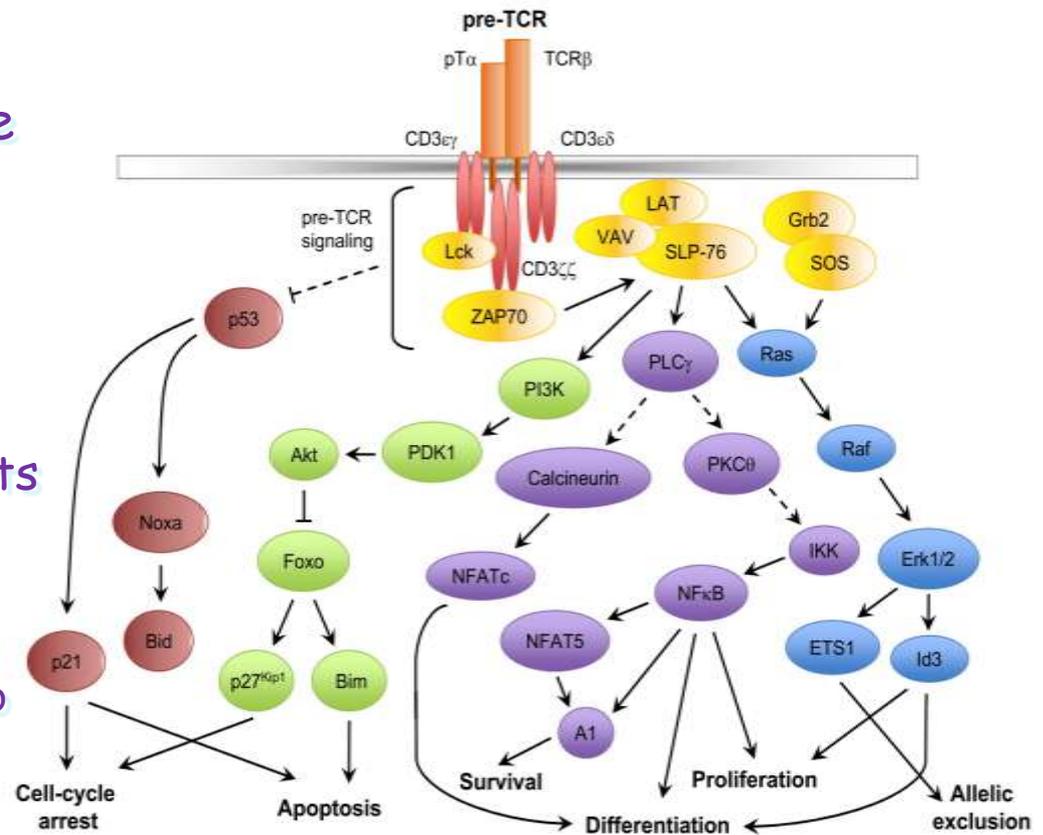
Ontogenia: LINFOCITOS T

Ptcr mRNA + ++ +++ +++ ++

preTCR (cadena β recién reordenada + pTa (cadena alfa temporal o sustituta)) = Punto de control:

- Es expresado seguido al reordenamiento exitoso de TCR β .
- Media señales debido a su localización constitutiva en microdominios de membrana ("rafts lipídicos"):

- Fosforilación y degradación de recombinasas (*RAG1* y *2*), asegura que no ocurra más reordenamiento de β (*exclusión alélica*)
- Favorece reordenamiento de la cadena α
- Proliferación y da paso a timocitos Doble Positivos (co-expresión de CD4 y CD8)



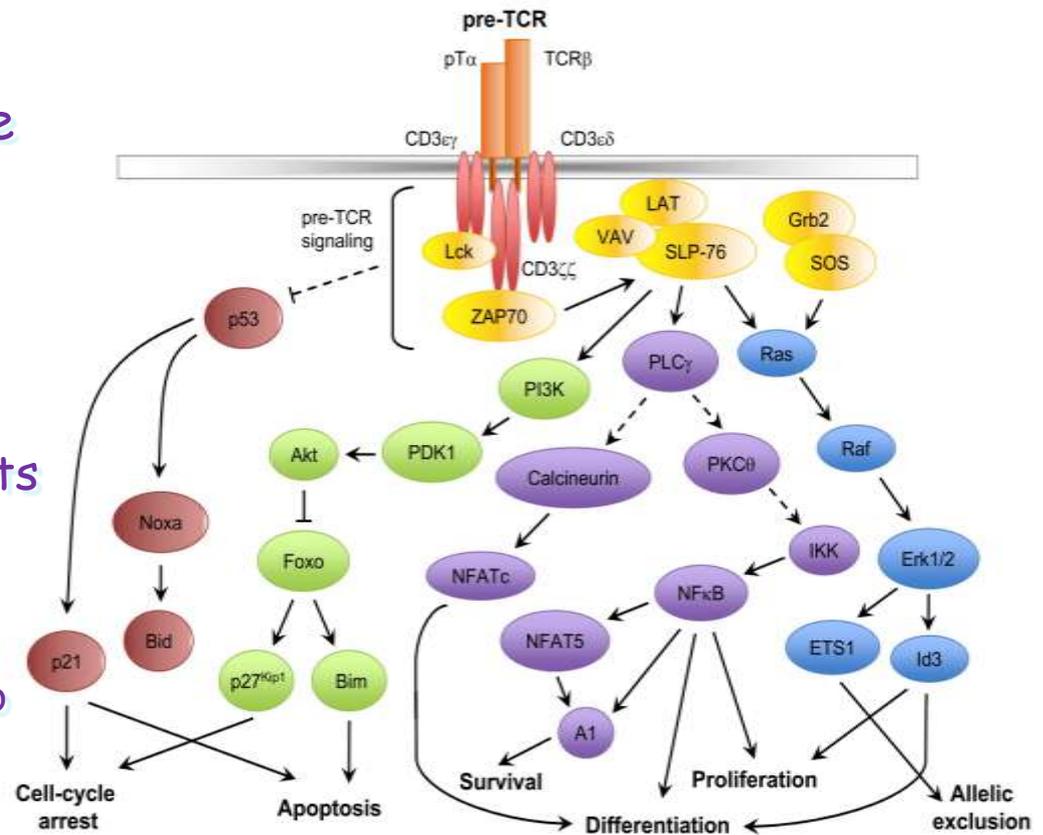
Ontogenia: LINFOCITOS T

Ptcr mRNA + ++ +++ +++ ++

preTCR (cadena β recién reordenada + pTa (cadena alfa temporal o sustituta)) = Punto de control:

- Es expresado seguido al reordenamiento exitoso de TCR β .
- Media señales debido a su localización constitutiva en microdominios de membrana ("rafts lipídicos"):

- Fosforilación y degradación de recombinasas (*RAG1* y *2*), asegura que no ocurra más reordenamiento de β (*exclusión alélica*)
- Favorece reordenamiento de la cadena α
- Proliferación y da paso a timocitos Doble Positivos (co-expresión de CD4 y CD8)



Durante esta etapa desarrollo se ha descrito división células asimétrica (DN3a)

Current Opinion in Immunology 2016, 39:143-149

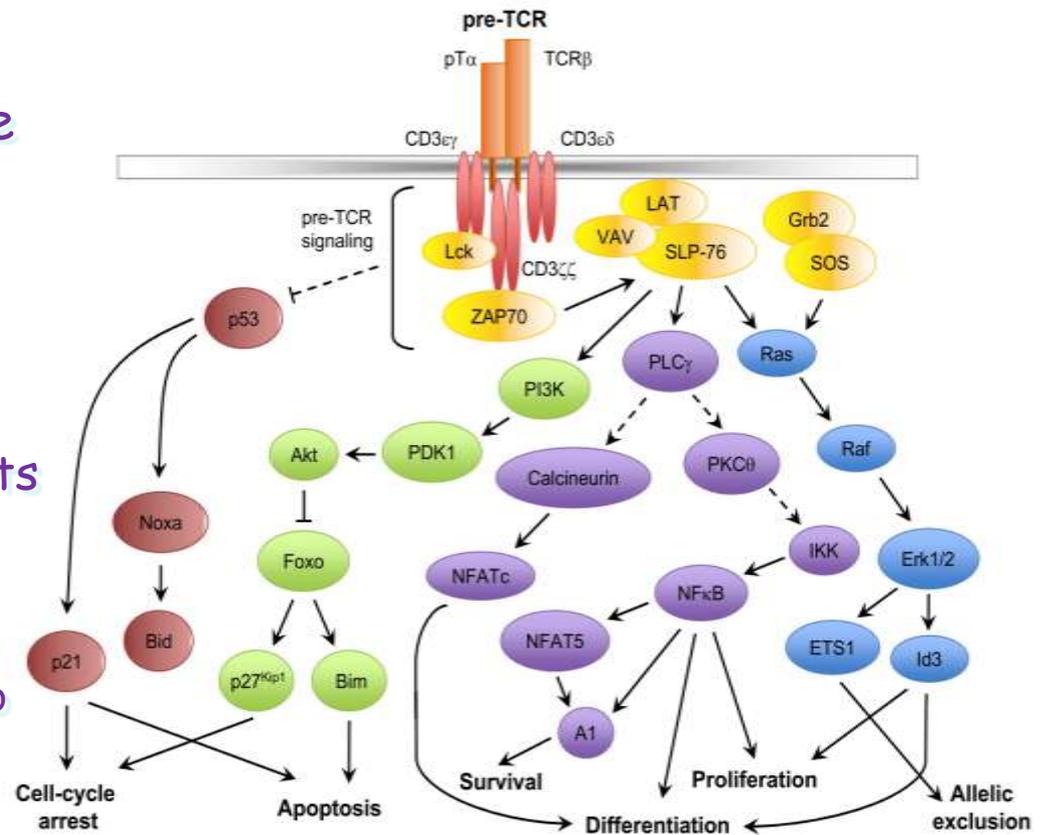
Ontogenia: LINFOCITOS T

Ptcr mRNA	+	++	+++	+++	++
-----------	---	----	-----	-----	----

preTCR (cadena β recién reordenada + pTa (cadena alfa temporal o sustituta)) = Punto de control:

- Es expresado seguido al reordenamiento exitoso de TCR β .
- Media señales debido a su localización constitutiva en microdominios de membrana ("rafts lipídicos"):

- Fosforilación y degradación de recombinasas (*RAG1* y *2*), asegura que no ocurra más reordenamiento de β (*exclusión alélica*)
- Favorece reordenamiento de la cadena α
- Proliferación y da paso a timocitos Doble Positivos (co-expresión de CD4 y CD8)



Durante esta etapa desarrollo se ha descrito división células asimétrica (DN3a)

Current Opinion in Immunology 2016, 39:143-149

Pre-TCR se asocia con moléculas de señalización del TCR definitivo (CD3c, CD3d, CD3e y CD3f) Cell. Mol. Life Sci. (2015) 72:2305-2321

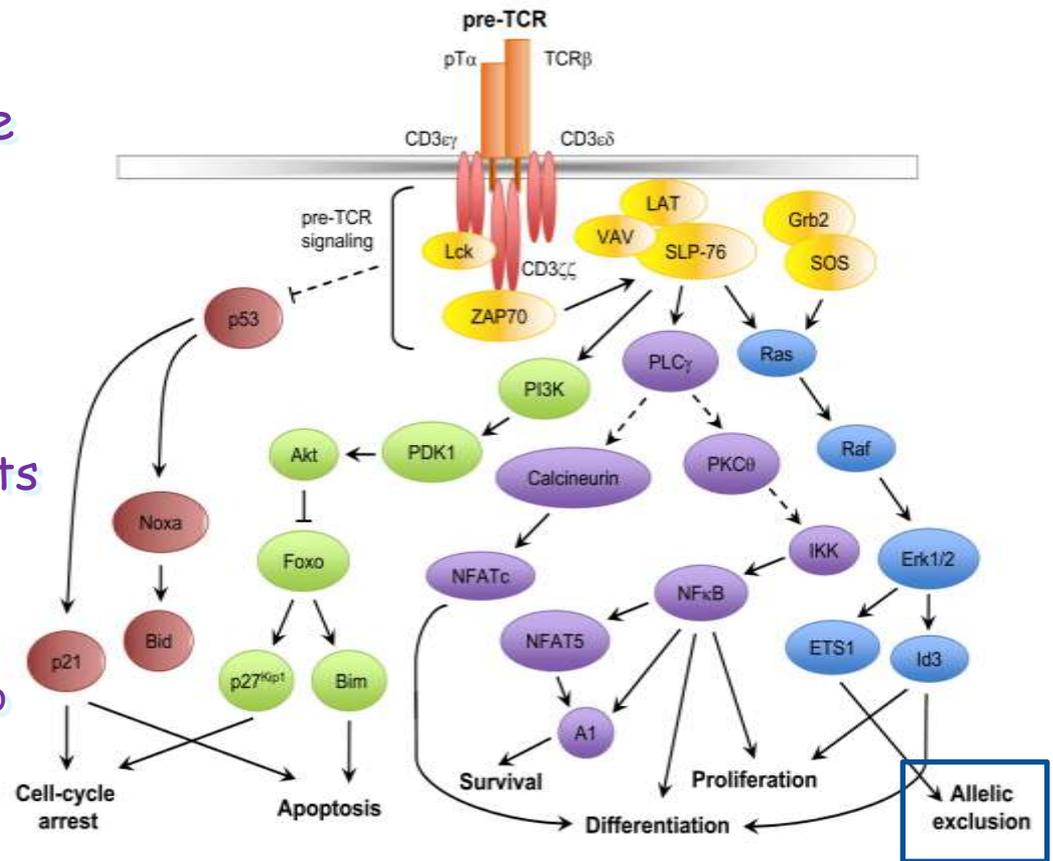
Ontogenia: LINFOCITOS T

Ptcr mRNA + ++ +++ +++ ++

preTCR (cadena β recién reordenada + pTa (cadena alfa temporal o sustituta)) = Punto de control:

- Es expresado seguido al reordenamiento exitoso de TCR β .
- Media señales debido a su localización constitutiva en microdominios de membrana ("rafts lipídicos"):

- Fosforilación y degradación de recombinasas (*RAG1* y *2*), asegura que no ocurra más reordenamiento de β (*exclusión alélica*)
- Favorece reordenamiento de la cadena α
- Proliferación y da paso a timocitos Doble Positivos (co-expresión de CD4 y CD8)



Durante esta etapa desarrollo se ha descrito división células asimétrica (DN3a)

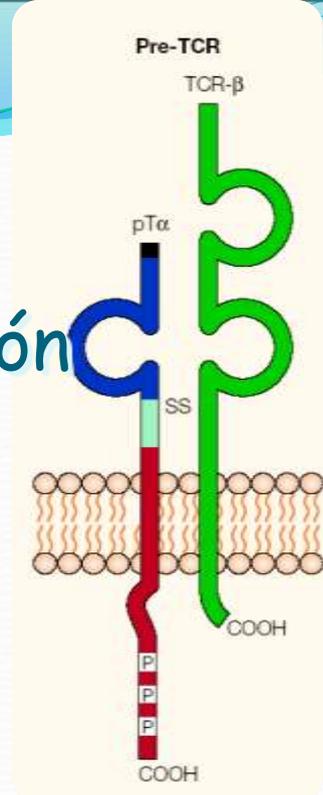
Current Opinion in Immunology 2016, 39:143-149

Pre-TCR se asocia con moléculas de señalización del TCR definitivo (CD3c, CD3d, CD3e y CD3f) Cell. Mol. Life Sci. (2015) 72:2305-2321

Ontogenia de Linfocitos T

Pre-T: expresión de la cadena β y formación de pre-TCR

La expresión del pre-TCR determina (cadena β + pT α): reordenamiento de la **cadena α** del TCR (receptor del linfocito T) Doble negativos (DN= CD4-/CD8-)



Igk



1er alelo

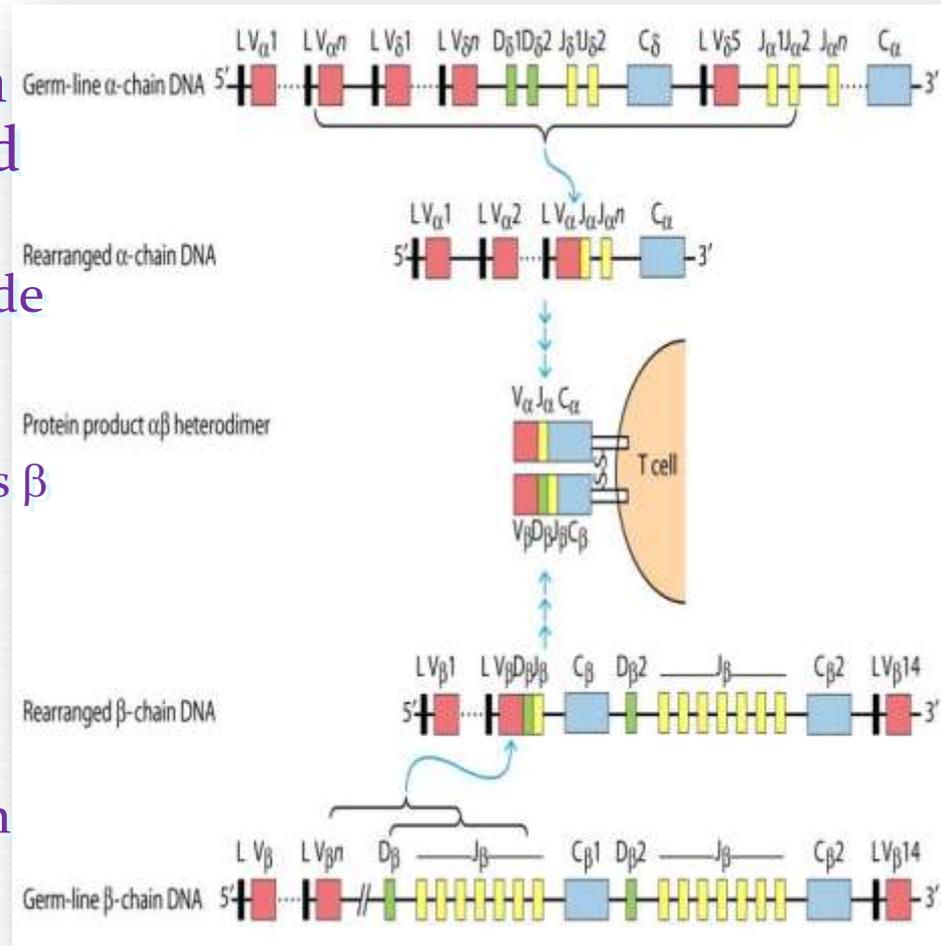
Región variable, diversidad y unión

Región constante

Ontogenia de linfocitos

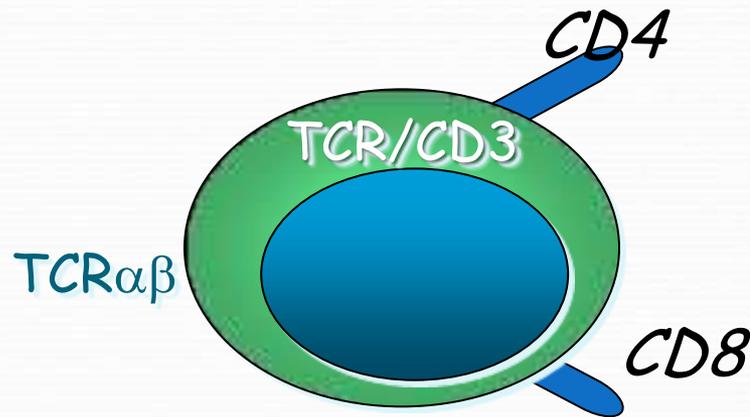
Resumen

- Mecanismos involucrados en la generación de la diversidad (aproximadamente 10^{11})
 - Diversidad en las posibilidades de combinación
 - Familias de genes V, D y J
 - Combinaciones entre las cadenas β y α (en el caso de linfocitos T) o pesadas y livianas (en el caso de linfocitos B)
 - Mediado por las Recombinasas (Rag1 y Rag2)
 - Diversidad en los sitios de unión de los genes mediado por la enzima deoxirribonucleotil transferasa terminal o TdT

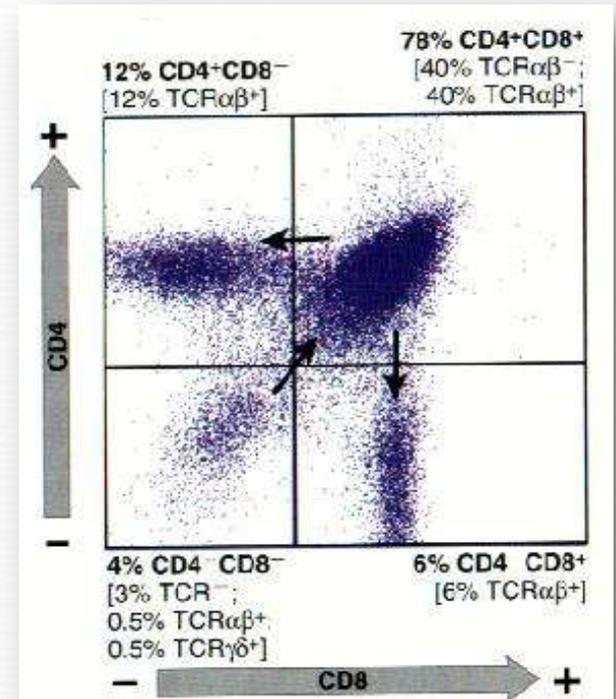


Ontogenia de Linfocitos T

Timocito doble positivo (DP):

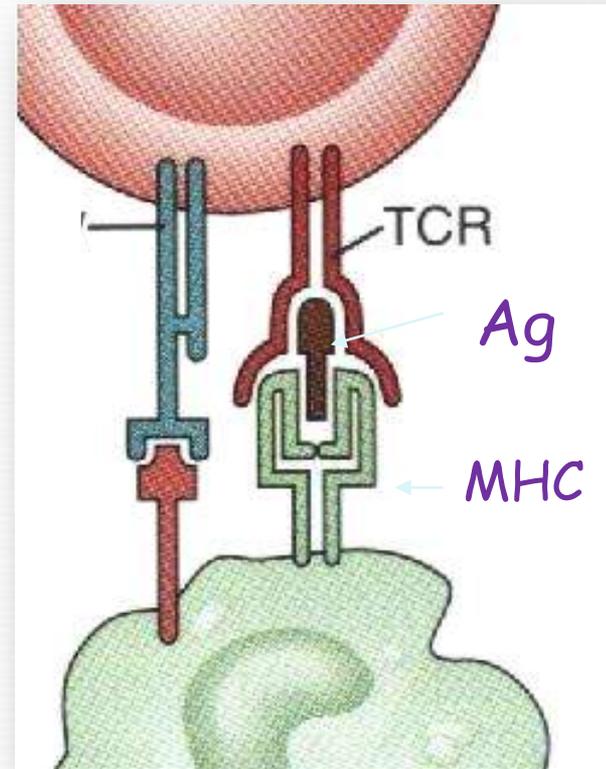


Expresan TCR y además CD4 y CD8 (Doble Positivas) en la superficie: da paso a los mecanismos de selección positiva y negativa y se define el fenotipo



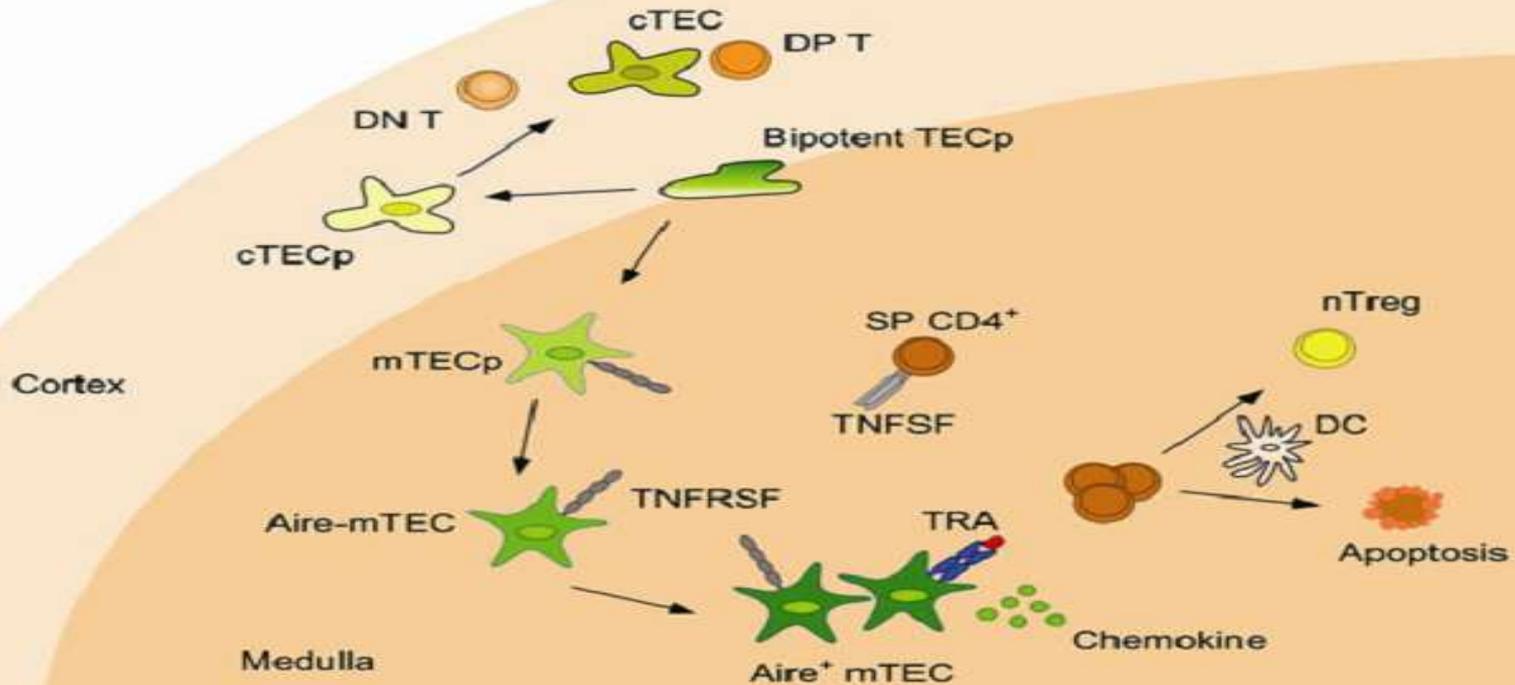
Ontogenia de Linfocitos T

Control de calidad:
Capaz de interactuar
con MHC propia (base
de toda respuesta
inmune) y de esta
manera reconoce los
antígenos presentados



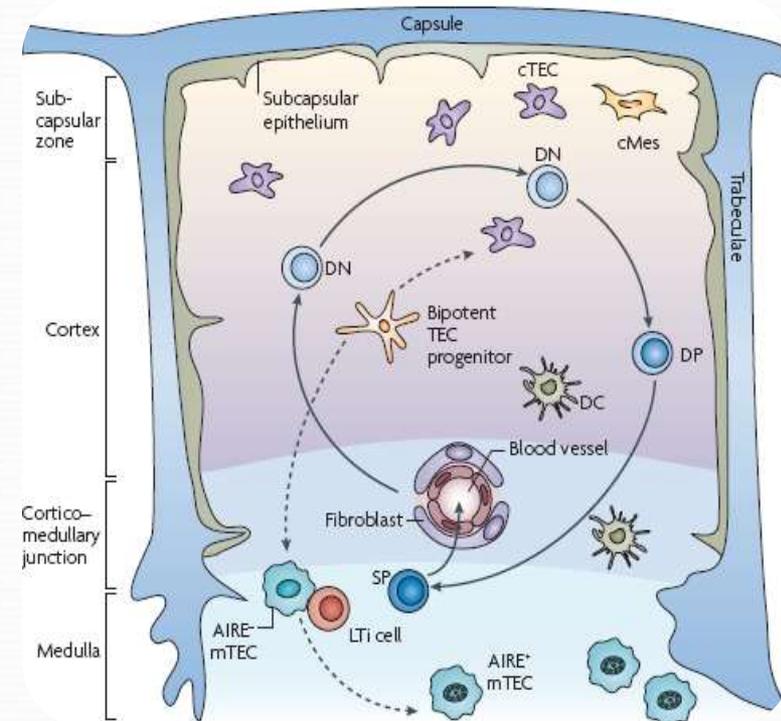
Ontogenia de linfocitos T: CÉLULAS DEL ESTROMA TÍMICO

Shi YY, et al. *Sci China Life Sci* May (2013) Vol.56 No.5



Ontogenia de linfocitos T: CÉLULAS DEL ESTROMA TÍMICO

- Origen: Epitelio endodermal
- Células estromales :
 - Corteza tímica (cEpcs) y mEpcs: expresan perfil de péptidos propios (SPP). Desarrollo depende de **Foxn1**
- La capacidad de mEpcs, para procesar y presentar antígenos es clave en el procesos de desarrollo del repertorio del TCR
 - La diversidad de péptidos propios en el timo reflejarán la diversidad del repertorio de linfocitos T



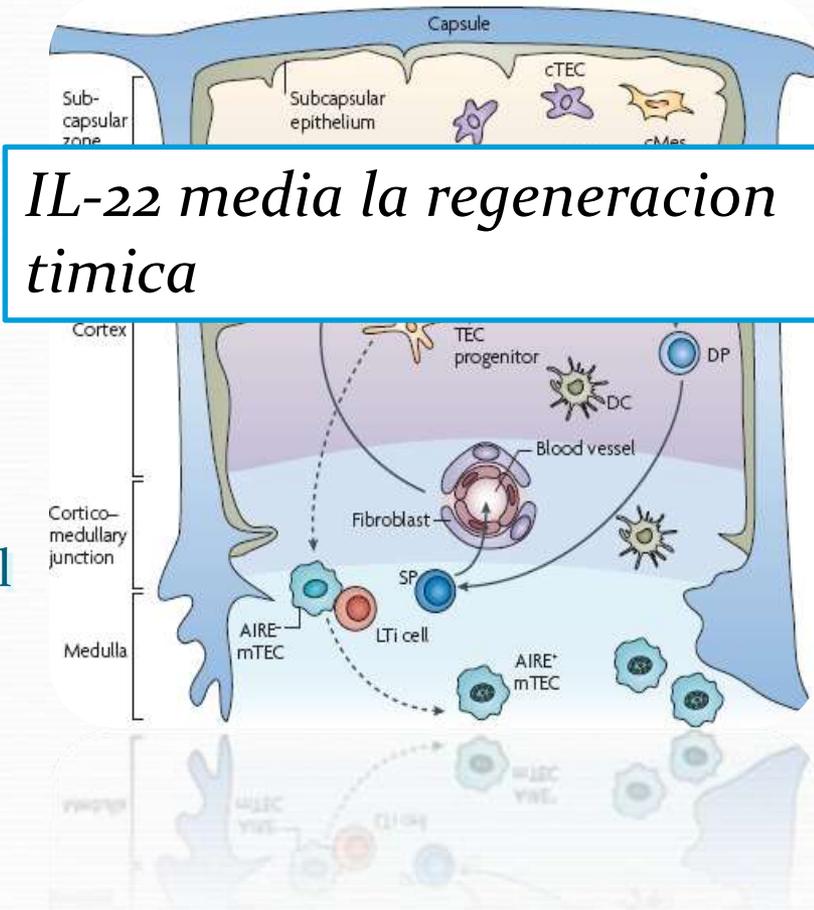
Ontogenia de linfocitos T: CÉLULAS DEL ESTROMA TÍMICO

medular y TEC corticales se originan a partir de una capa de germinal común en la tercera endodermo faríngeo

(SPP). Desarrollo depende de Foxn1

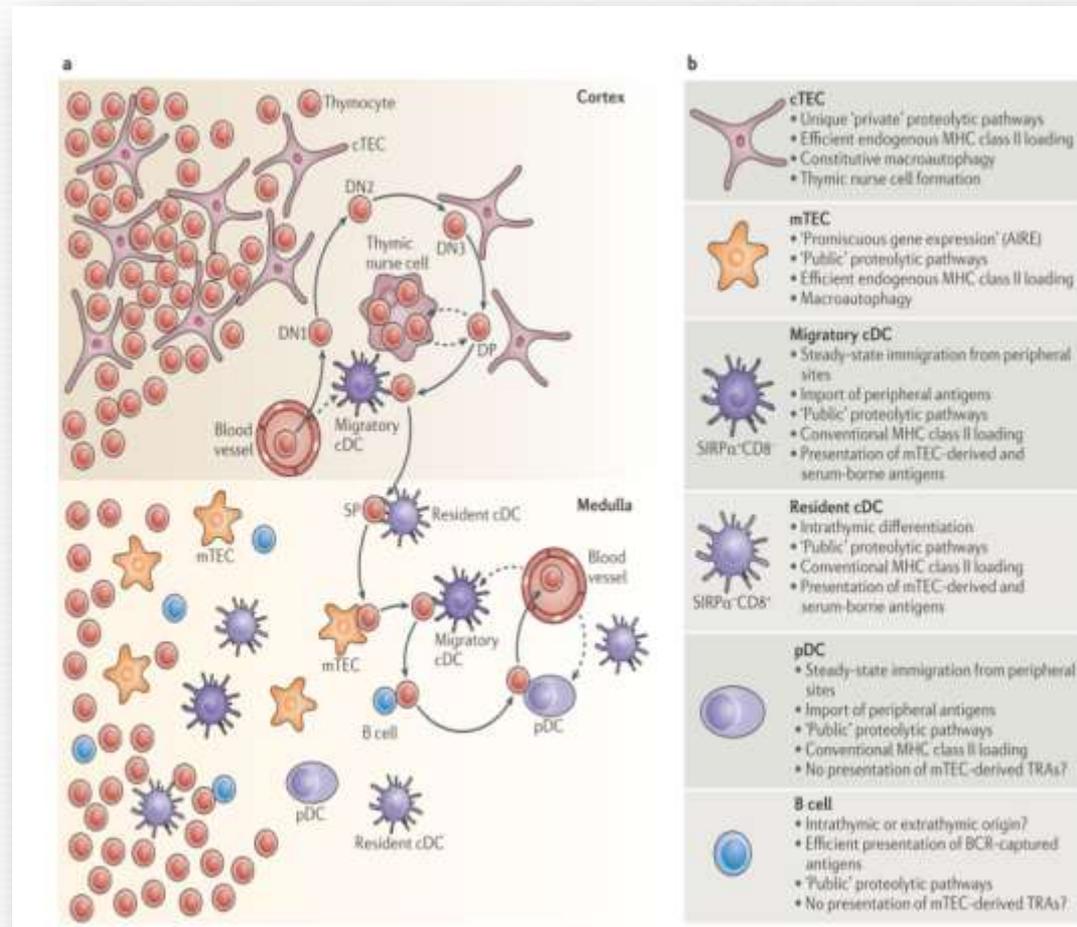
- La capacidad de mEpcs, para procesar y presentar antígenos es

El fenotipo humano de la deficiencia de FOXP1, clave para el desarrollo del epitelio del timo y función, y su recuperación en el trasplante del timo.



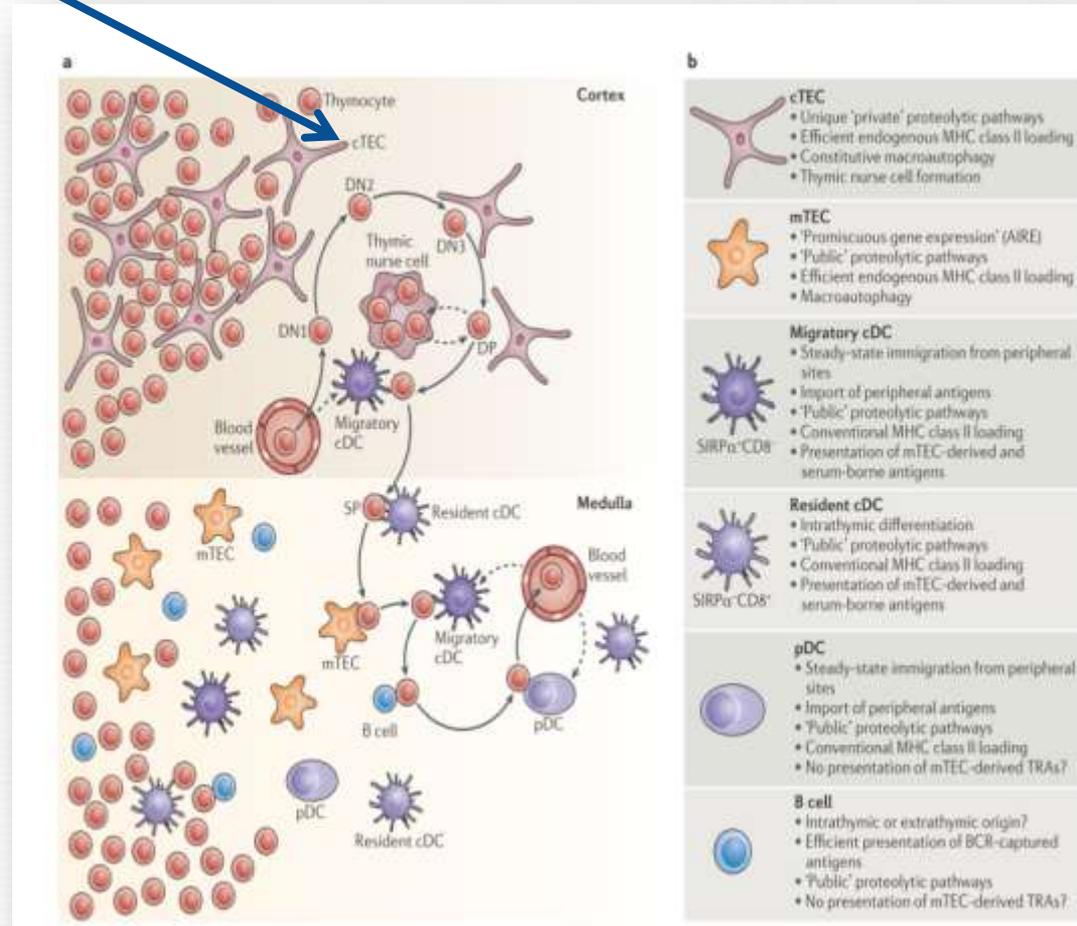
IL-22 media la regeneracion timica

Células epiteliales tímicas corticales



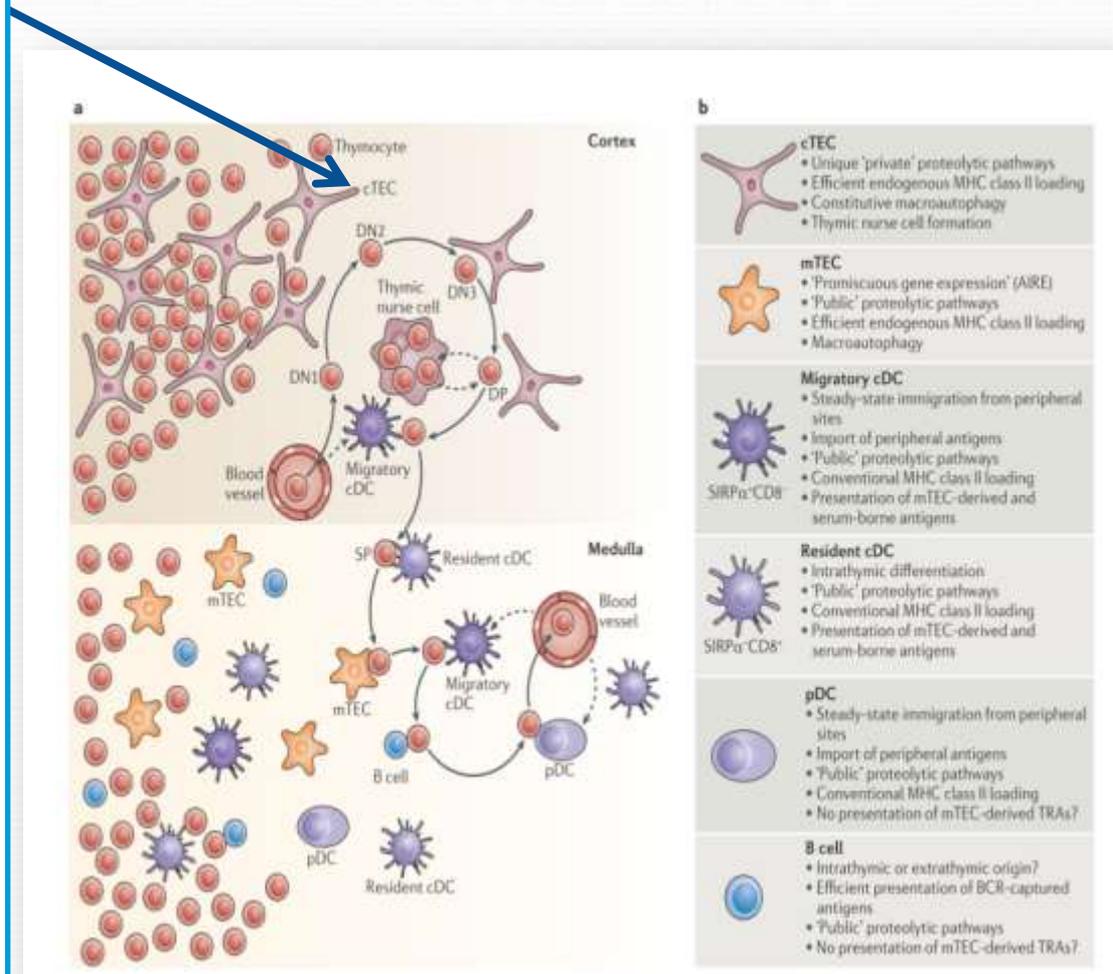
thymic nurse cells
(TNCs): 20
thymocytes

Células epiteliales tímicas corticales



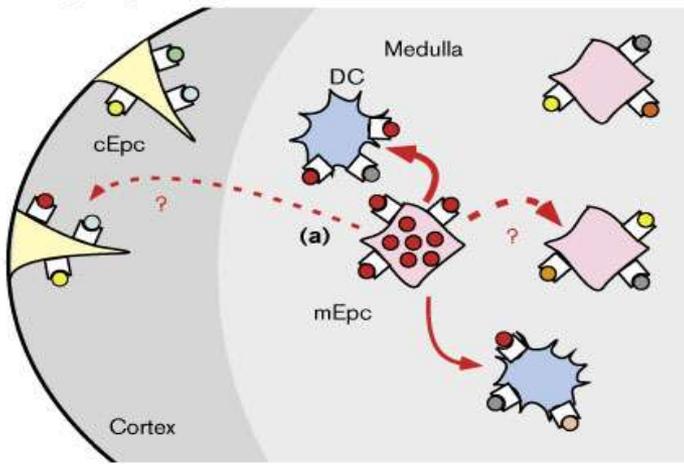
Células epiteliales tímicas corticales

- *cTECs expresan peptide-MHC únicos conocidos como: ligandome (pMHC ligandome)*
- *Proteasomas con $\beta 5t$ denominados 'thymoproteasomes proteasomes, también se conoce como "housekeeping proteasomes' e 'immunoproteasome'*
- *Ratones deficientes de thymoproteasomes, defecto en selección positiva de CD8 + T cells*
- *cTECs expresan lisosoma único: cathepsin L (also known as cathepsin L1) y thymus-specific serine protease (TSSP).*
- *Deficiencia, afecta selección de CD4 + T cells*
- *cTECs alta tasa de macroautofagia*

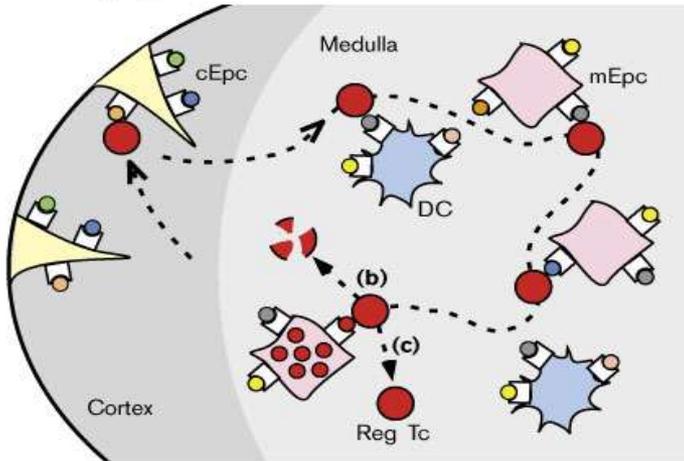


Ontogenia de linfocitos T: CÉLULAS DEL ESTROMA TÍMICO

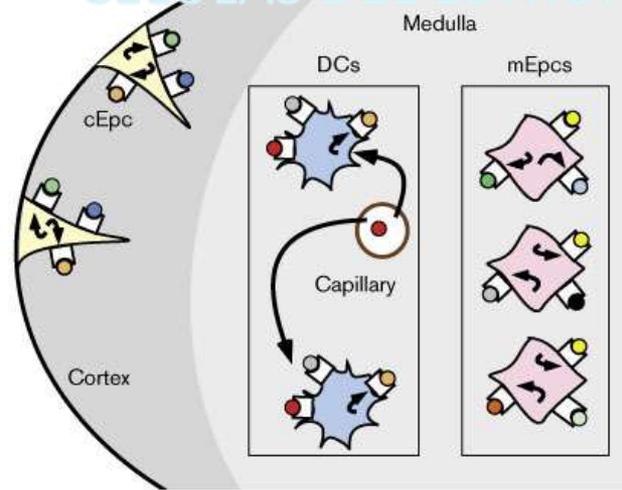
Antigen spreading



Scanning by T cells



Current Opinion in Immunology



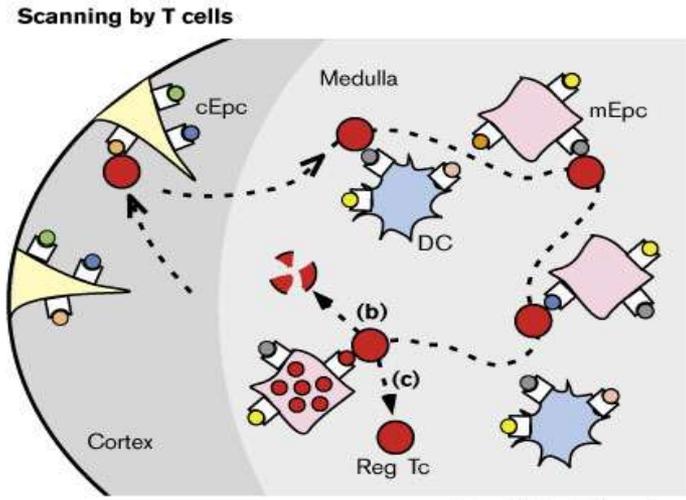
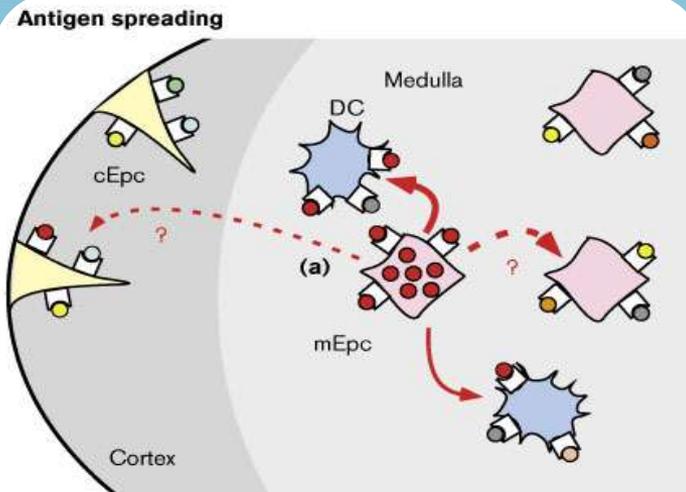
'Hemopoietic self'	'Non-hemopoietic self'
DCs, macrophages, B cells, T cells	Liver, pancreas, skin, muscle, brain, lens

Current Opinion in Immunology

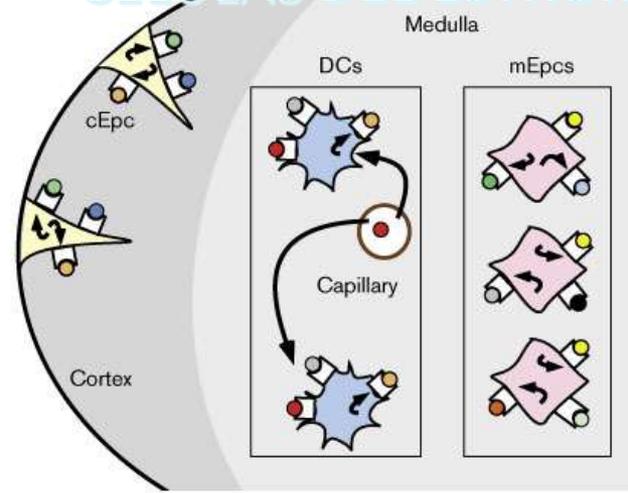
The development of the thymic stroma is essential for the generation of a diverse T cell repertoire. DCs and mEpc are key components of the thymic stroma and play a critical role in the selection of T cells.



Ontogenia de linfocitos T: CÉLULAS DEL ESTROMA TÍMICO



Current Opinion in Immunology



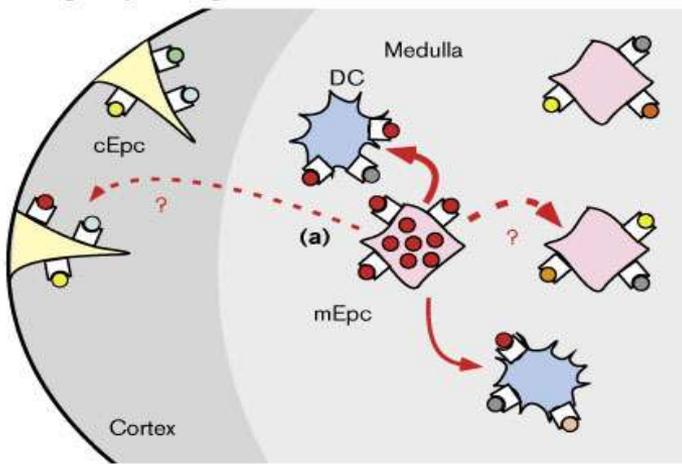
'Hemopoietic self' DCs, macrophages, B cells, T cells
'Non-hemopoietic self' Liver, pancreas, skin, muscle, brain, lens

Current Opinion in Immunology

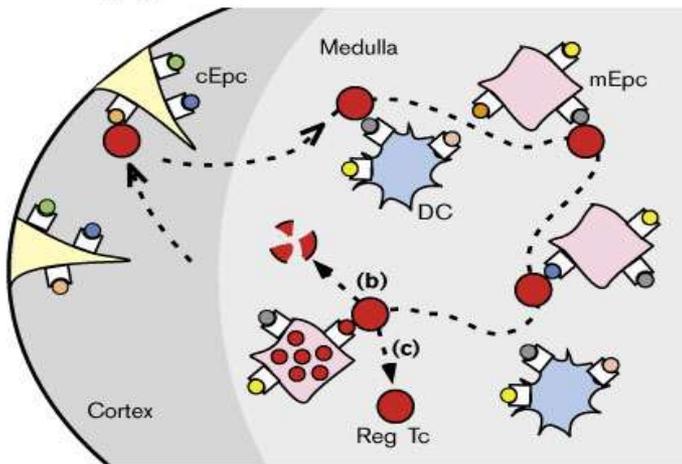
• Tienen la capacidad de expresar diversas proteínas de los tejidos periféricos vía endógena= Mediado por **AIRE** (autoimmune regulator) que es un activador transcripcional expresado en TEC de la medula

Ontogenia de linfocitos T: CÉLULAS DEL ESTROMA TÍMICO

Antigen spreading

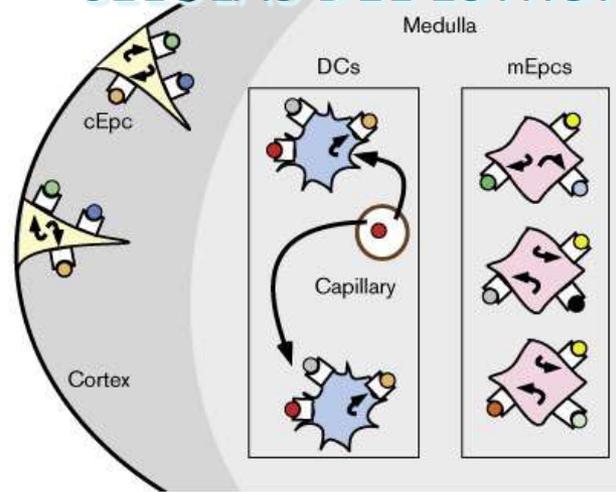


Scanning by T cells



Current Opinion in Immunology

• Tienen la capacidad de expresar diversas proteínas de los tejidos periféricos vía endógena= Mediado por **AIRE** (autoimmune regulator) que es un activador transcripcional expresado en TEC de la medula



'Hemopoietic self' DCs, macrophages, B cells, T cells
'Non-hemopoietic self' Liver, pancreas, skin, muscle, brain, lens

Funciones asociadas a las ETC

Desarrollo de las células DN a DP

La selección positiva regulada por las cEpc

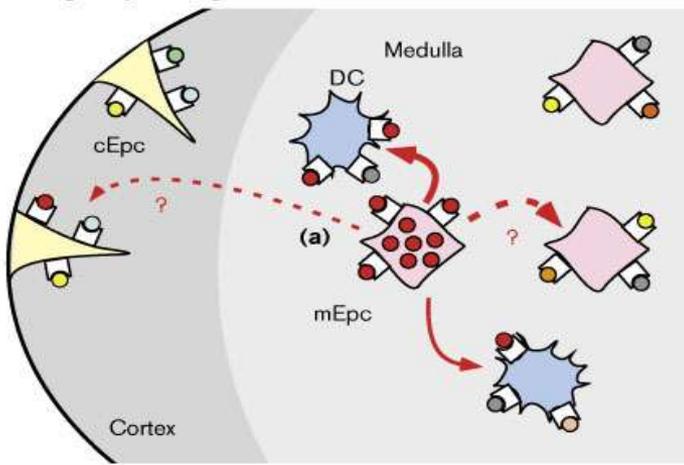
Macroautofagia

Luego migran hacia la región córtico-medular y la médula, maduran a SP

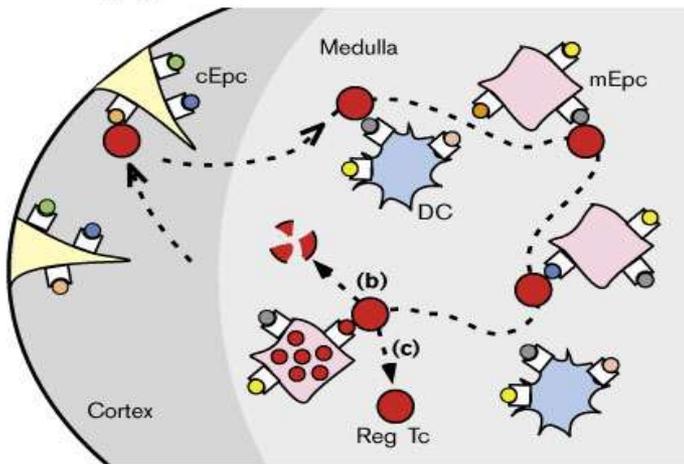
La tolerancia central, es mediada principalmente por las mETC y células dendríticas tímicas residentes del timo

Ontogenia de linfocitos T: CÉLULAS DEL ESTROMA TÍMICO

Antigen spreading

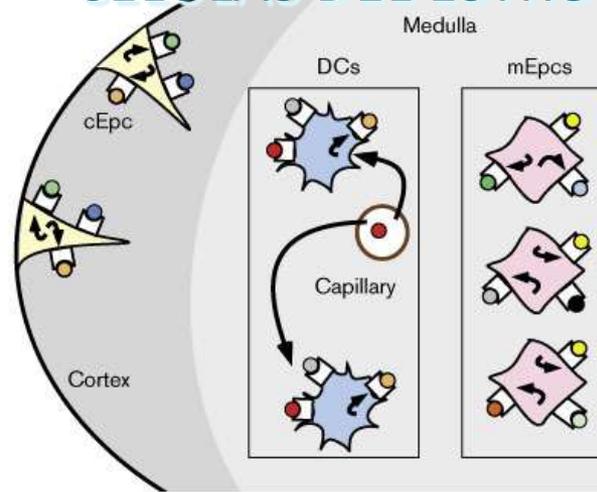


Scanning by T cells



Current Opinion in Immunology

• Tienen la capacidad de expresar diversas proteínas de los tejidos periféricos vía endógena= Mediado por **AIRE** (autoimmune regulator) que es un activador transcripcional expresado en TEC de la medula



'Hemopoietic self' DCs, macrophages, B cells, T cells
'Non-hemopoietic self' Liver, pancreas, skin, muscle, brain, lens

• Las DC expresan bajos niveles de **AIRE** y además tienen la capacidad **transportar Ag propios directamente desde la periferia**

Funciones asociadas a las ETC

Desarrollo de las células DN a DP

La selección positiva regulada por las cEpc

Macroautofagia

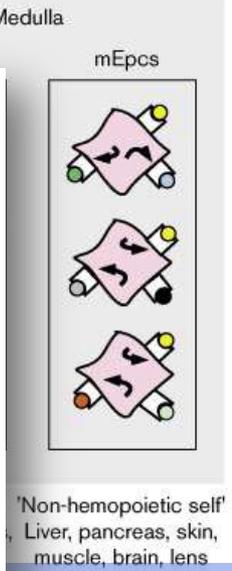
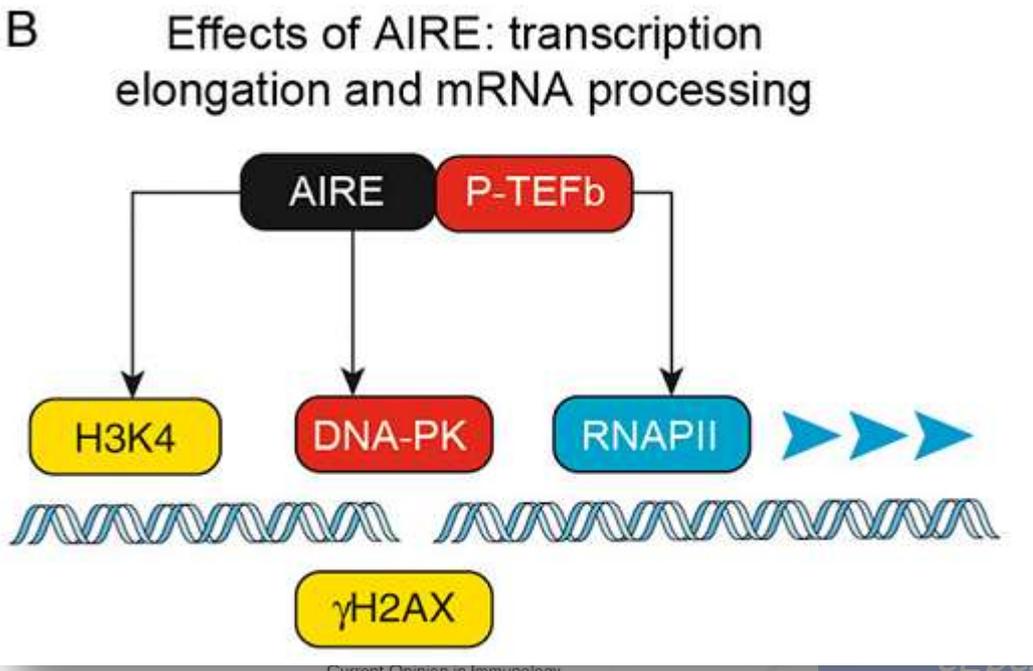
Luego migran hacia la región córtico-medular y la médula, maduran a SP

La tolerancia central, es mediada principalmente por las mETC y células dendríticas tímicas residentes del timo

AIRE es expresado en las mTECs, promueve unión de DNAPk y ARNpolII, al ADN y es un factor de elongación

Genia de linfocitos T: DEL ESTROMA TÍMICO

Las DC expresan bajos niveles de AIRE y además tienen la capacidad transportar Ag propios directamente desde la periferia



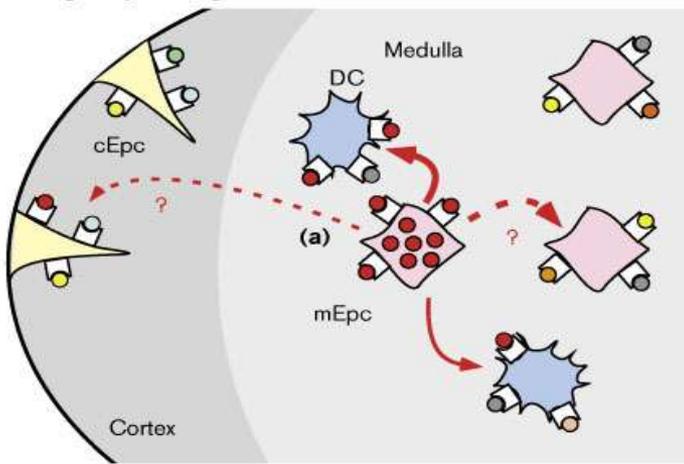
Tienen la capacidad de expresar diversas proteínas de los tejidos periféricos vía endógena= Mediado por **AIRE** (autoimmune regulator) que es un activador transcripcional expresado en TEC de la medula

asociadas a las ETC
rollo de las células DN a DP
lección positiva regulada por las

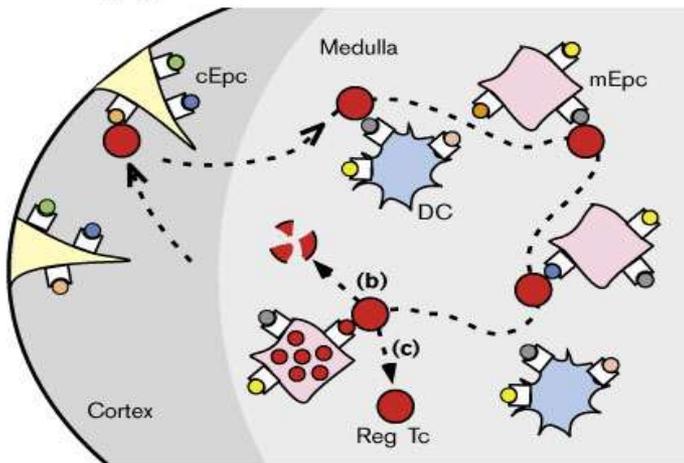
Macroautofagia
Luego migran hacia la región córtico-medular y la médula, maduran a SP
La tolerancia central, es mediada principalmente por las mETC y células dendríticas tímicas residentes del timo

Ontogenia de linfocitos T: CÉLULAS DEL ESTROMA TÍMICO

Antigen spreading

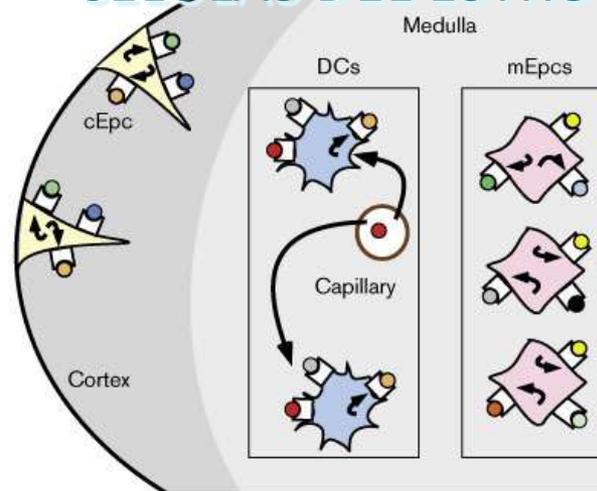


Scanning by T cells



Current Opinion in Immunology

• Tienen la capacidad de expresar diversas proteínas de los tejidos periféricos vía endógena= Mediado por **AIRE** (autoimmune regulator) que es un activador transcripcional expresado en TEC de la medula



'Hemopoietic self' DCs, macrophages, B cells, T cells
'Non-hemopoietic self' Liver, pancreas, skin, muscle, brain, lens

• Las DC expresan bajos niveles de AIRE y además tienen la capacidad transportar Ag propios directamente desde la periferia

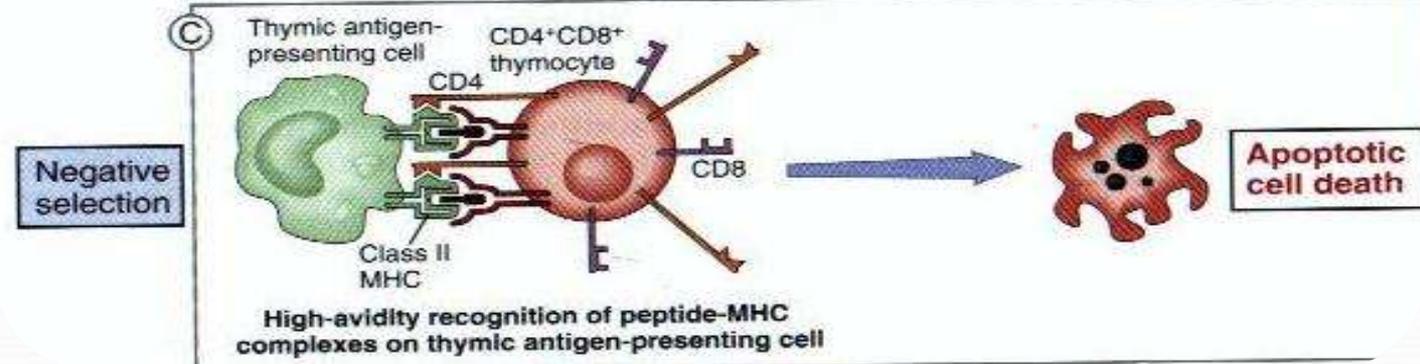
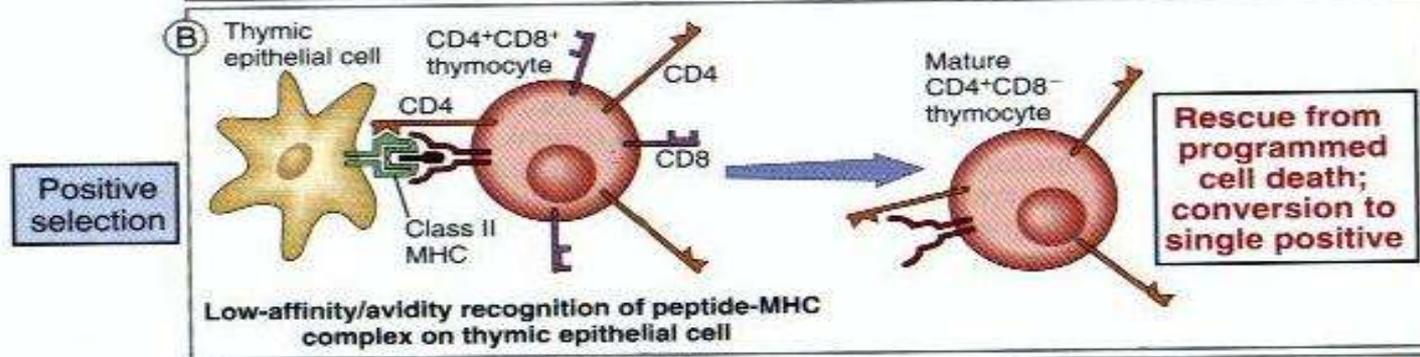
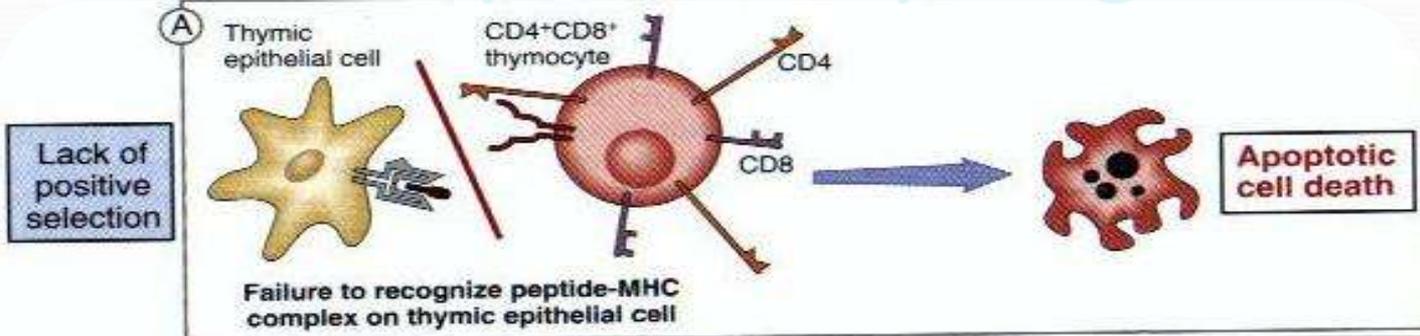
Funciones asociadas a las ETC

Desarrollo de las células DN a DP
La selección positiva regulada por las cEpc

Macroautofagia

Luego migran hacia la región córtico-medular y la médula, maduran a SP
La tolerancia central, es mediada principalmente por las mETC y células dendríticas tímicas residentes del timo

Ontogenia de Linfocitos T: Selección positiva y negativa

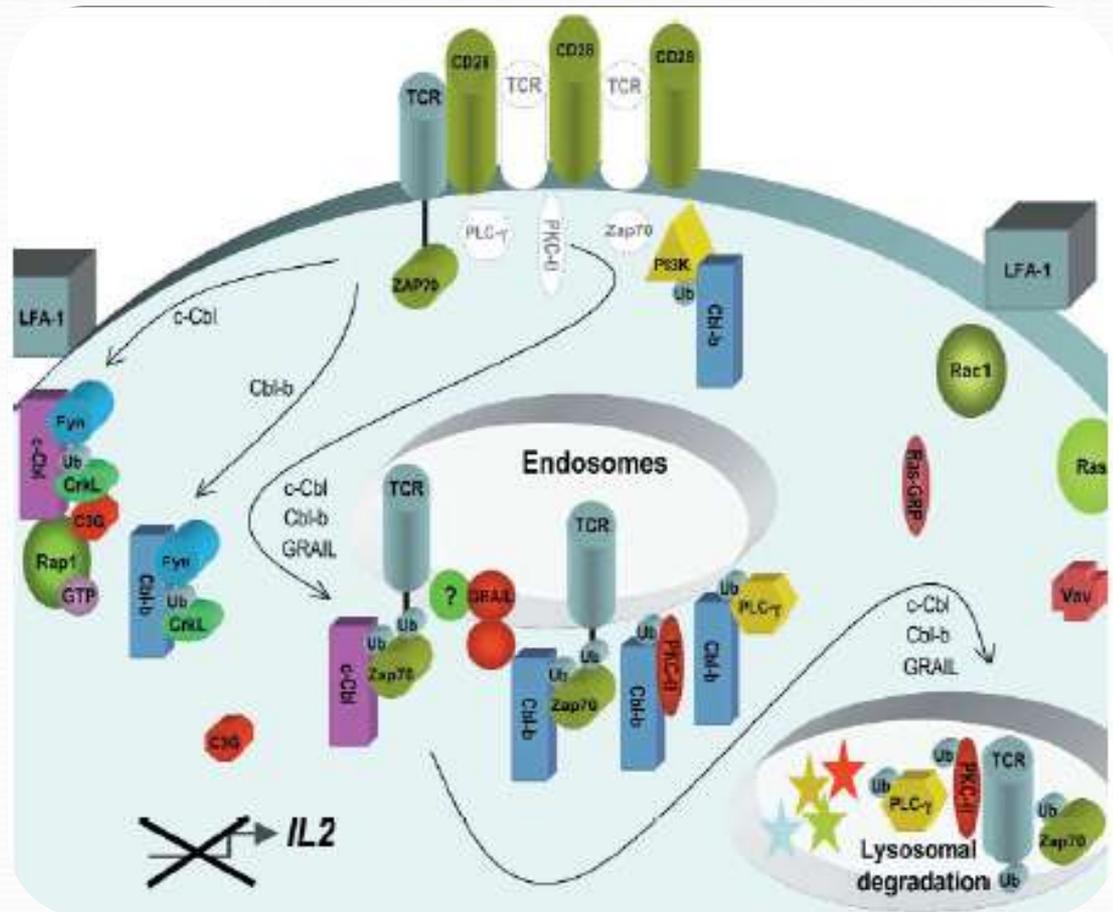


Muerte o anergia

High-avidity to recognize peptide-MHC complexes on thymic antigen-presenting cell

Ontogenia: MECANISMOS DE SELECCIÓN

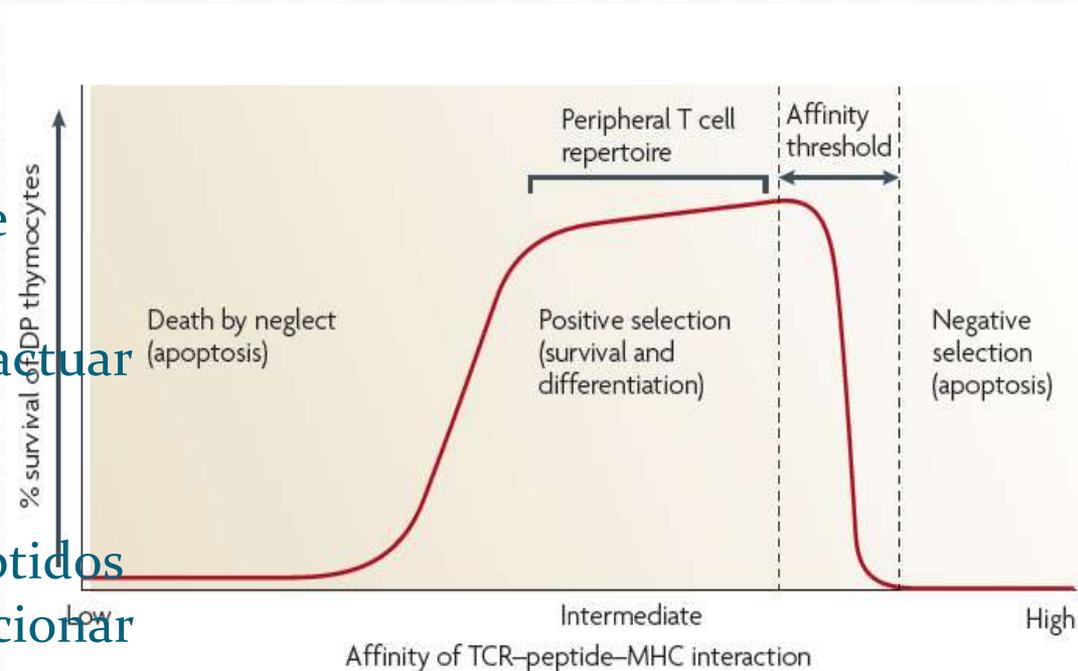
- Mecanismos involucrados en la anergia
 - Reciclaje acelerado del TCR, por ubiquitinación mediado por la fosforilación constitutiva de Cbl (ligasa de ubiquitina)
 - Proceso reversible



Ontogenia de linfocitos T

- Sobreviven:

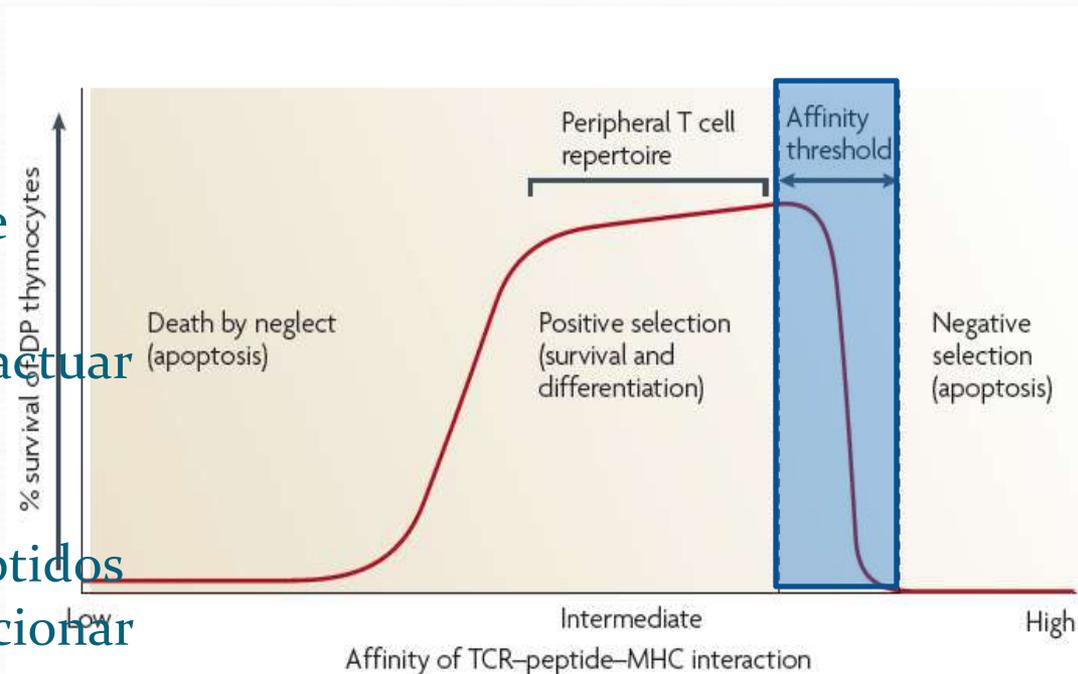
- TCR con moderada afinidad/avidez por el Ag sobreviven
 - Bajas concentraciones de ligandos de alta afinidad
- Timocitos capaces de interactuar con MHC
- Un TCR particular es seleccionado por varios péptidos (1 solo péptido puede seleccionar varios TCRs y viceversa)



Ontogenia de linfocitos T

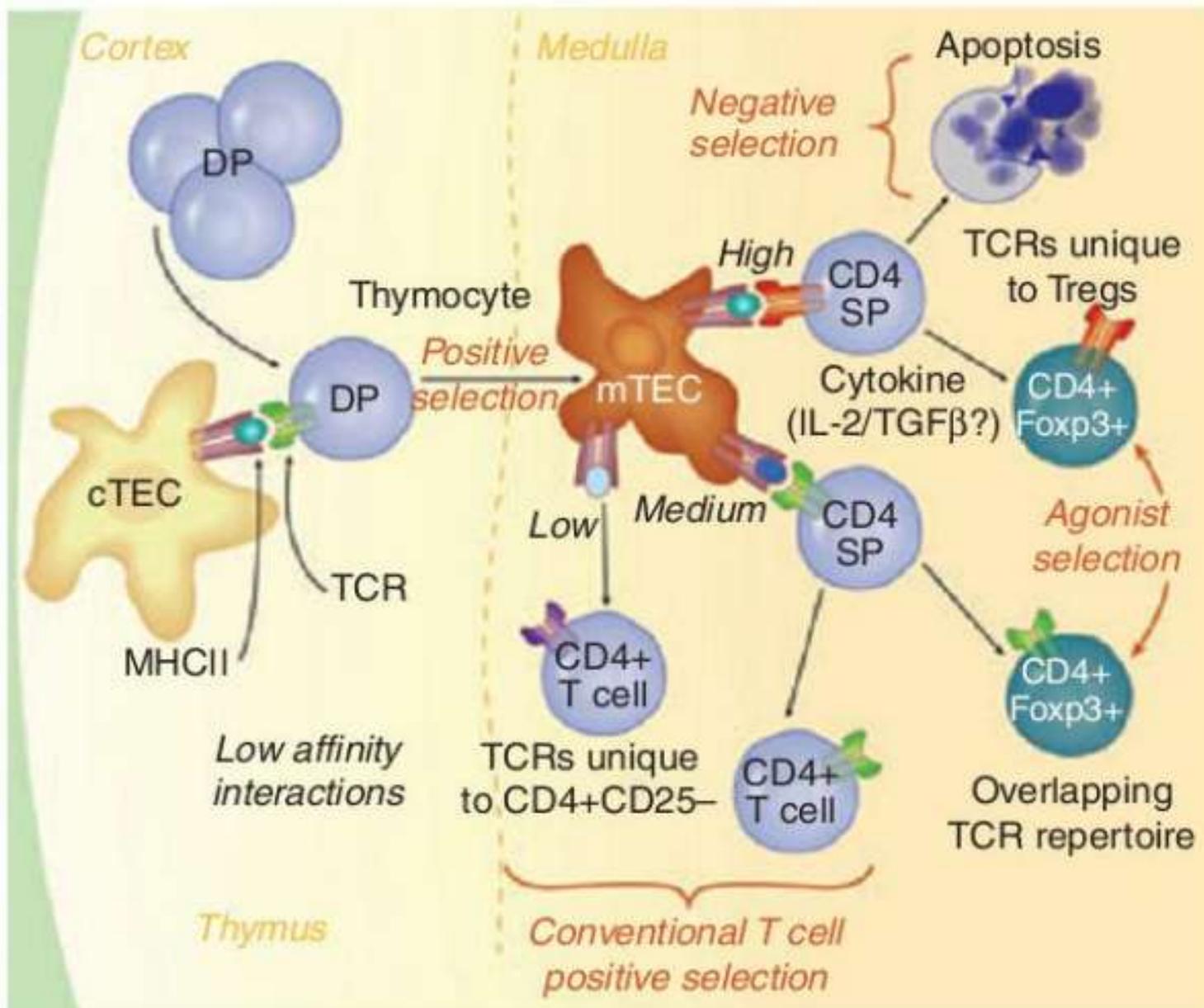
- Sobreviven:

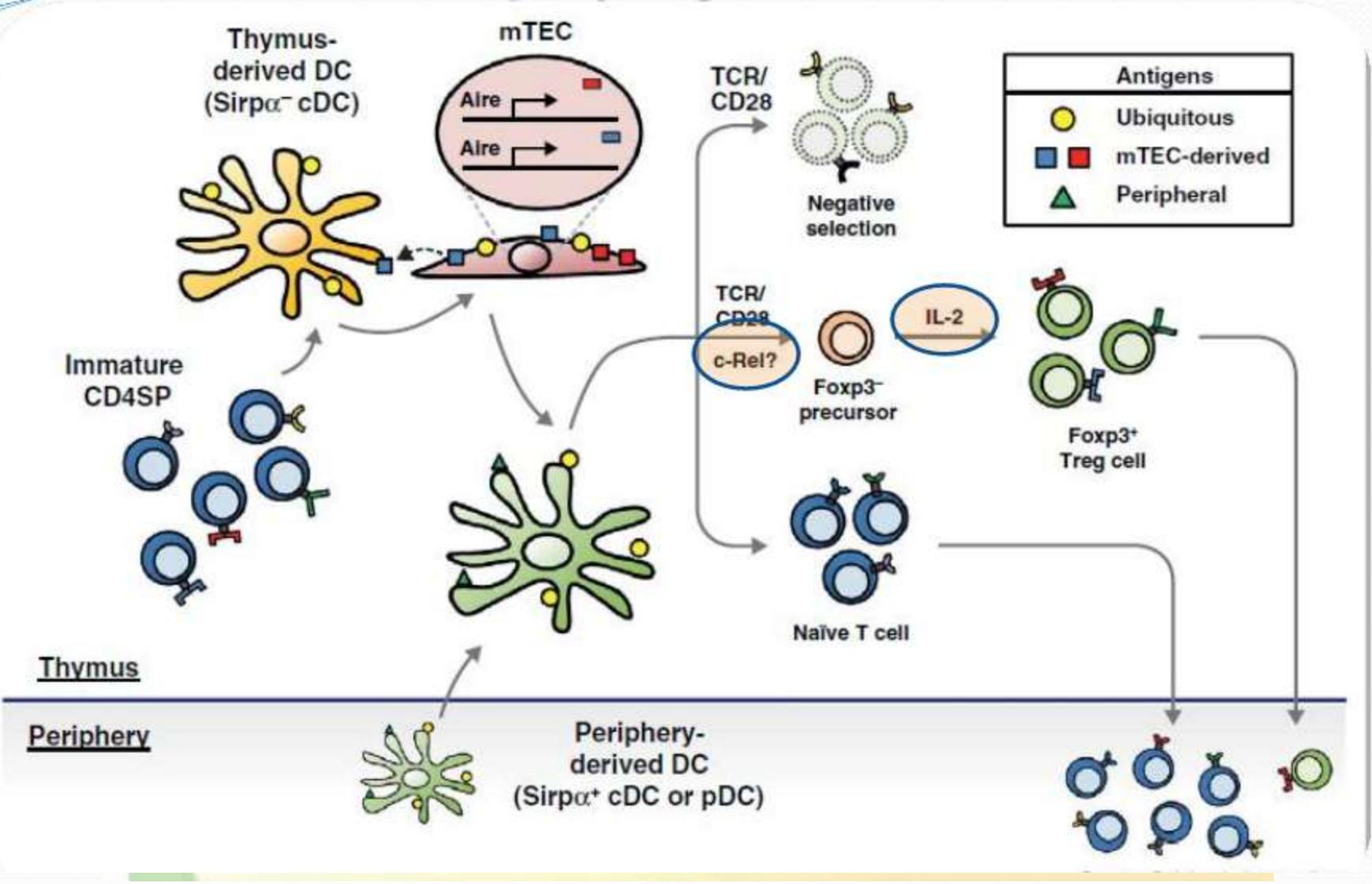
- TCR con moderada afinidad/avidez por el Ag sobreviven
 - Bajas concentraciones de ligandos de alta afinidad
- Timocitos capaces de interactuar con MHC
- Un TCR particular es seleccionado por varios péptidos (1 solo péptido puede seleccionar varios TCRs y viceversa)



On

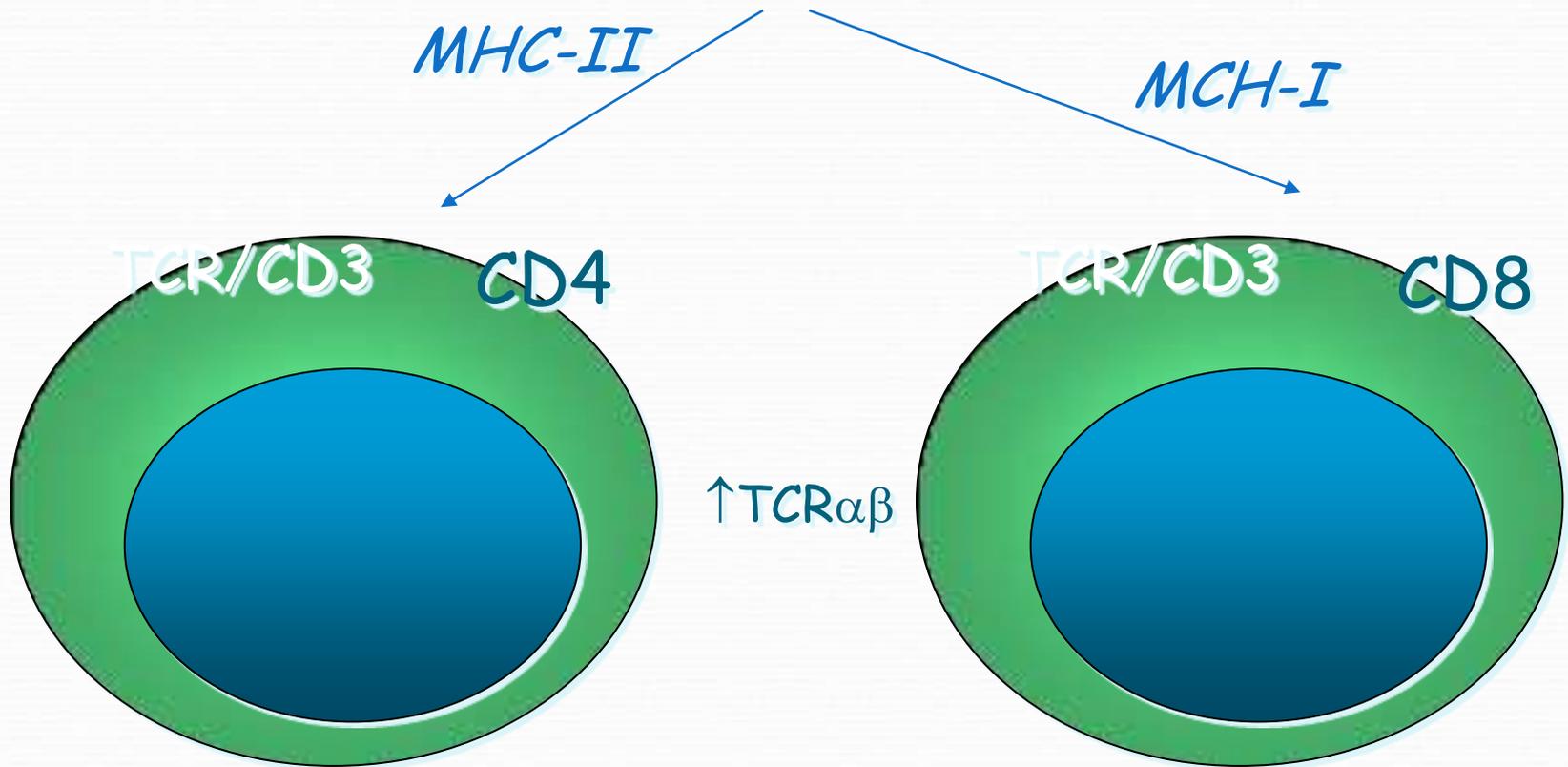
- Sober
- TC
- afi
- so
-
- Ti
- co
- U
- se
- (1
- va





Ontogenia de Linfocitos T

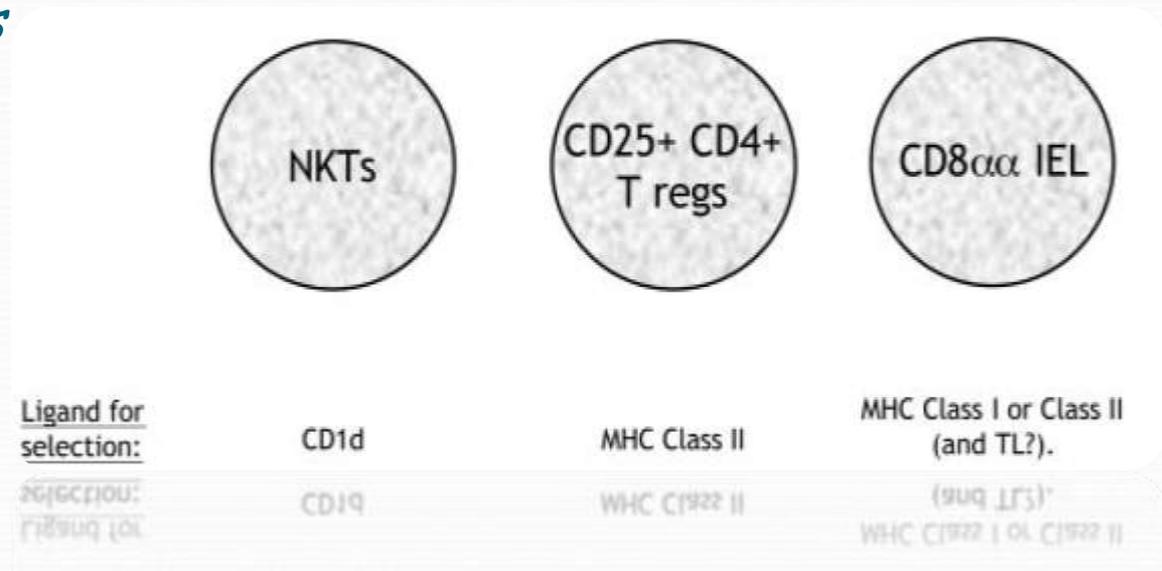
Linfocito T maduro:

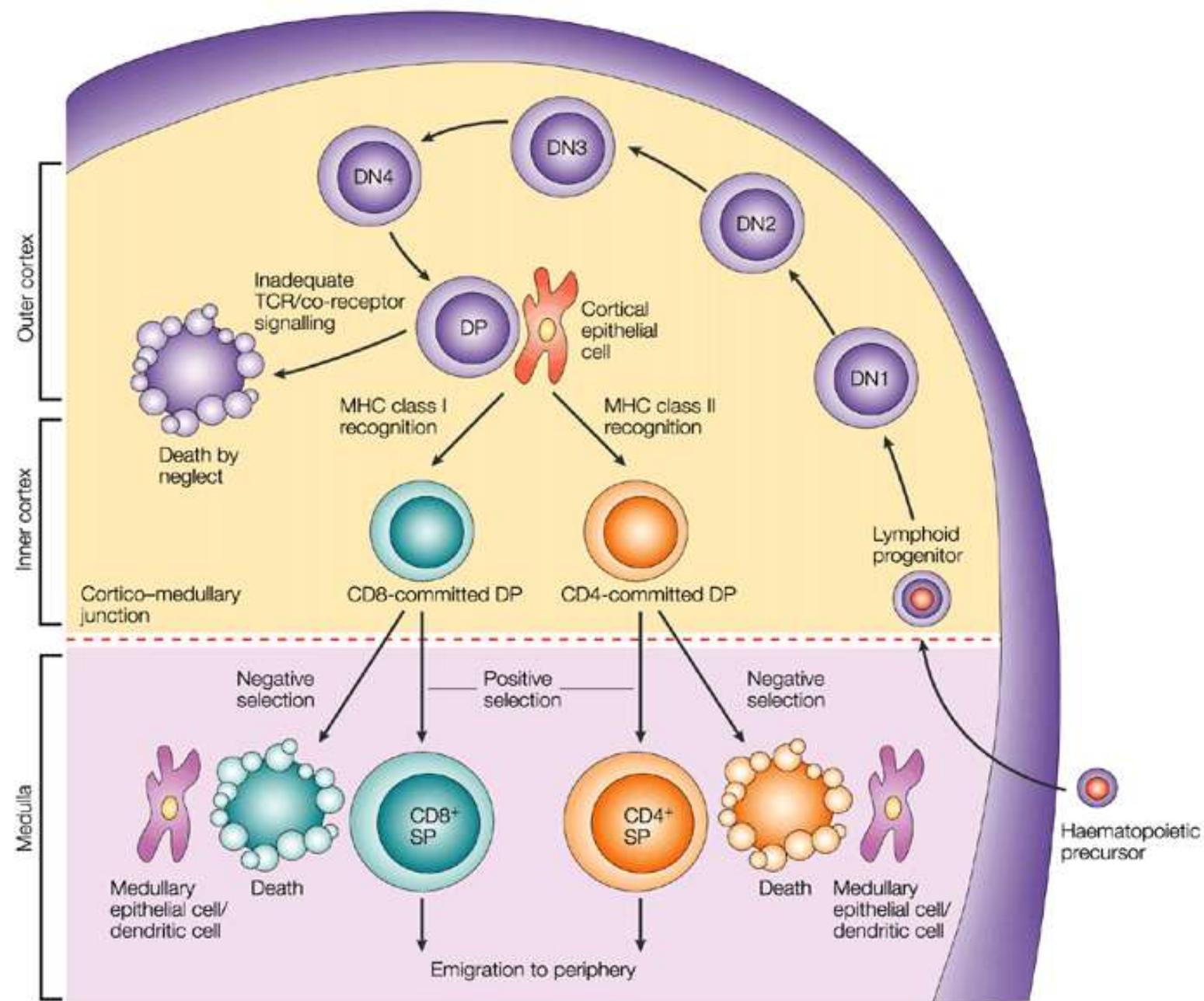


Ontogenia de linfocitos: DESARROLLO DE CÉLULAS T REGULADORAS

- Selección positiva por agonista

*Tregs: específicas contra antígenos propios
Su desarrollo depende: fuerza de la señal, tipo de célula del estroma tímico (cTEC??), moléculas accesoria (B-7, CD28), IL-2, expresión de FoxP3*

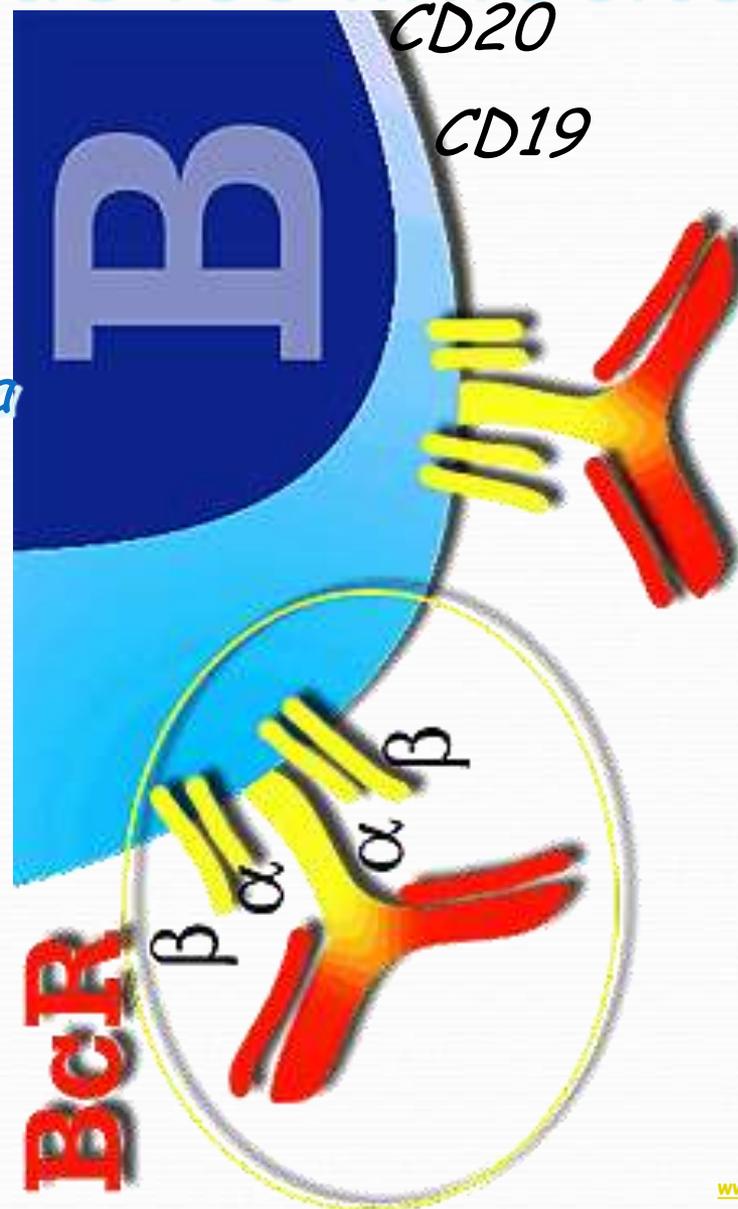




Ontogenia de los linfocitos B

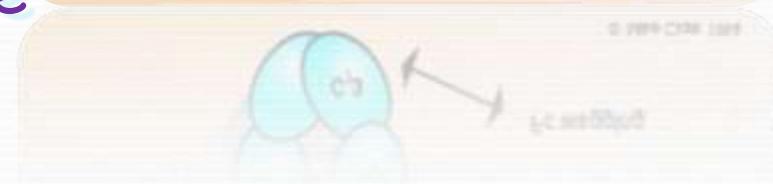
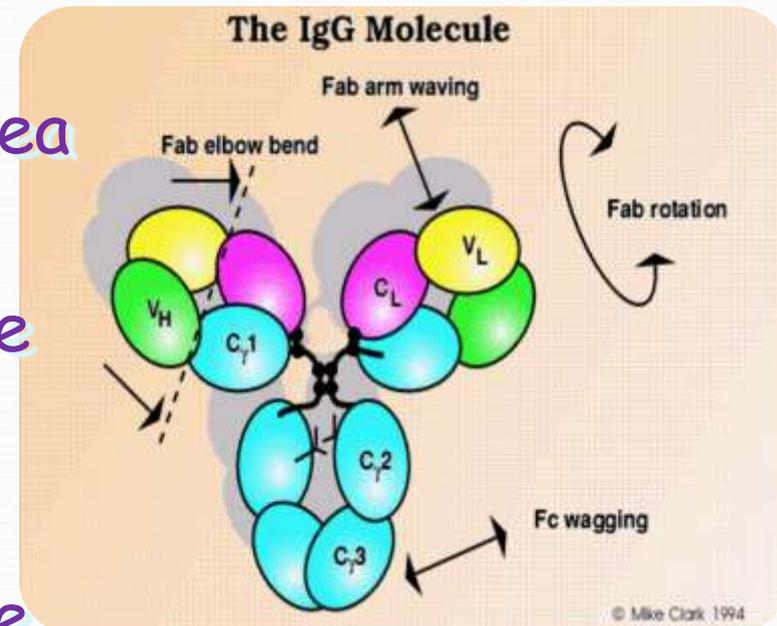
BCR:

*Inmunoglobulina
(IgM e IgD) +
cadenas α y β
(comunicación
intracelular)*

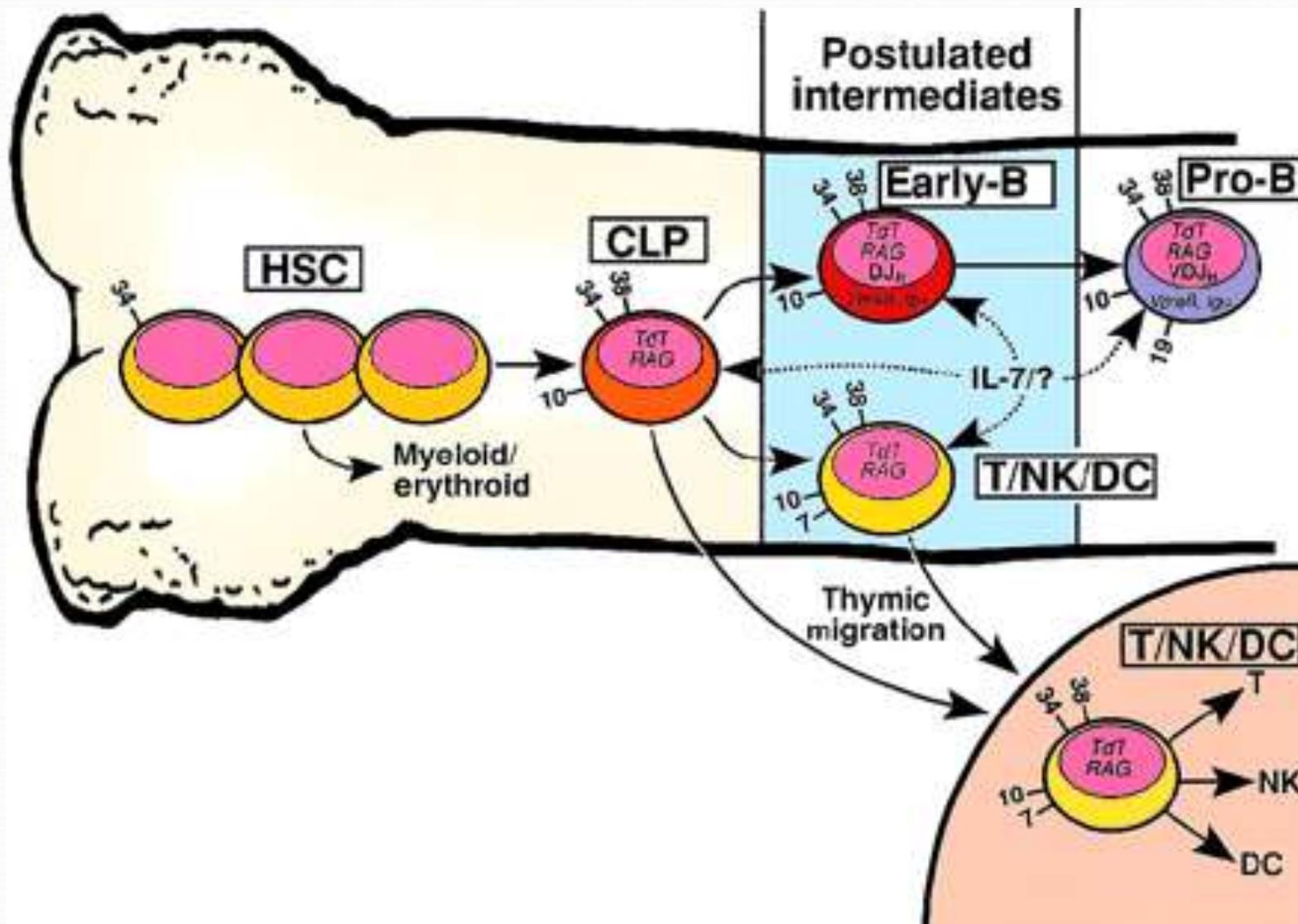


Ontogenia de linfocitos B

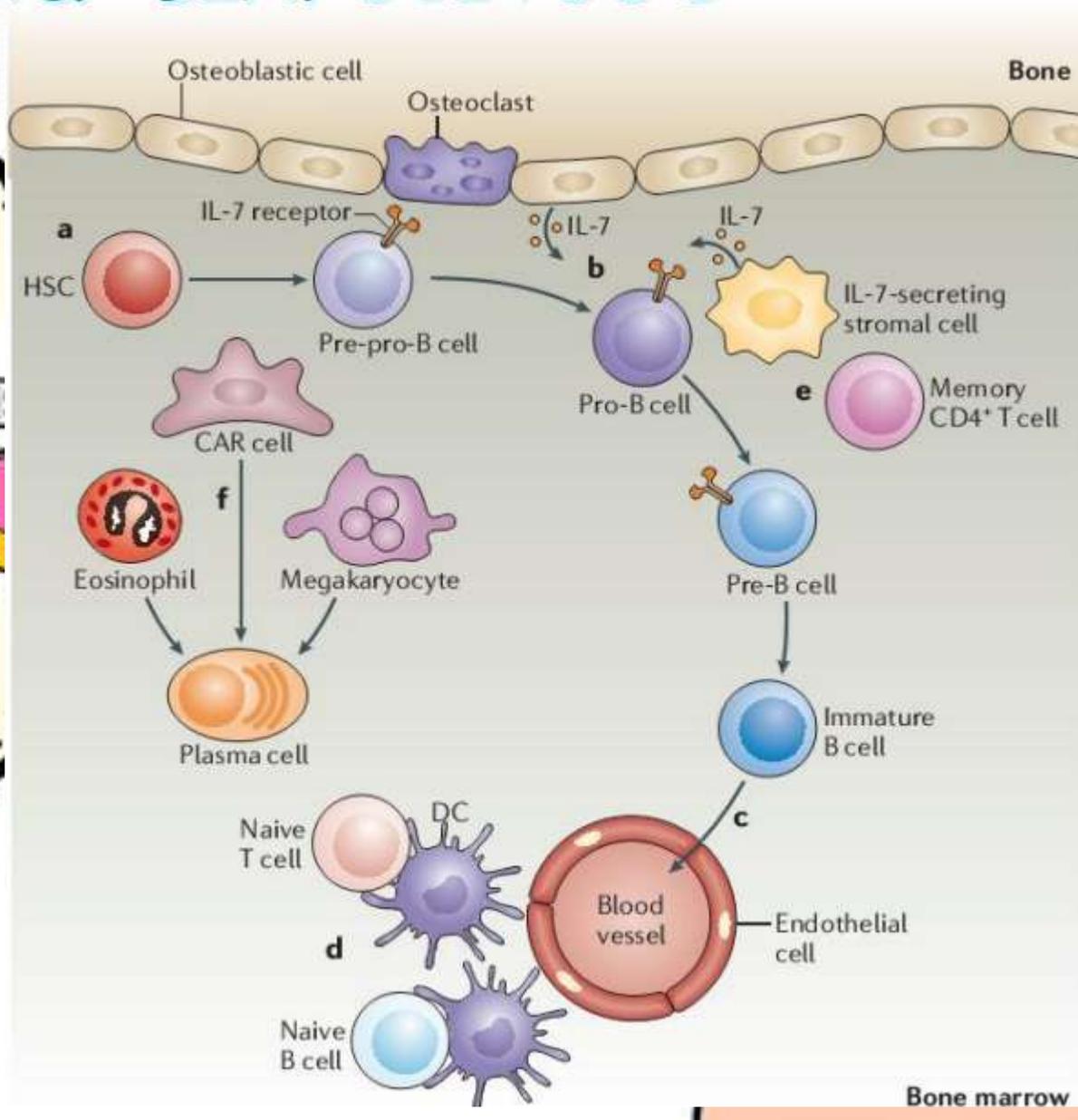
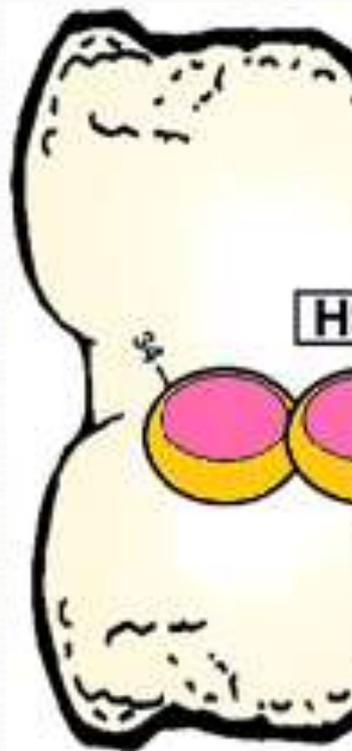
- Su desarrollo se inicia en el hígado fetal 8^{va}-9^{na} semana y luego continúa en la médula ósea
- El repertorio de células se genera por recombinaciones de segmentos de los genes del receptor de linfocito B (BCR)
- Están sujetos a mecanismos de selección positiva y negativa



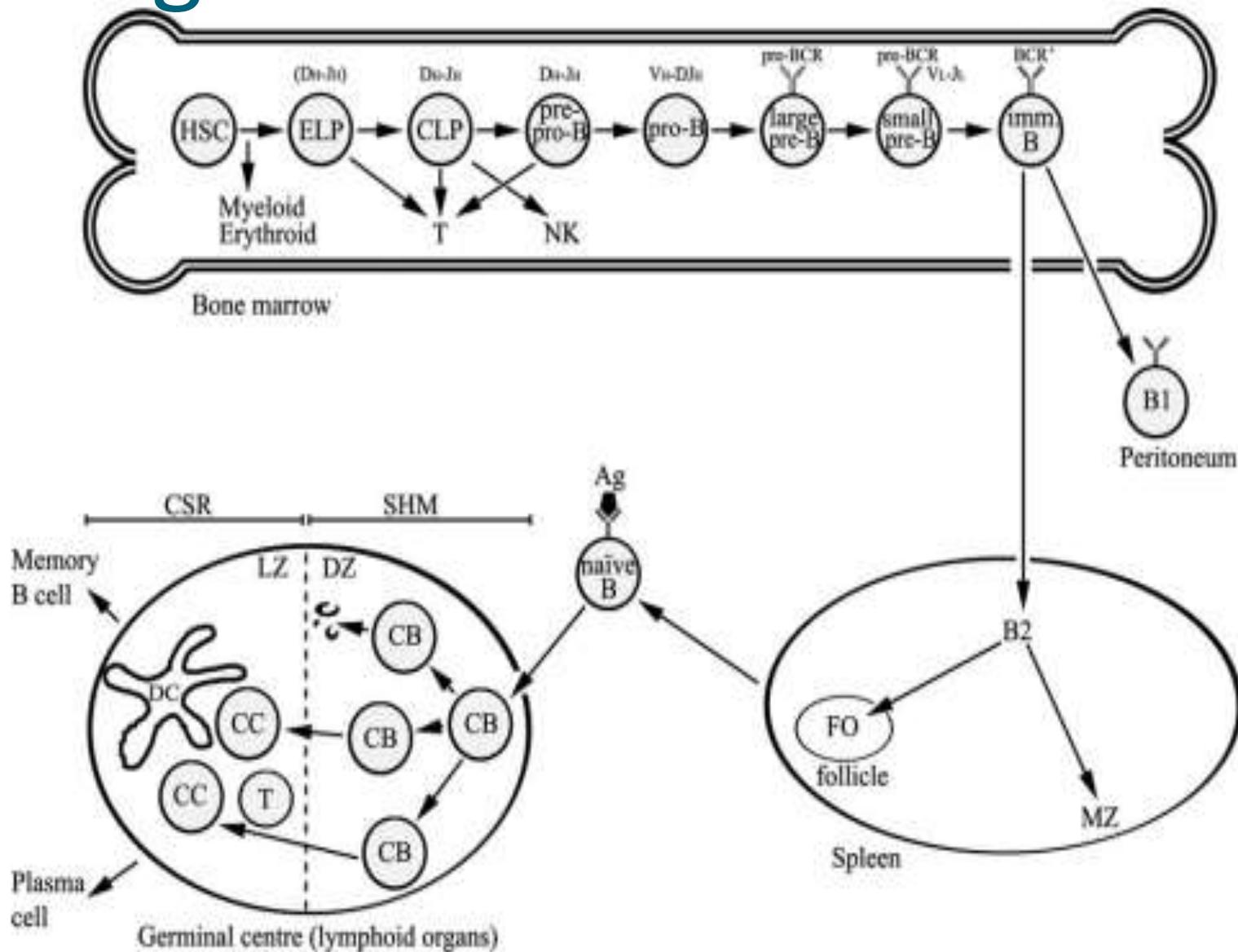
Ontogenia: LINFOCITOS B



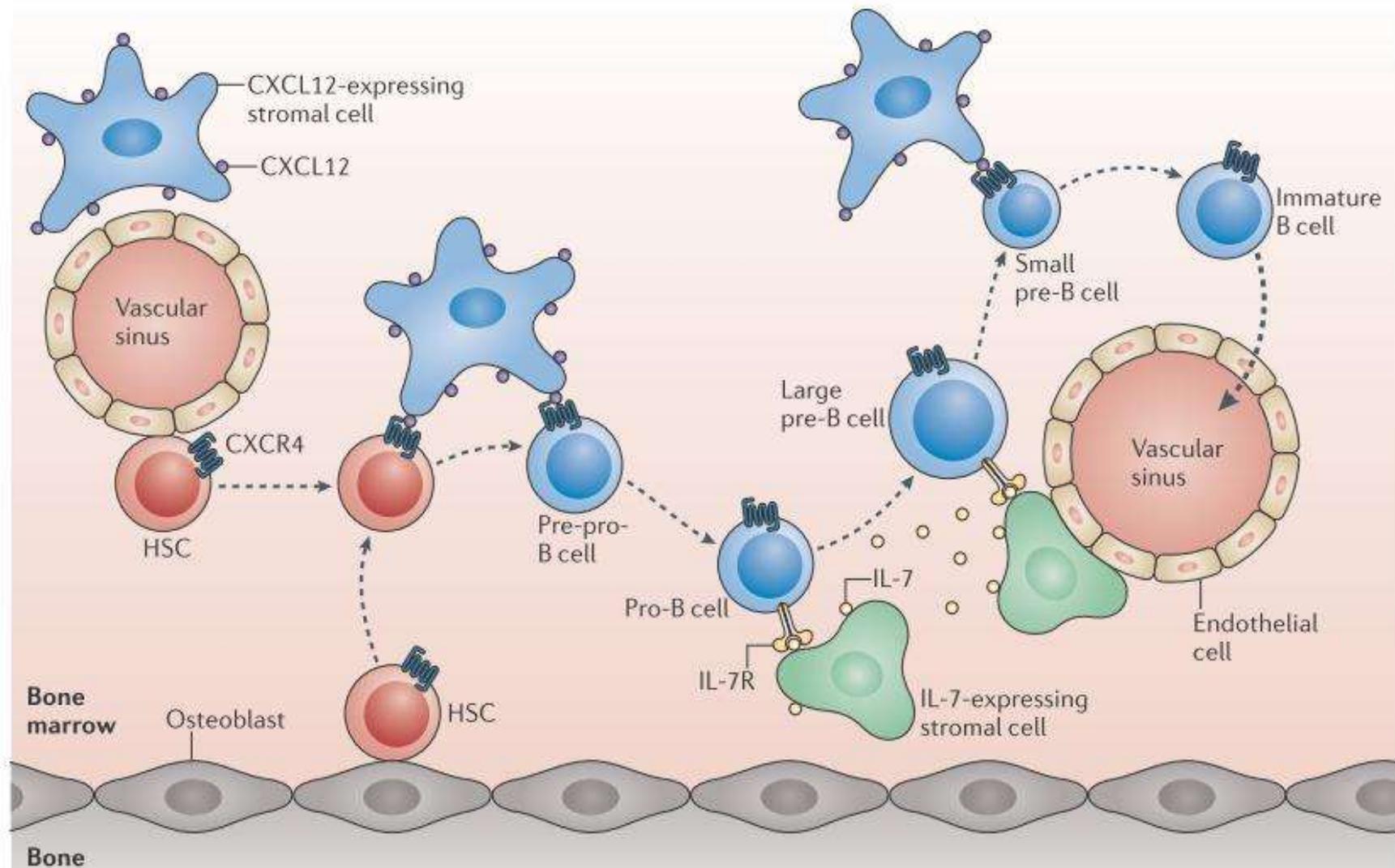
Ontogenia: TNEOCTOS B



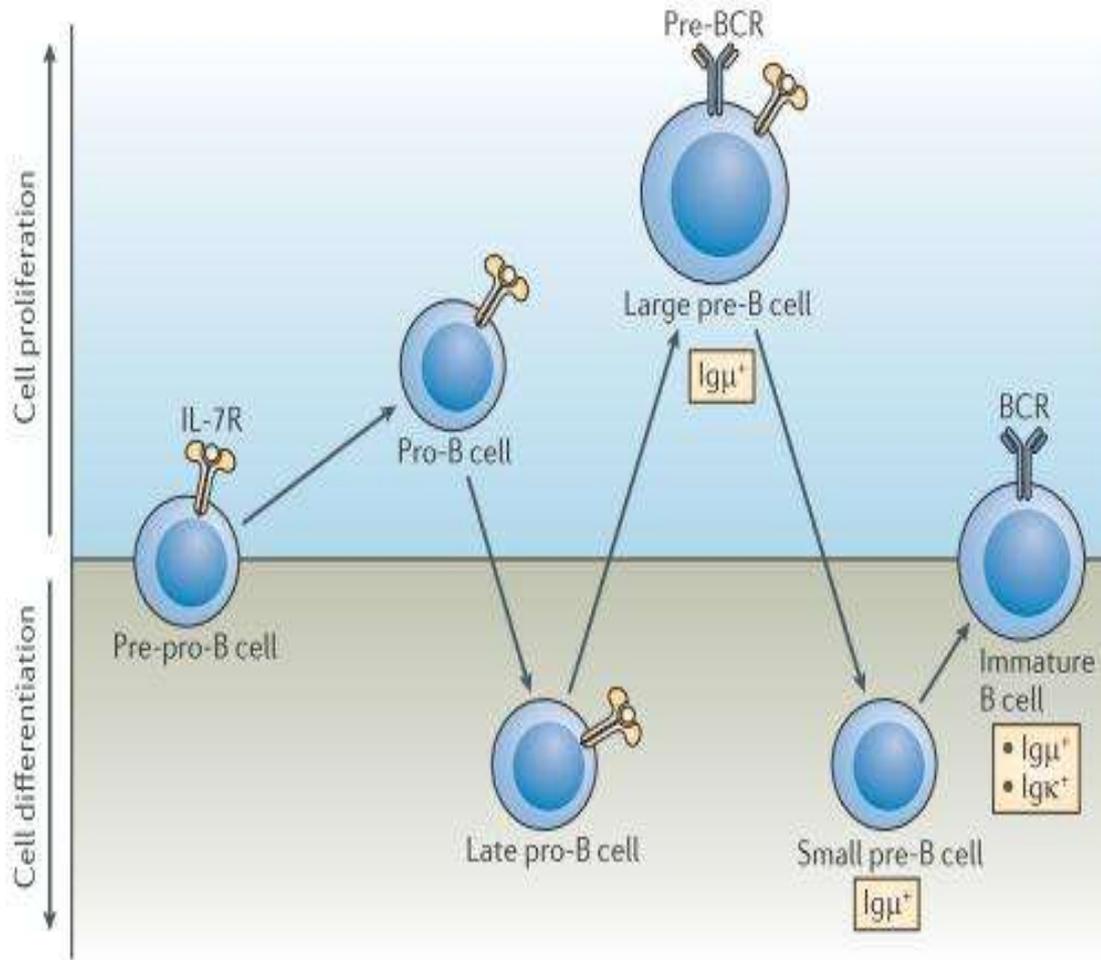
Ontogenia de linfocitos B



Ontogenia de linfocitos B



Papel de la IL-7

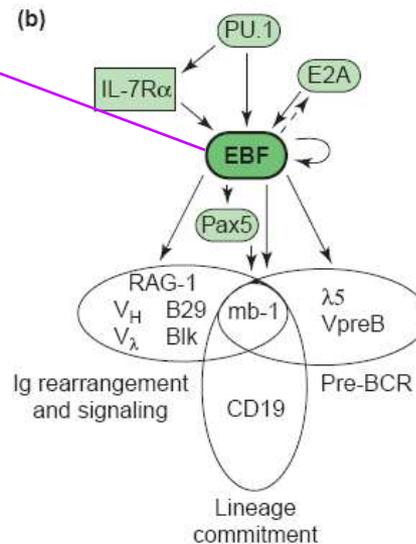
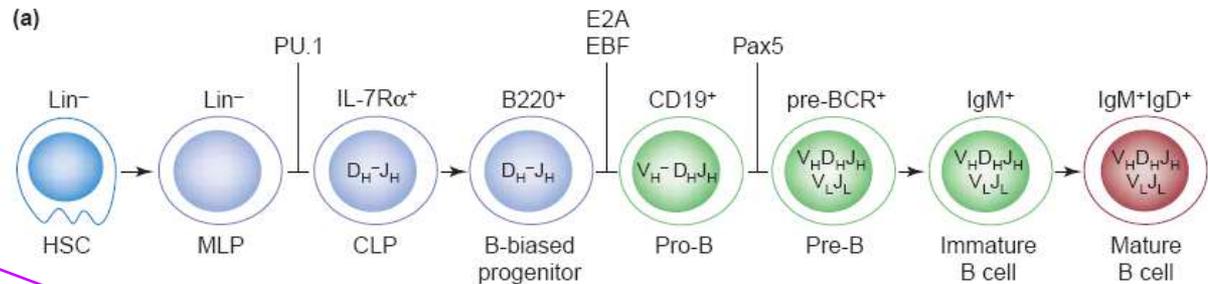


- *En ratones knockout de IL-7 atenúa la linfopoyesis de B.*
- *Se cree que thymic stromal lymphopoietin (TSLP) pudiera tener funciones redundante a la IL-7 y compensar la deficiencia de IL-7.*
- *Señales mediadas por IL-7, a través de activación de STAT5 y estimula transcripción de **cyclin D3**, requerida para proliferación tanto de pro- y pre-B cell*

Ontogenia de linfocitos B

Ikaros y EBF1 (early B cell factor 1) media remodelamiento de los nucleasomas seguido por la monometilacion histone H₃ lysine 4 (H₃K₄) que se requieren para la entrada de factores de transcripción

Regula el acceso de la maquinaria de recombinación del DNA

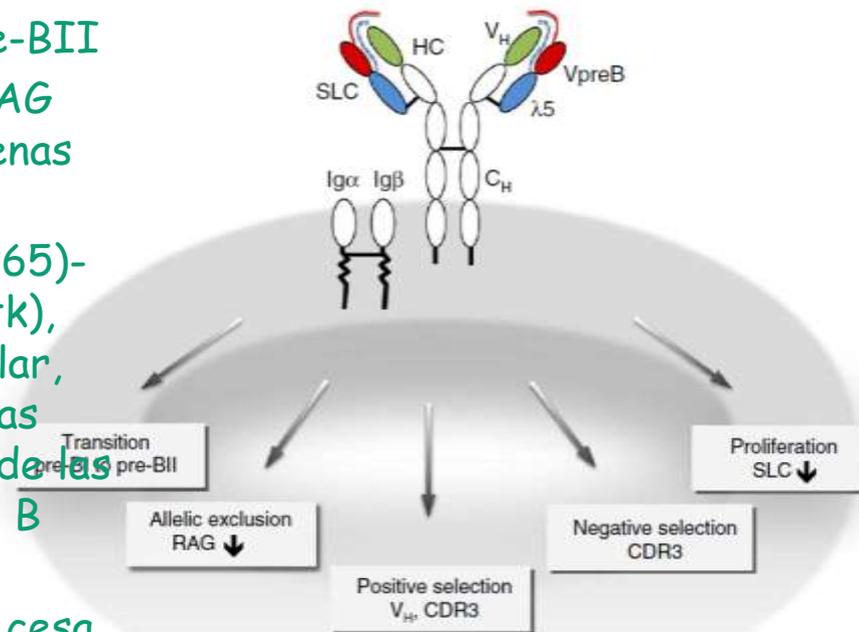


EBF1, promueve la expresión de CD79

Ontogenia: LINFOCITO B

- ▶ pre-BCR (cadena pesada + SL ($\lambda 5$, VpreB) + $Ig\alpha/Ig\beta$):
 - Media la exclusión alélica de la cadena pesada
 - Inhibe expresión de RAG1/2 y TdT, una vez reordenada la cadena pesada
 - Crítica para el paso de pre-BI a pre-BII
 - Pre-BII: induce re-expresión de RAG para el reordenamiento de las cadenas livianas
 - B cell linker protein (BLNK; SLP65)- and Bruton's tyrosine kinase (Btk), controlan la salida del ciclo celular, disminución de la expresión de las cadenas sustitutas y expresión de las cadenas livianas y paso a células B maduras
 - Al formarse la cadena liviana, cesa síntesis de cadena liviana "surrogate" o sustituta

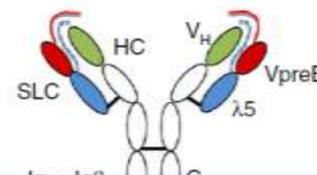
Pre-BCR no requiere ligando para su activación, formación de conglomerados en membrana lo activan



Ontogenia: LINFOCITO B

- ▶ pre-BCR (cadena pesada + SL ($\lambda 5$, VpreB) + Ig α /Ig β):
 - Media la exclusión alélica de la cadena pesada
 - Inhibe expresión de RAG1/2 y TdT, una vez reordenada la cadena pesada
 - Crítica para el paso de pre-BI a pre-BII
 - Pre-BII: induce re-expresión de RAG para el reordenamiento de las cadenas livianas

Pre-BCR no requiere ligando para su activación, formación de conglomerados en membrana lo activan



Defects en BTK afectan señales del pre-BCR y arresto en estadio pre-B-cell J Allergy Clin Immunol 2013;131:959-71

- B cell and B cell contraction and dismissal of surrogate and replacement chains and expression of the surrogate and replacement chains and passage to mature B cells
- Al formarse la cadena liviana, cesa síntesis de cadena liviana "surrogate" o sustituta



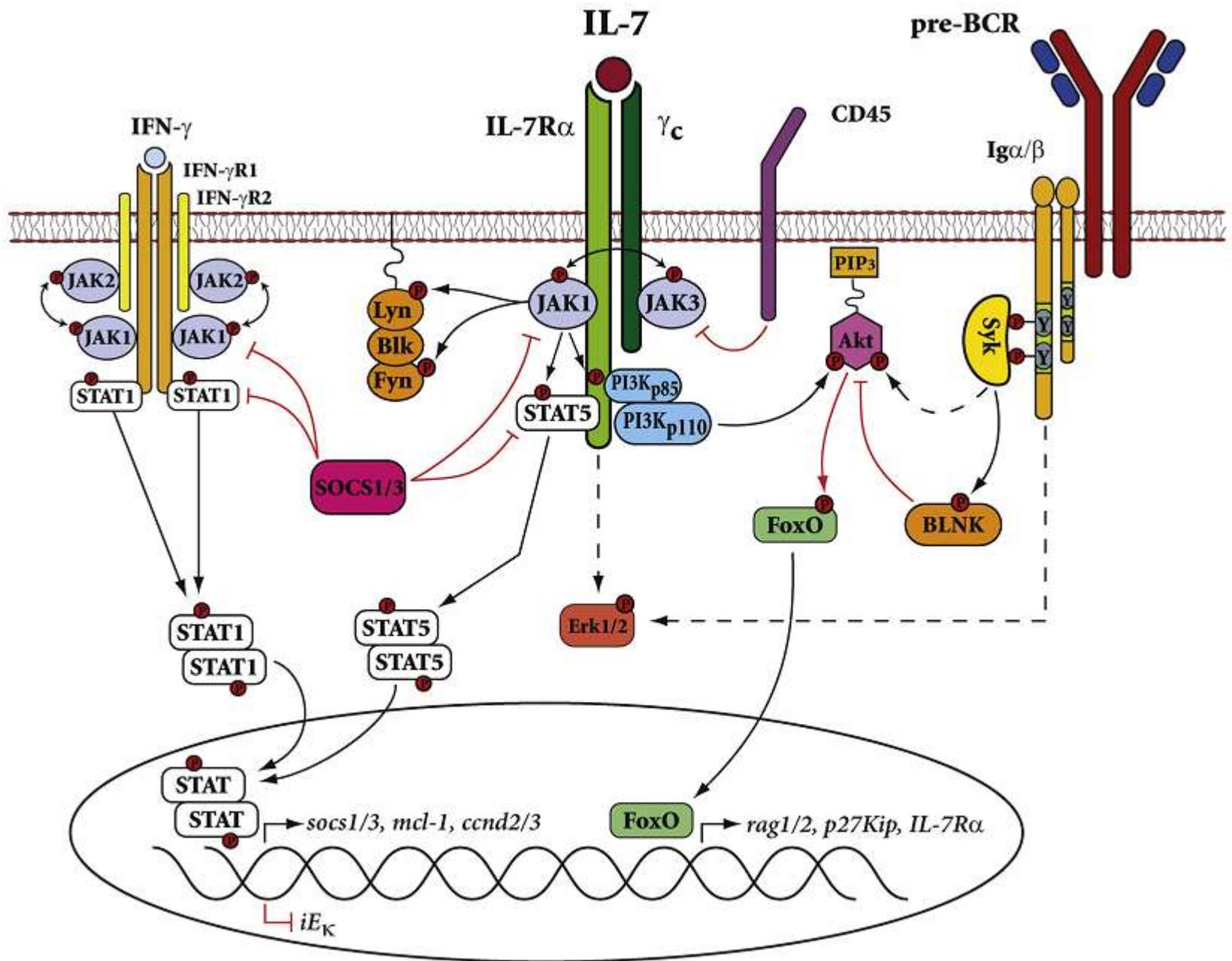


Fig. 1. A schematic diagram of the signaling pathways initiated downstream of the IL-7R as well as other signaling molecules that work with or inhibit IL-7R activation. Red lines denote inhibitory actions and dashed lines denote a multistep pathway. See text for detailed description.

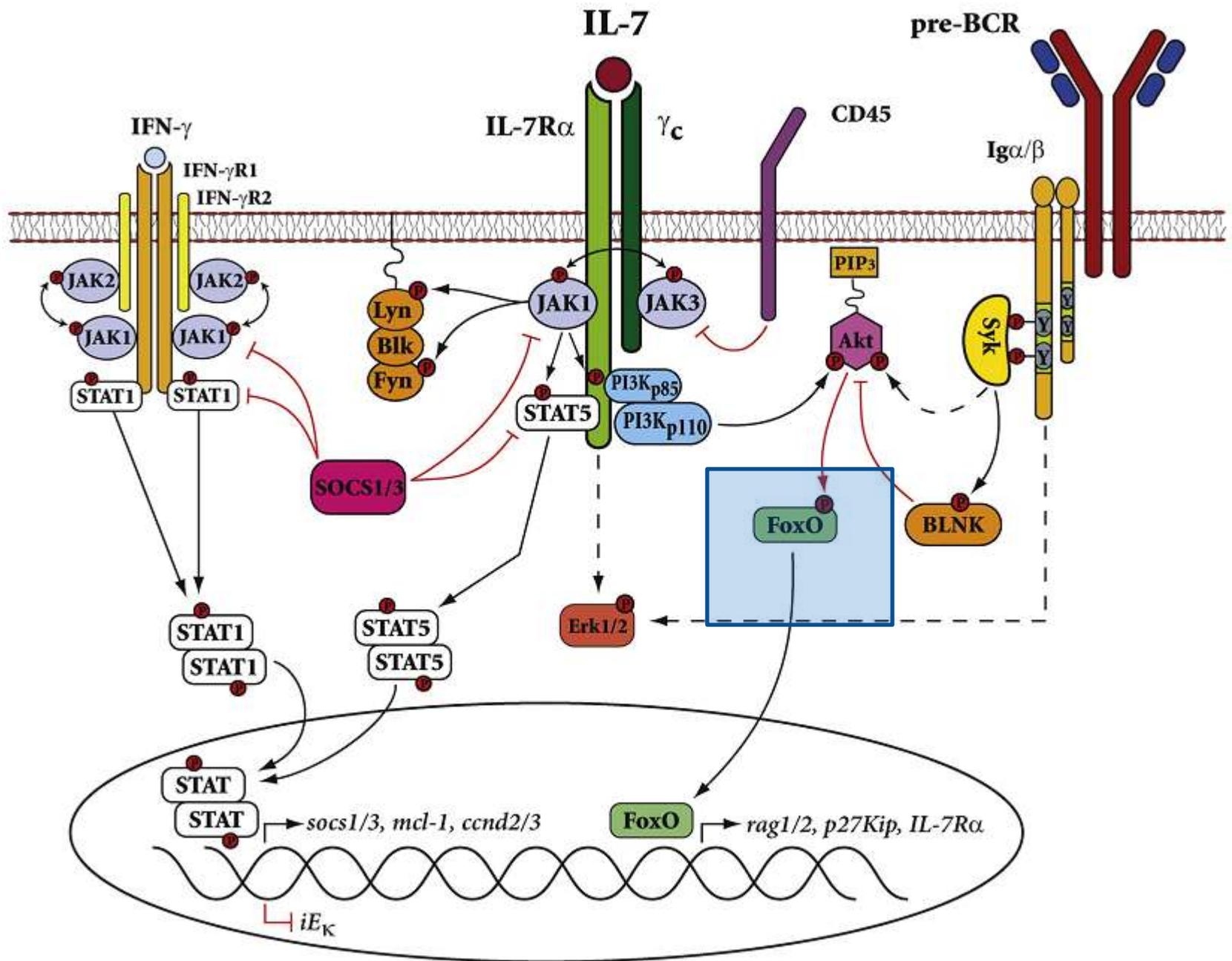


Fig. 1. A schematic diagram of the signaling pathways initiated downstream of the IL-7R as well as other signaling molecules that work with or inhibit IL-7R activation. Red lines denote inhibitory actions and dashed lines denote a multistep pathway. See text for detailed description.

IL-7

pre-BCR

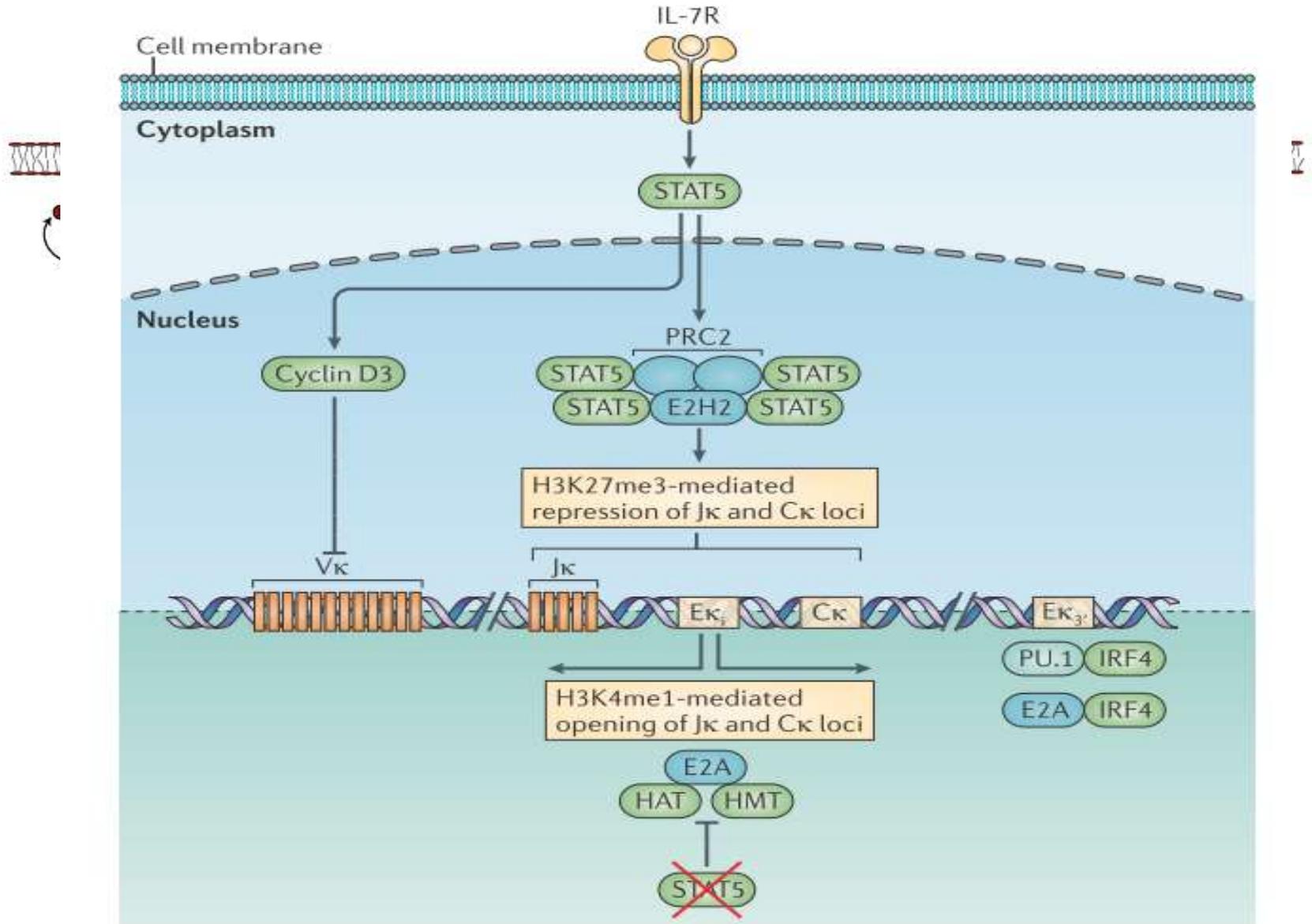


Fig. 1. A schematic diagram of the signaling pathways initiated downstream of the IL-7R as well as other signaling molecules that work with or inhibit IL-7R activation. Red lines denote inhibitory actions and dashed lines denote a multistep pathway. See text for detailed description.

IL-7

pre-BCR

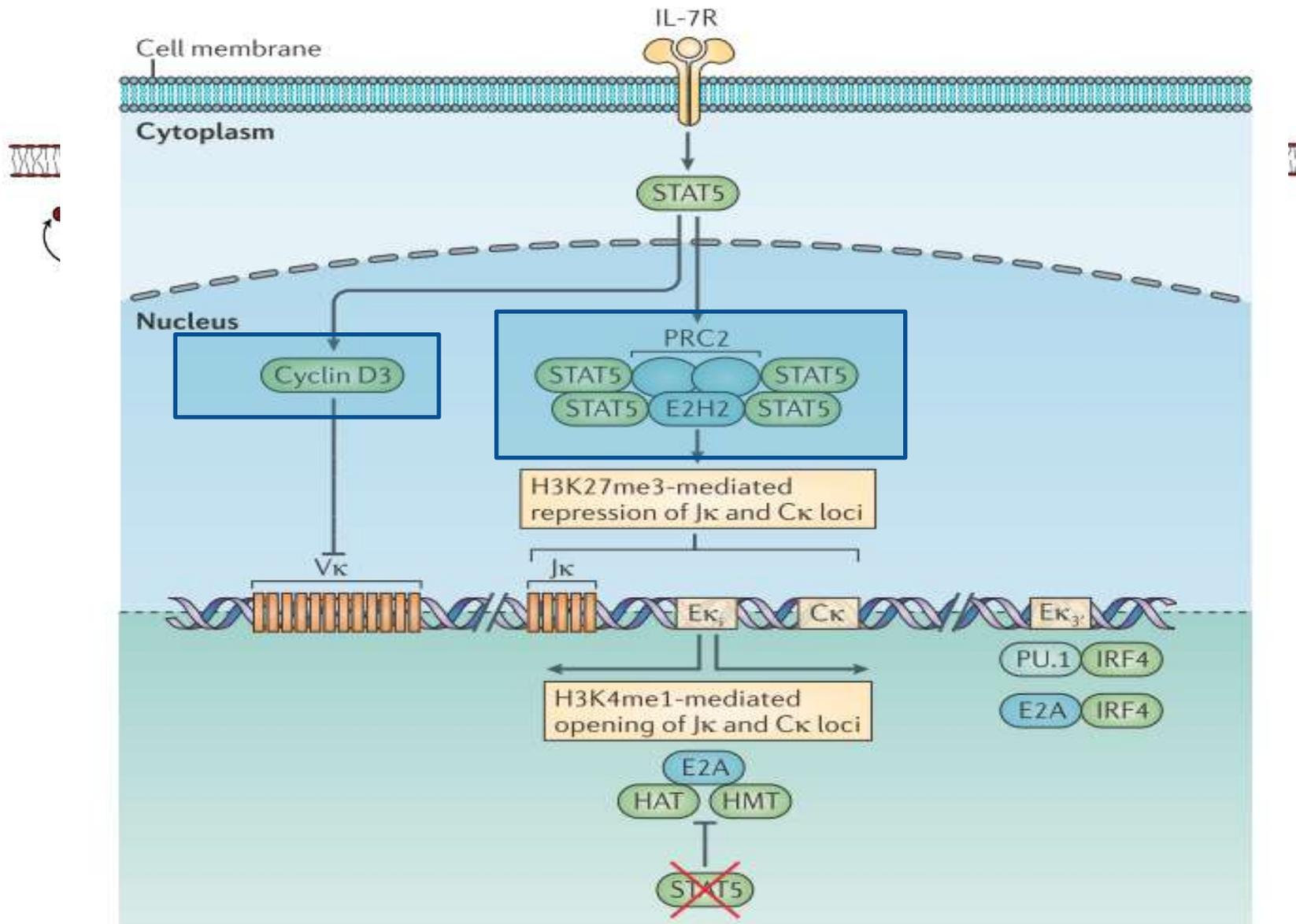
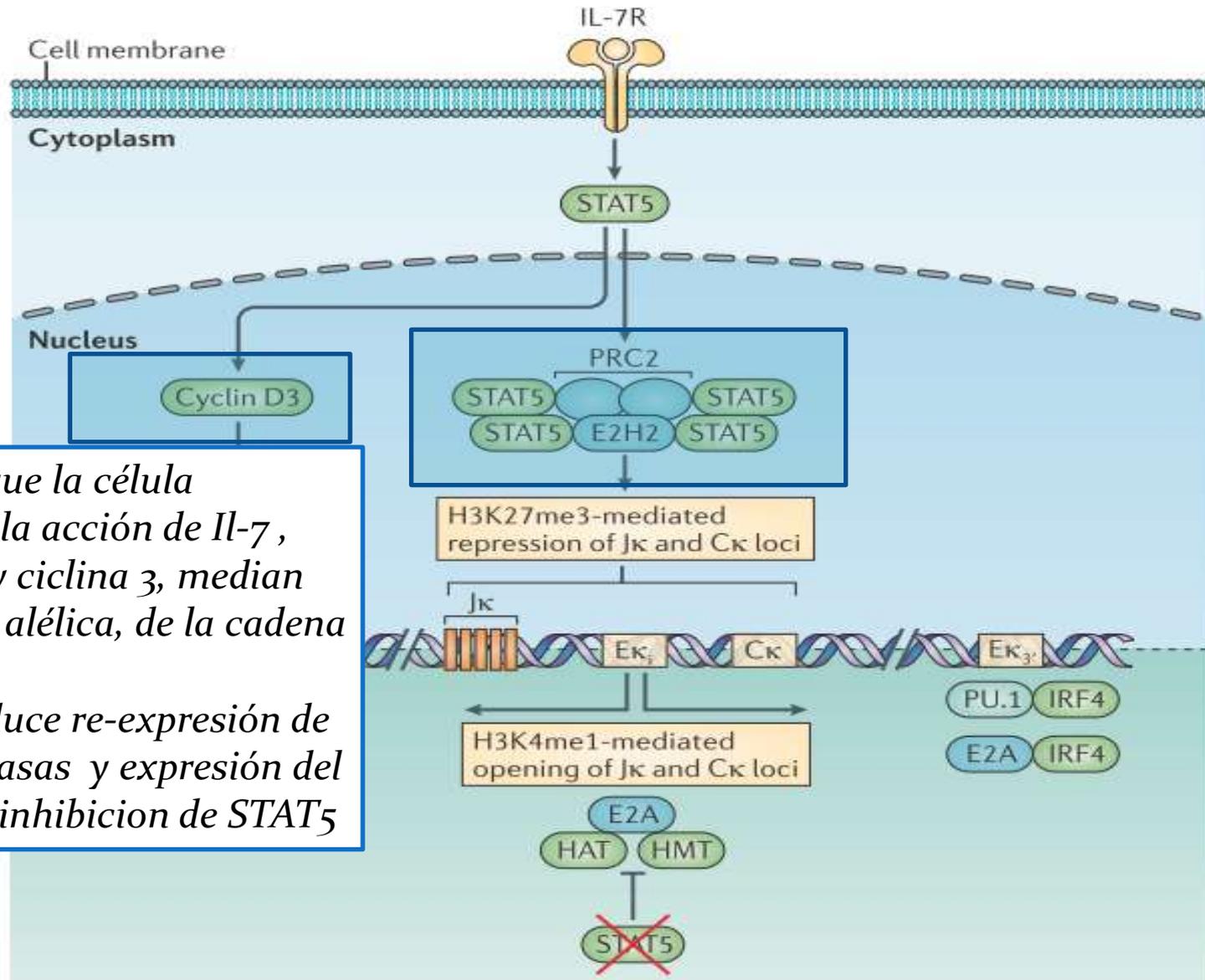


Fig. 1. A schematic diagram of the signaling pathways initiated downstream of the IL-7R as well as other signaling molecules that work with or inhibit IL-7R activation. Red lines denote inhibitory actions and dashed lines denote a multistep pathway. See text for detailed description.

IL-7

pre-BCR

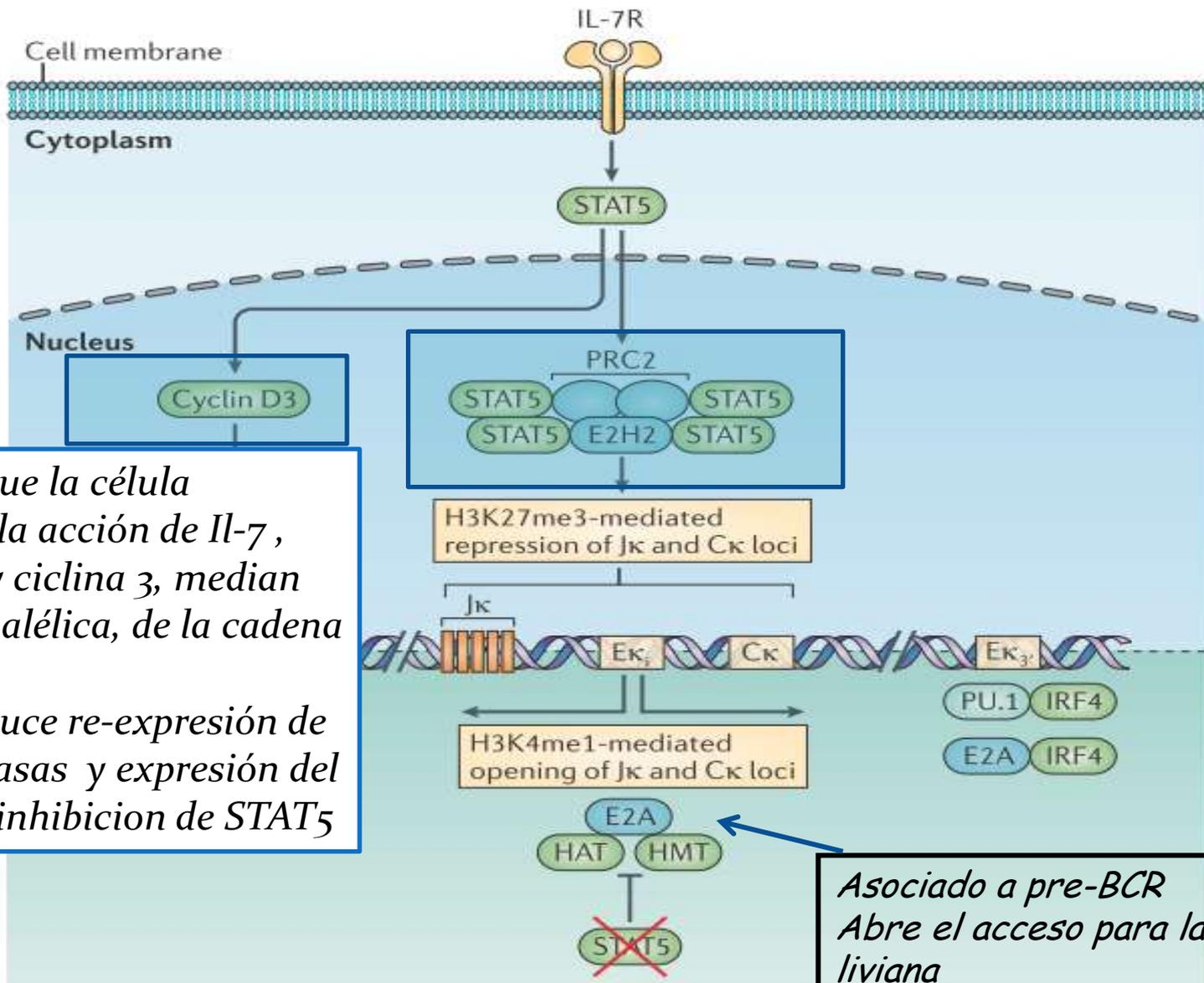


- Una vez que la célula prolifera, la acción de Il-7, pre-BCR y ciclina 3, median exclusión alélica, de la cadena pesada
- Foxo1, induce re-expresión de recombinasas y expresión del pre-BCR, inhibición de STAT5

Fig. 1. A schematic diagram of the signaling pathways initiated downstream of the IL-7R as well as other signaling molecules that work with or inhibit IL-7R activation. Red lines denote inhibitory actions and dashed lines denote a multistep pathway. See text for detailed description.

IL-7

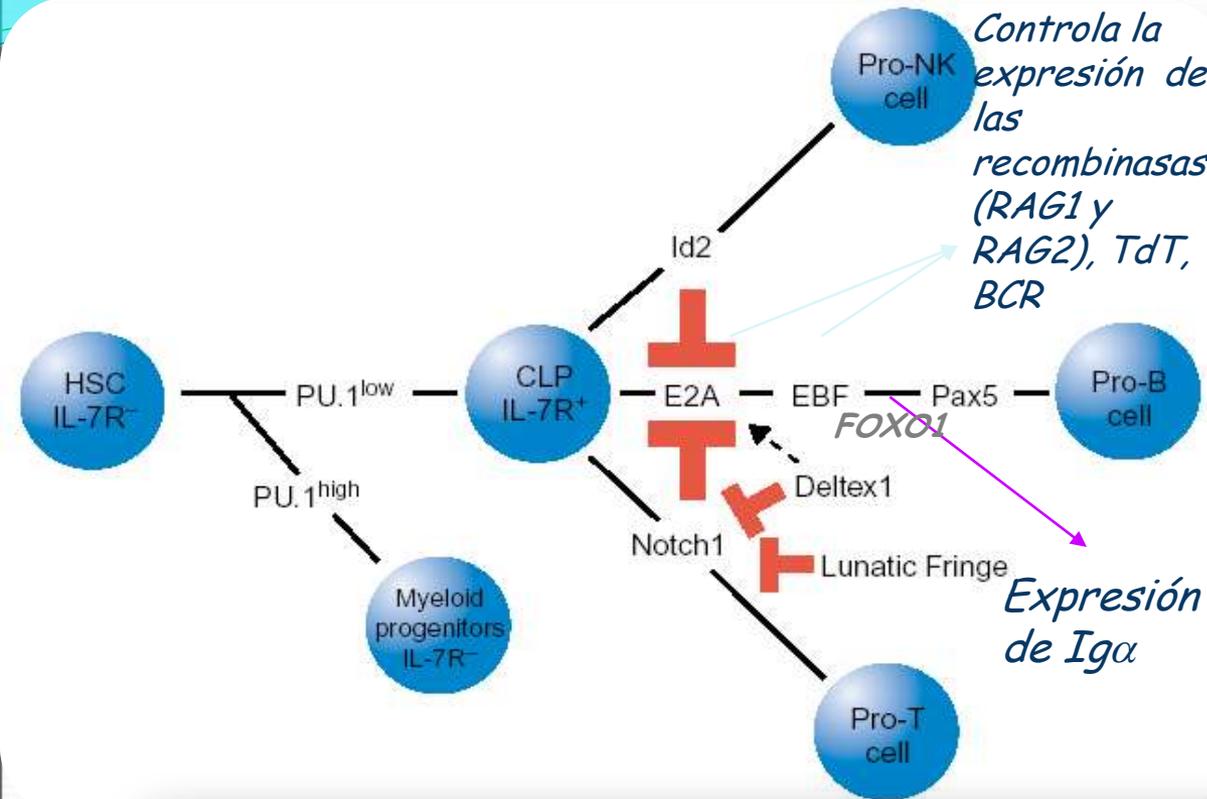
pre-BCR



- Una vez que la célula prolifera, la acción de Il-7, pre-BCR y ciclina 3, median exclusión alélica, de la cadena pesada
- Foxo1, induce re-expresión de recombinasas y expresión del pre-BCR, inhibición de STAT5

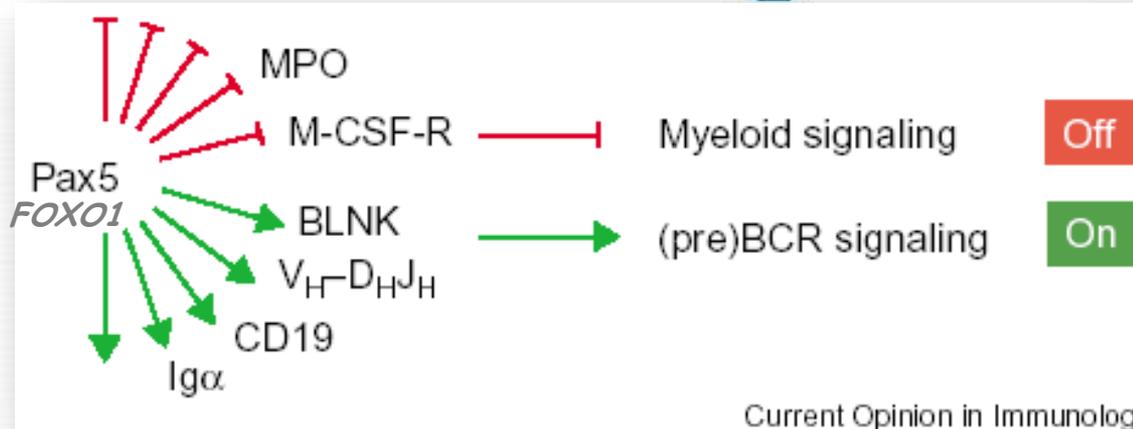
Asociado a pre-BCR
Abre el acceso para la cadena liviana

Fig. 1. A schematic diagram of the signaling pathways initiated downstream of the IL-7R as well as other signaling molecules that work with or inhibit IL-7R activation. Red lines denote inhibitory actions and dashed lines denote a multistep pathway. See text for detailed description.



o Pax5 juega un papel importante en comisionar el desarrollo hacia células B

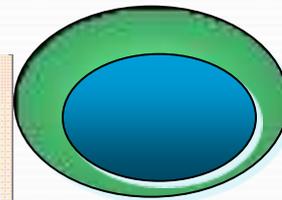
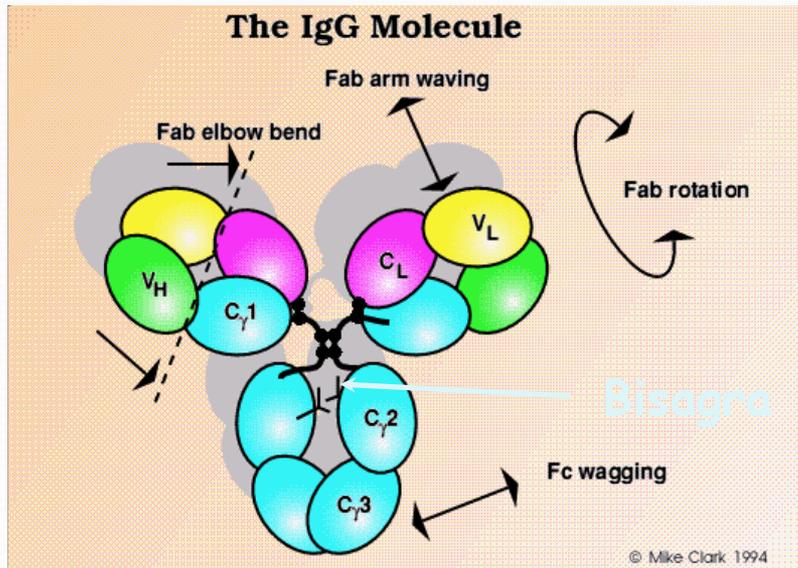
- Ratones *Pax5*^{-/-} se arresta el desarrollo de los linfocito B (pro-B)
- Suprime expresión de M-CSFR y Notch-1
- o Media expresión de CD19
- o Requerido para el reordenamiento IgH
- o De los 32 genes inducidos por Pax5, 15 son exclusivos de Linfocito B



Ontogenia de Linfocitos B

pro-B:

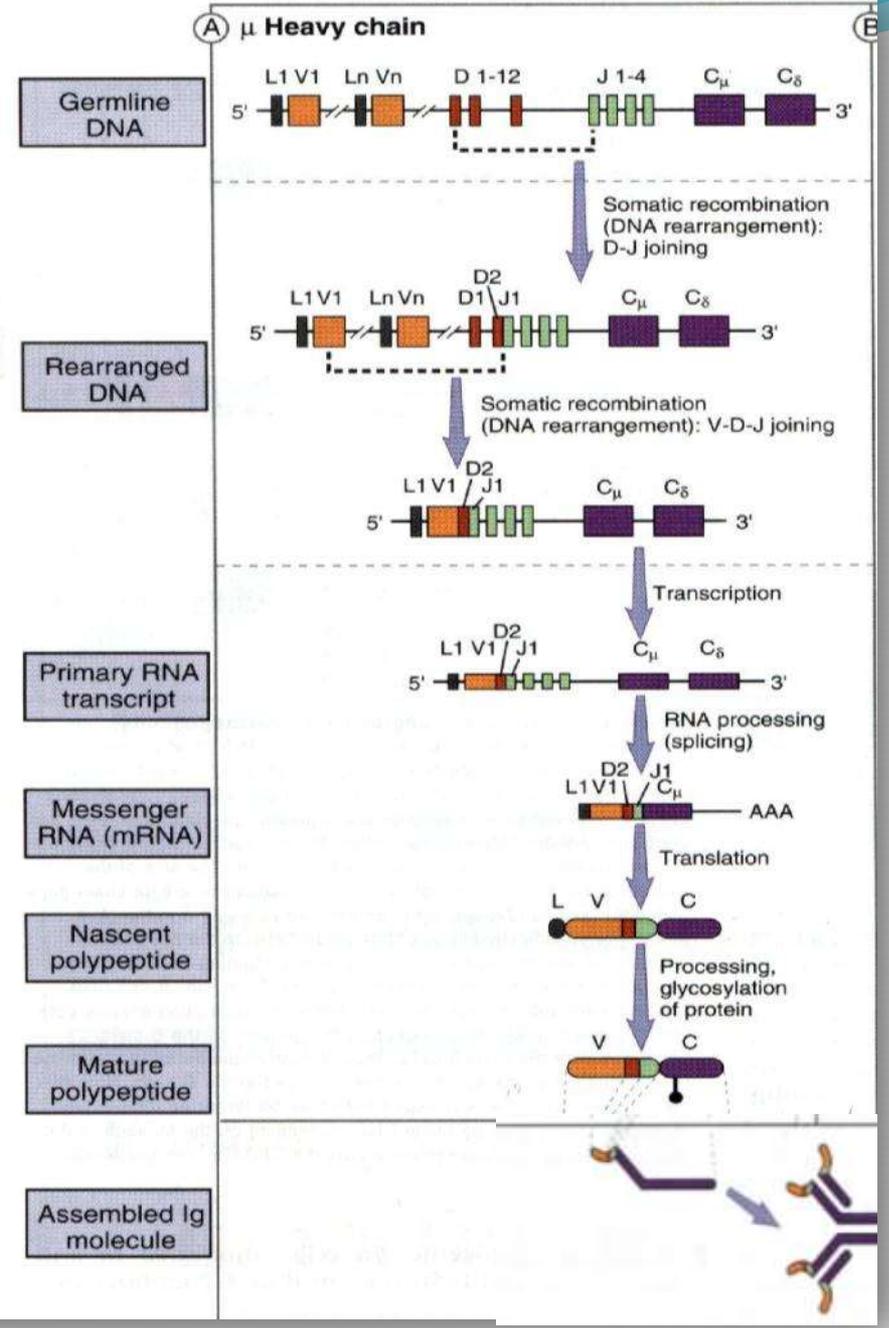
Reordenamiento genético de la cadena pesada de las inmunoglobulinas : cadena μ



IL-7R
IL-3R

Reordenamiento de los genes que codifican para las inmunoglobulinas

Dos alelos:
 el reordenamiento exitoso de uno de ellos inhibe el reordenamiento del otro: EXCLUSIÓN ALÉLICA



Ontogenia de Linfocitos B

pre-B:

-Expresión de la cadena pesada de la Ig (μ), en el citoplasma y membrana (pre-BCR) asociado con las cadenas sustitutivas (SL) (VpreB y $\lambda 5$)



Las señales del pre-BCR median la exclusión alélica del locus de la cadena pesada
-Reordenamiento genético de las cadenas livianas Ig

Linfocito B inmaduro:



Linfocito B IgM/IgD maduro:

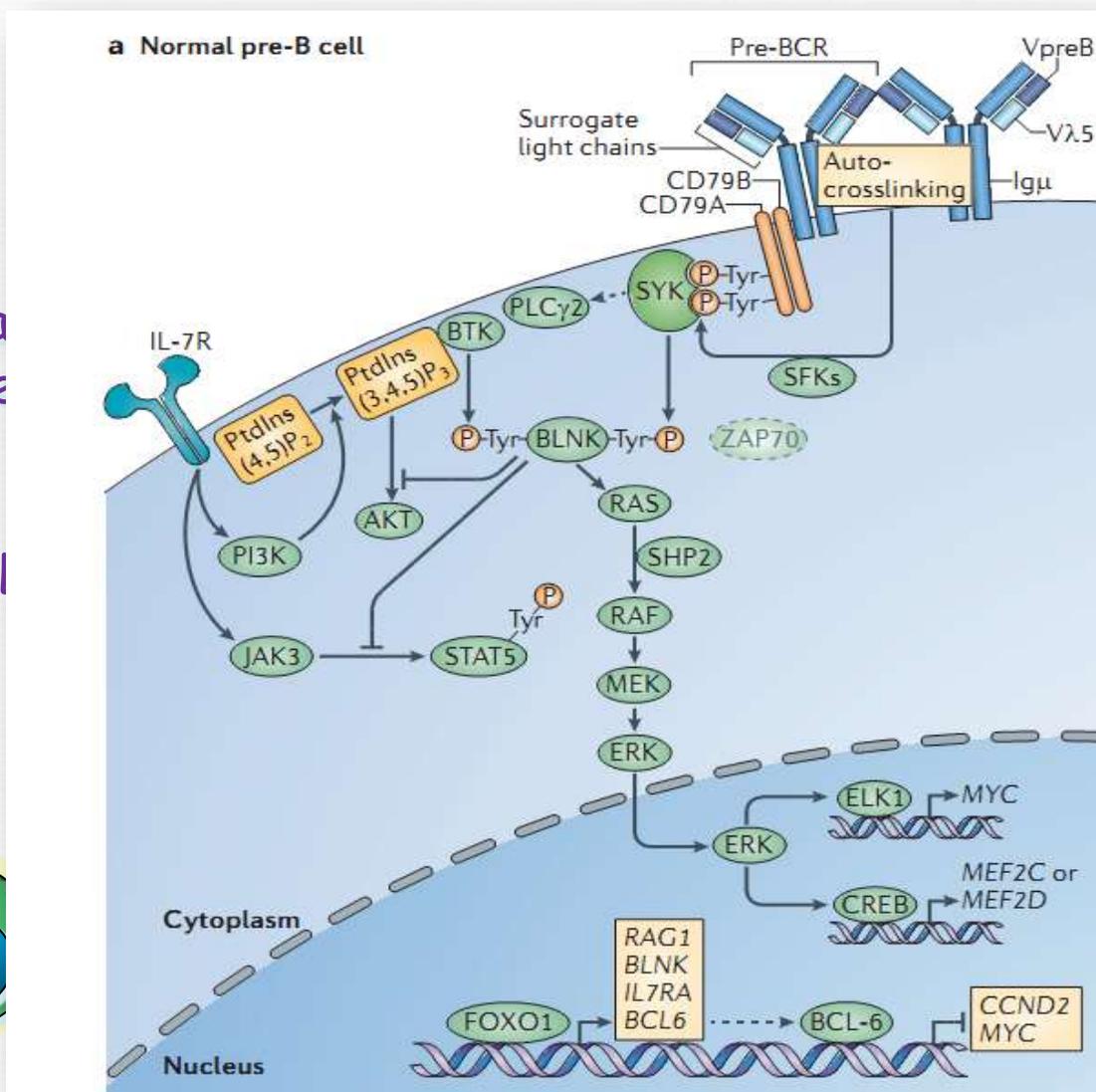
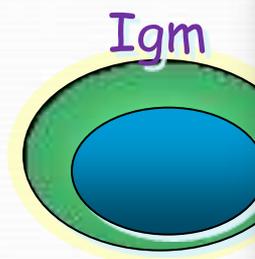


Ontogenia de Linfocitos B

pre-B:

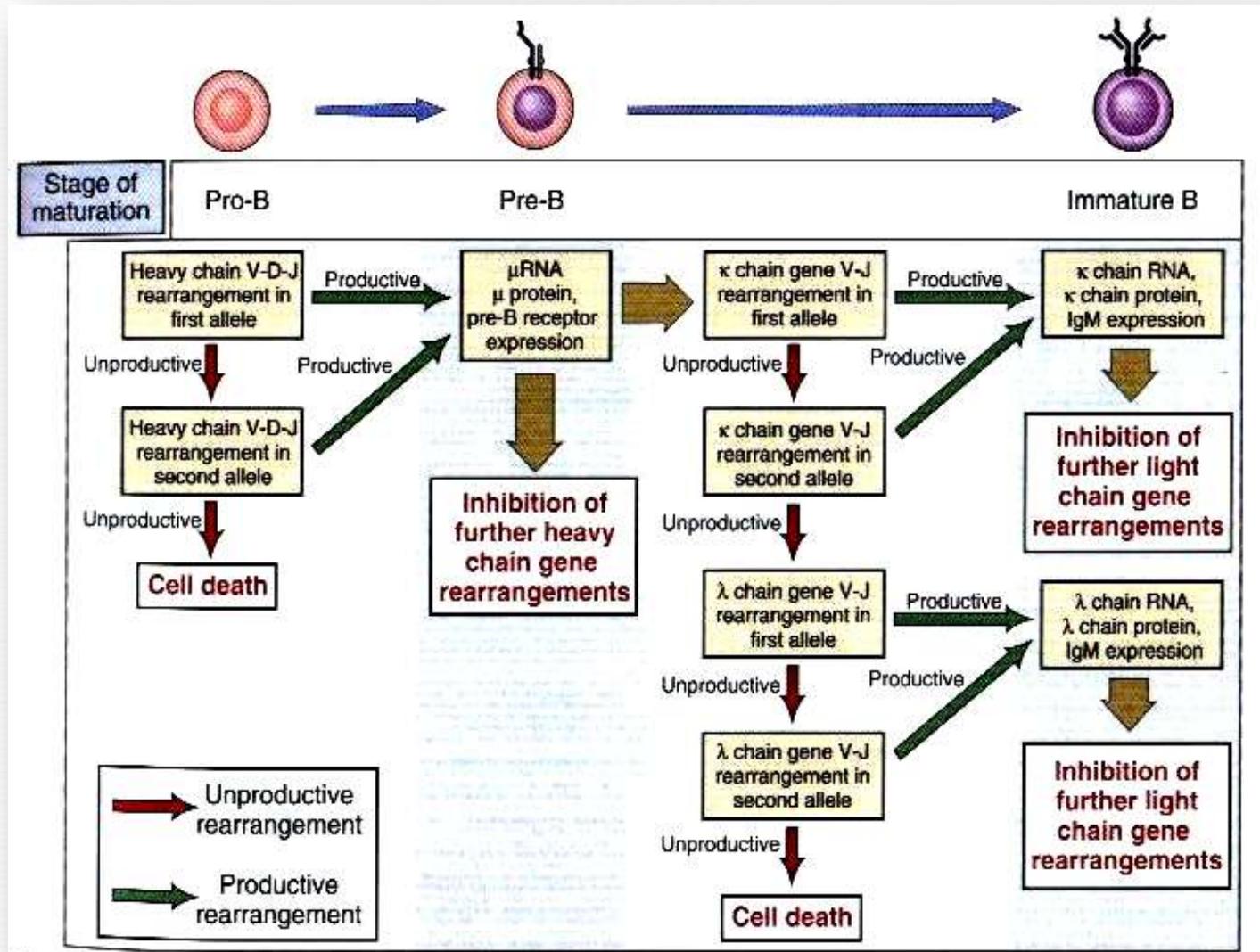
-Expresión de la cadena pesada de la Ig (μ), en el citoplasma y membrana (pre-BCR) asociado con cadenas sustitutivas (S μ) (VpreB y λ 5)

Linfocito B inmaduro:



Ontogenia de Linfocitos B

- Cadena pesada μ
- Cadenas liviana:
 - κ
 - λ



Ontogenia:

LINFOCITOS, mecanismos de selección

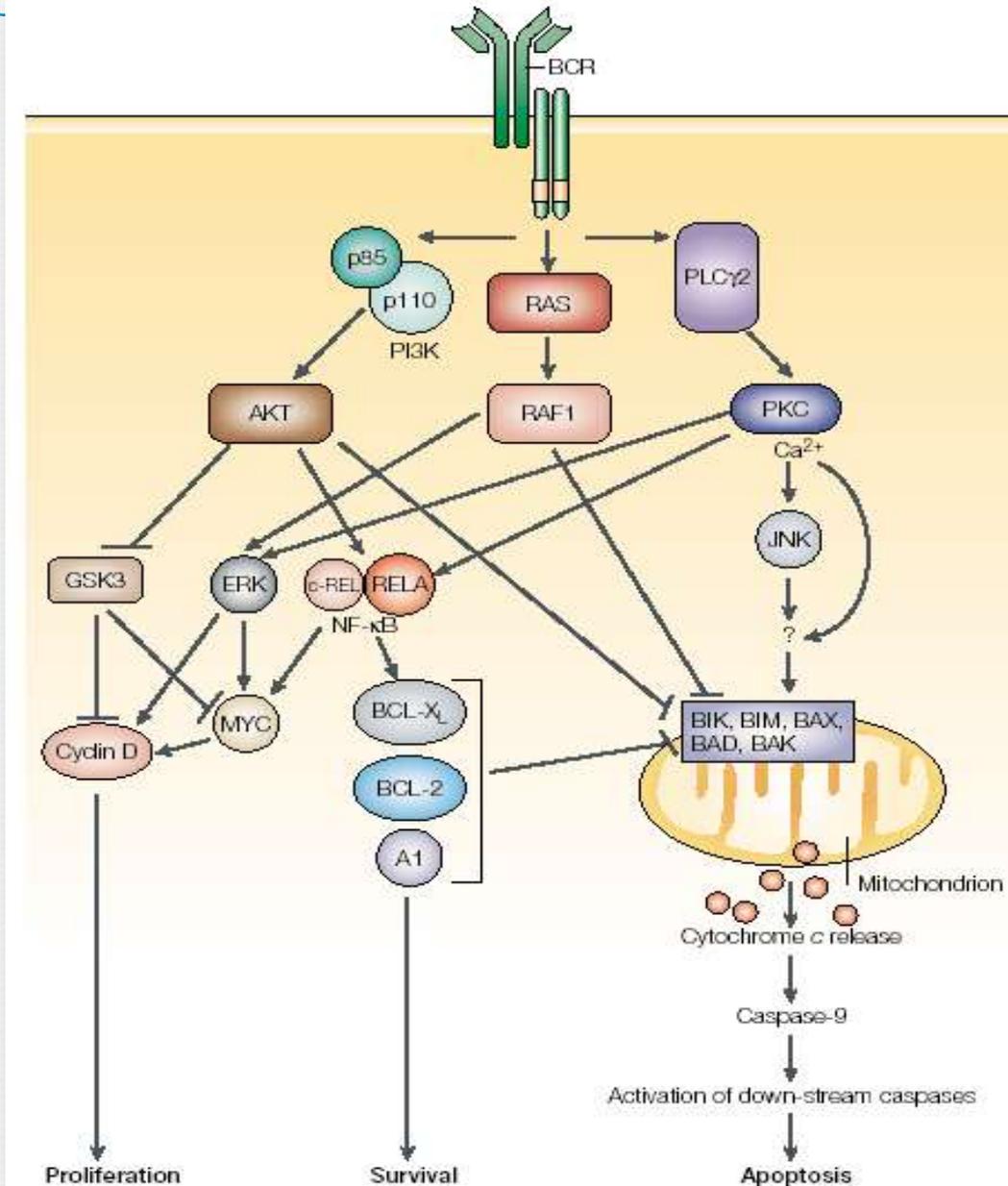
Selección positiva

Selección negativa:

- Muerte
- Anergia
- Re-edición del BCR

Escape de la selección negativa por cambio de la especificidad antigénica

- No es exclusivo de B, también se ha demostrado en T

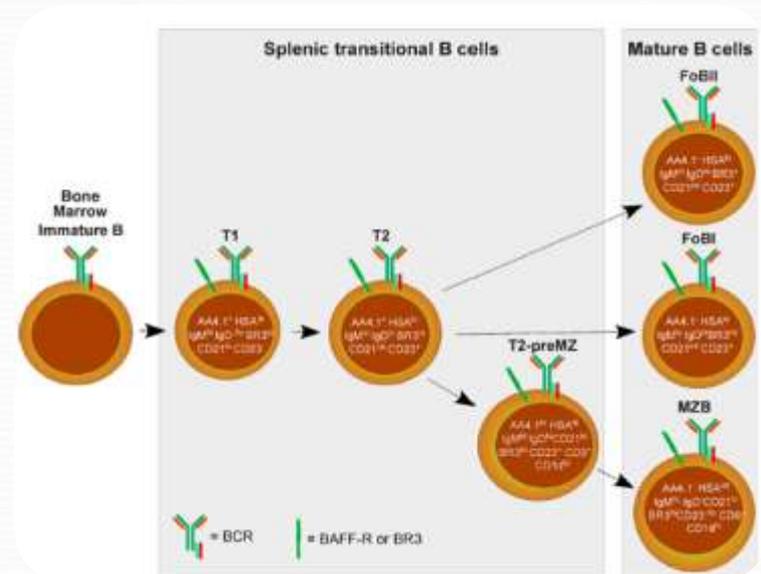
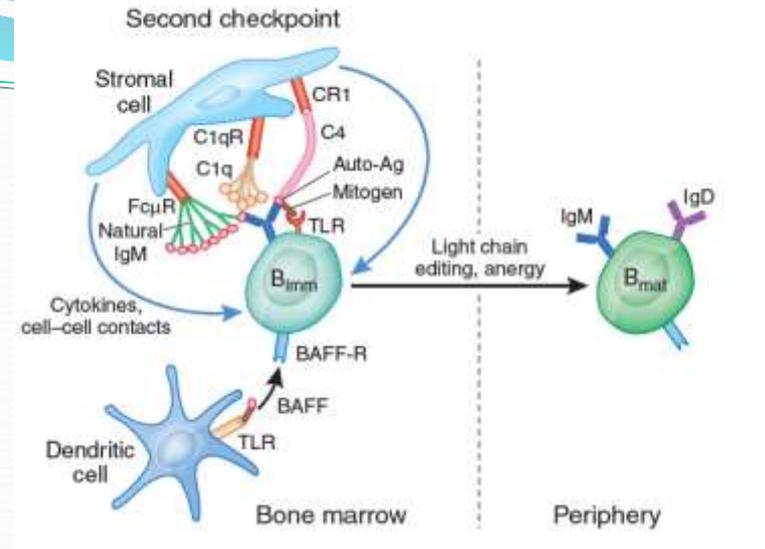


Ontogenia: LINFOCITO B

▶ Emigran de la MO (ya evaluadas?: selección positiva)

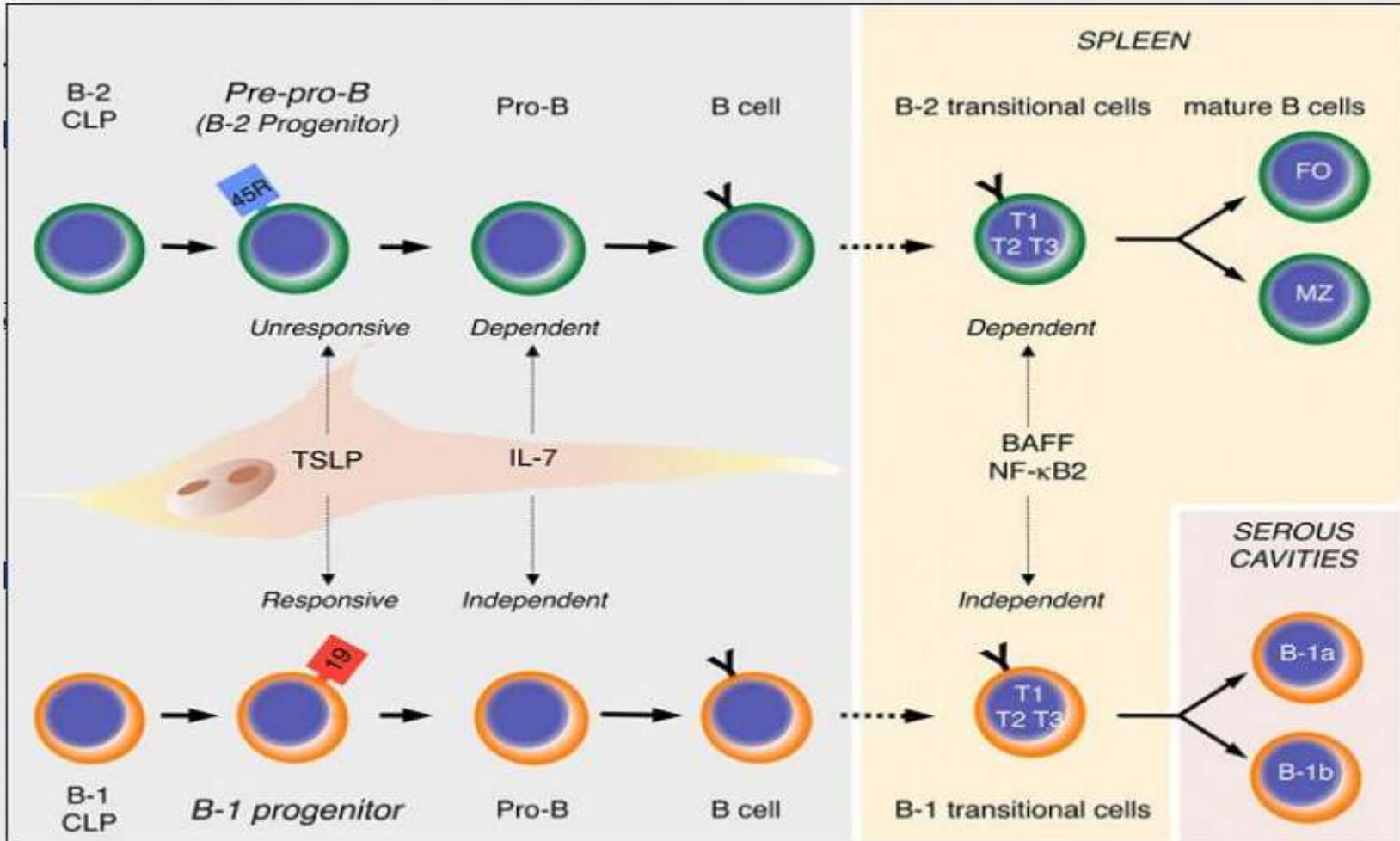
◦ Estadíos:

- T1: no expresa o tiene bajos niveles de IgD
 - Fase donde ocurre la selección negativa y la gran mayoría muere (autoreactivas) o re-editan BCR
 - Activación del BCR=apoptosis
- T2: entran y sobreviven en el bazo y co-expresan IgM/IgD, CD21, CD23

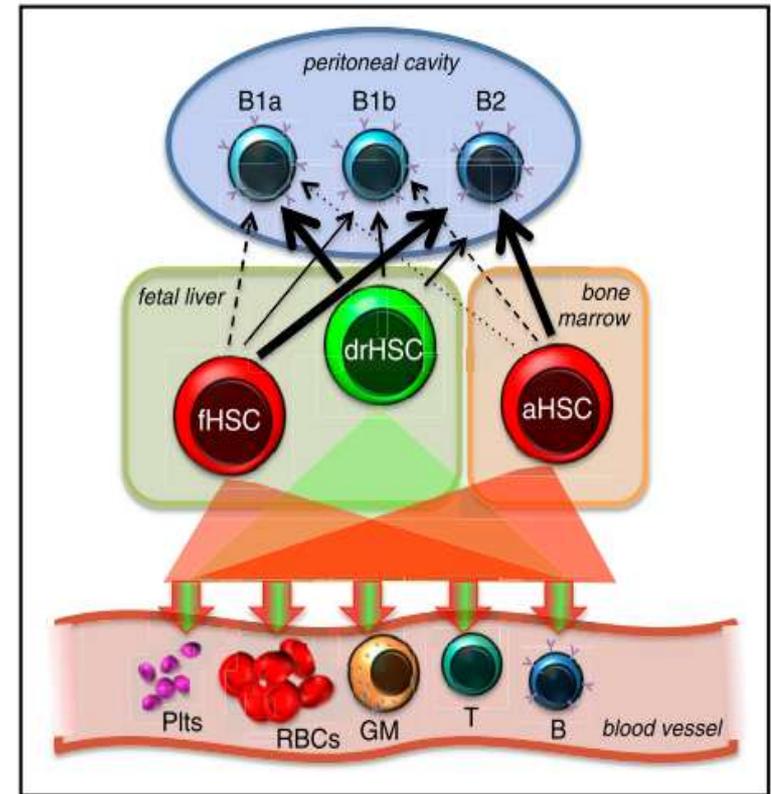
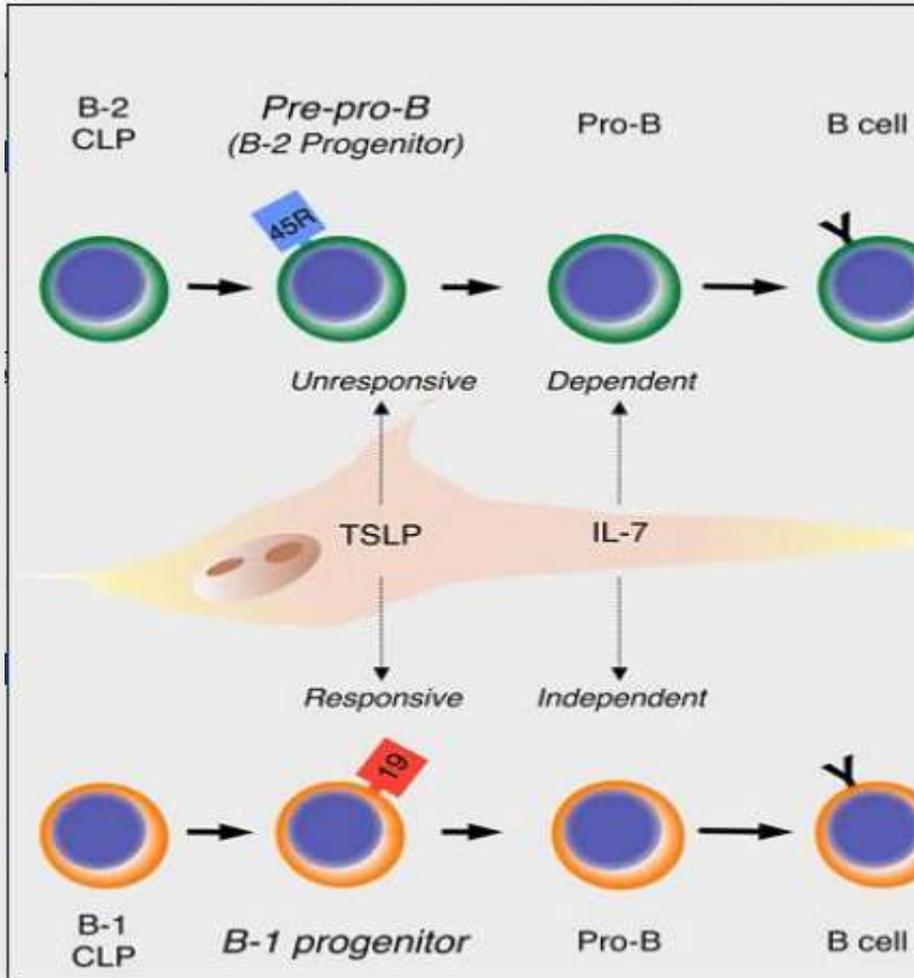


T2 se hace mas resistente a la apoptosis

Ontogenia: LINFOCITO B



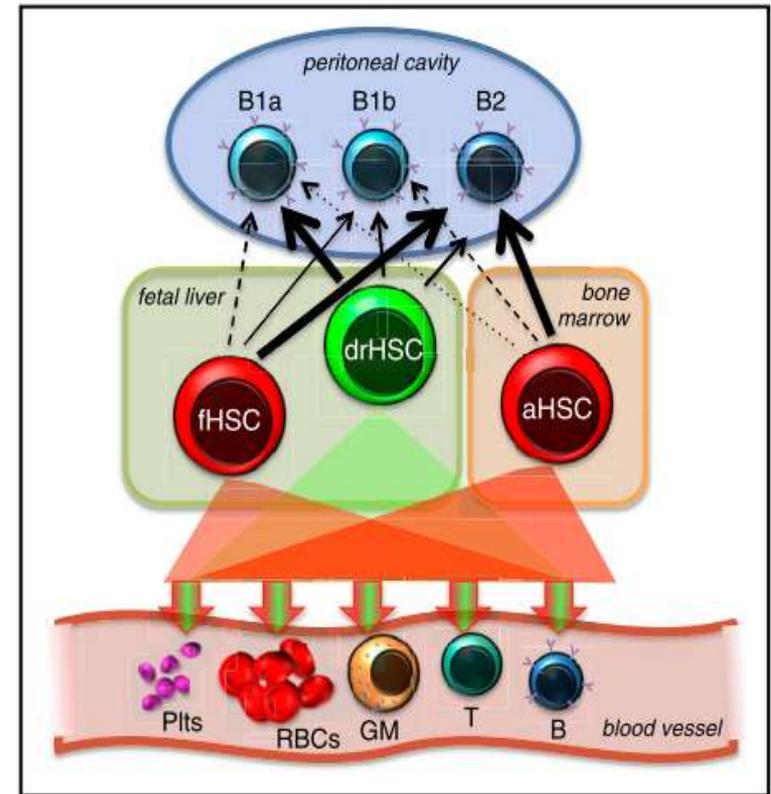
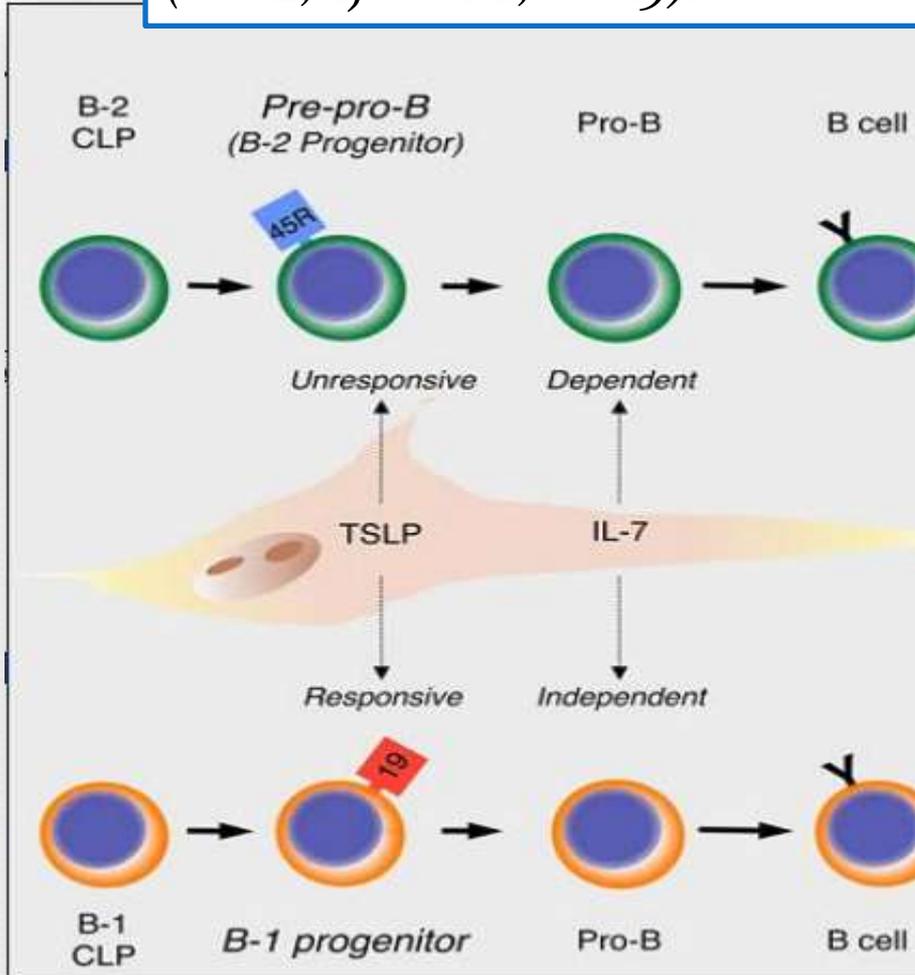
Ontogenia: LINFOCITO B



Blood. 2016;128(24):2765-2769;
Current Opinion in Immunology 2018, 51:24-31

Onto

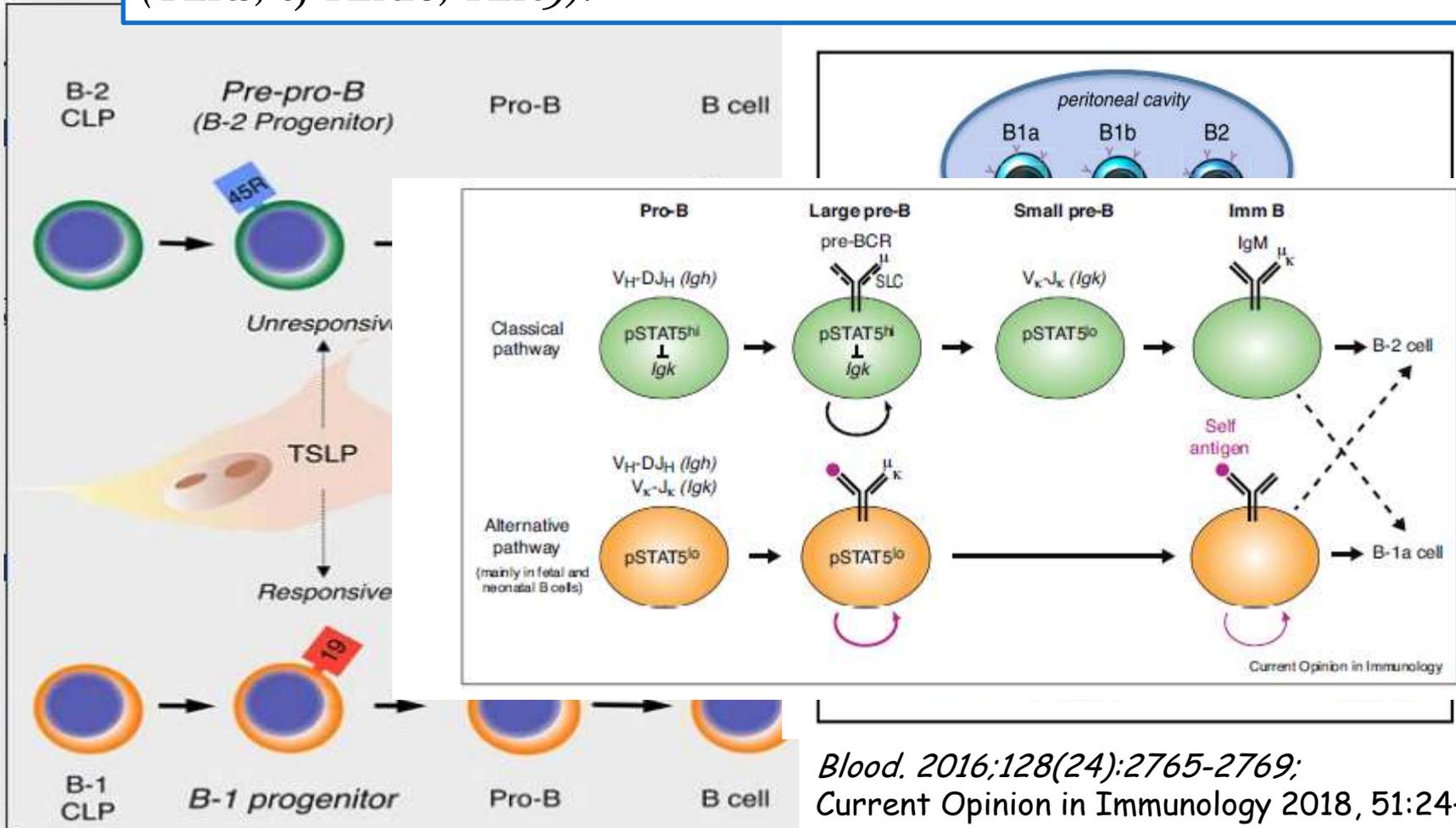
Los linfocitos B de MZ B son dependientes de las señales de myeloid differentiation primary response gene-88 (MyD88), IL-1 receptor-associated kinase 4 (IRAK₄), y Toll-IL-1 receptor domain-containing adaptor protein (TIRAP), señales de TLR (TLRs, ej TLR₁₀, TLR₉).



*Blood. 2016;128(24):2765-2769;
Current Opinion in Immunology 2018, 51:24-31*

Onto

Los linfocitos B de MZ B son dependientes de las señales de myeloid differentiation primary response gene-88 (MyD88), IL-1 receptor-associated kinase 4 (IRAK₄), y Toll-IL-1 receptor domain-containing adaptor protein (TIRAP), señales de TLR (TLRs, ej TLR₁₀, TLR₉).



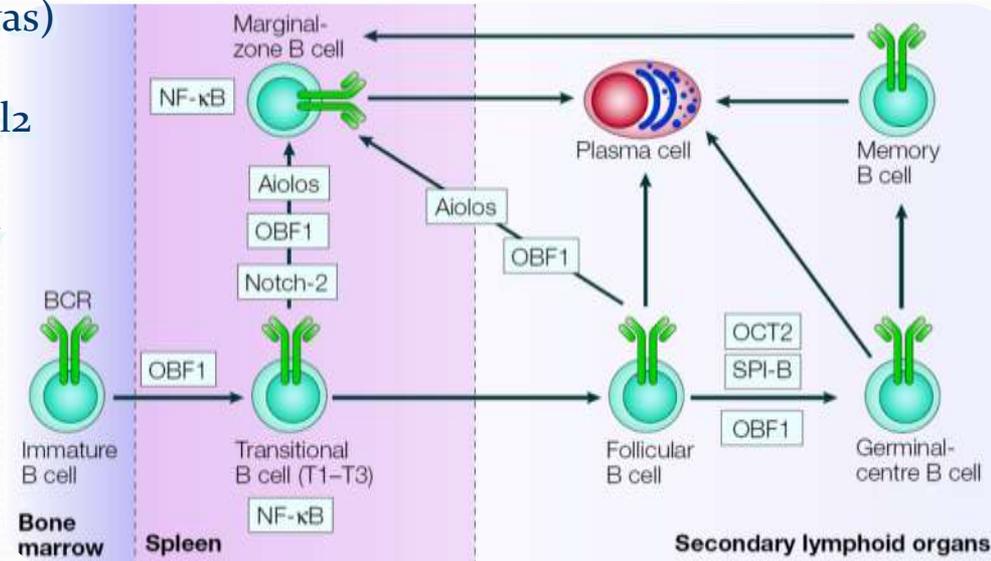
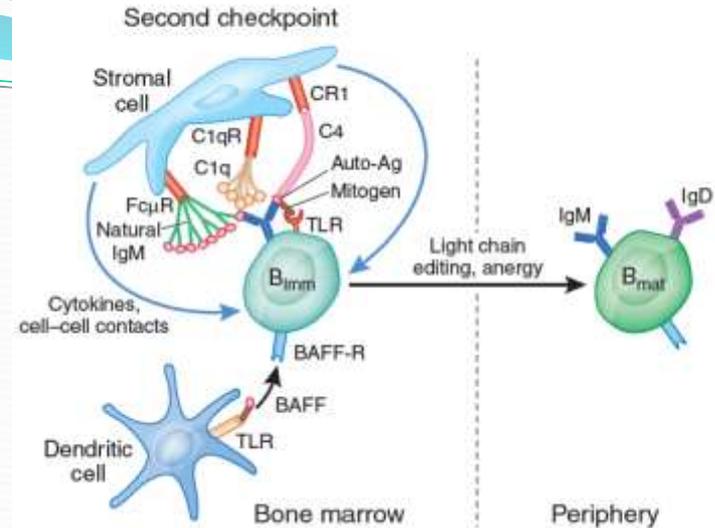
Blood. 2016;128(24):2765-2769;
 Current Opinion in Immunology 2018, 51:24-31

Ontogenia: LINFOCITO B

► Emigran de la MO (ya evaluadas?: selección positiva)

◦ Estadíos:

- T1: no expresa o tiene bajos niveles de IgD, CD21 y CD23
 - Fase donde ocurre la selección negativa y la gran mayoría muere (autoreactivas) o re-editan BCR
 - Altos niveles de Fas y ausencia de Bcl2
 - Activación del BCR=apoptosis
- T2: entran y sobreviven en el bazo y expresan IgM/IgD, CD21, CD23
 - Requieren de la ayuda de T y CD40 para sobrevivir
 - Activación del BCR=proliferación
- T3: CD23+ , bajos niveles de IgM



Notch2: Crítico en la entrada a la vía marginal

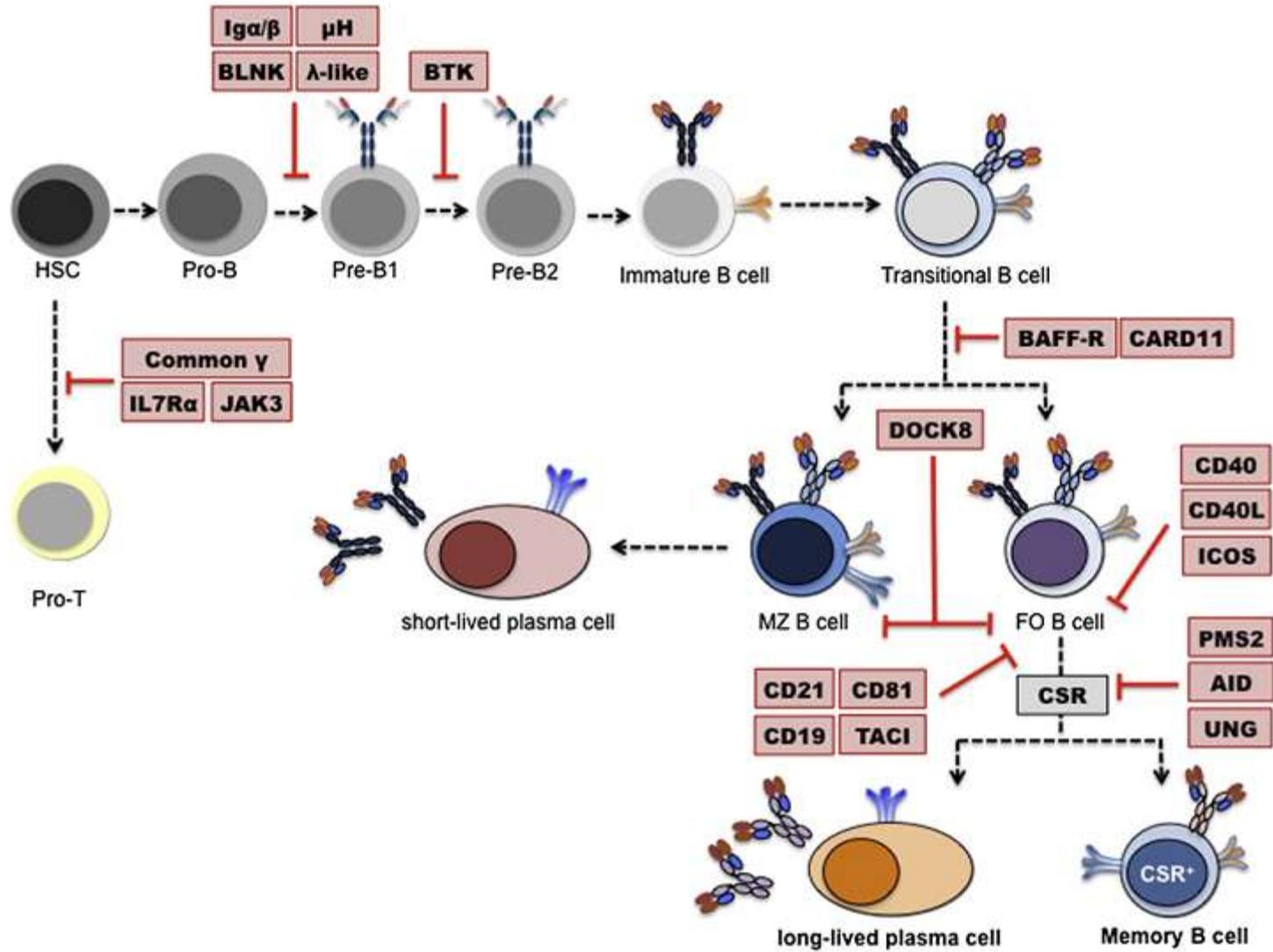
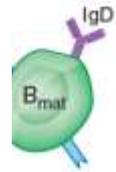
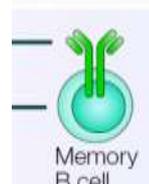


FIG 3. Genetic defects interrupting B-cell development. Genetic defects interrupting B-cell development at different stages are boxed in red.



hery



Memory B cell



Germinal-centre B cell

lymphoid organs

via

© 2009 Blackwell Publishing Ltd

Onto

Emig

eval

Est

7

I

7

e

7

Papel de BAFF-R es mediar la sobrevivida incrementando expresion de Bcl2, y su defecto se asocia con common variable immunodeficiency (CVID) con bajo numero de celulas B.

Onto

► Emig
eval

◦ Est

• 7

I

• 7

e

• 7

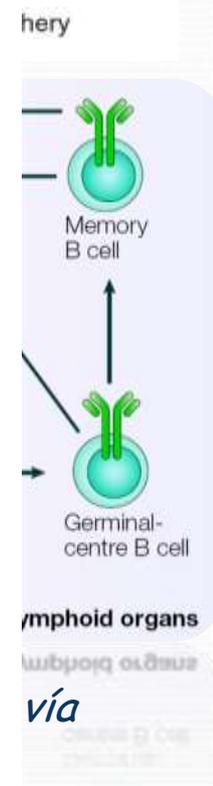
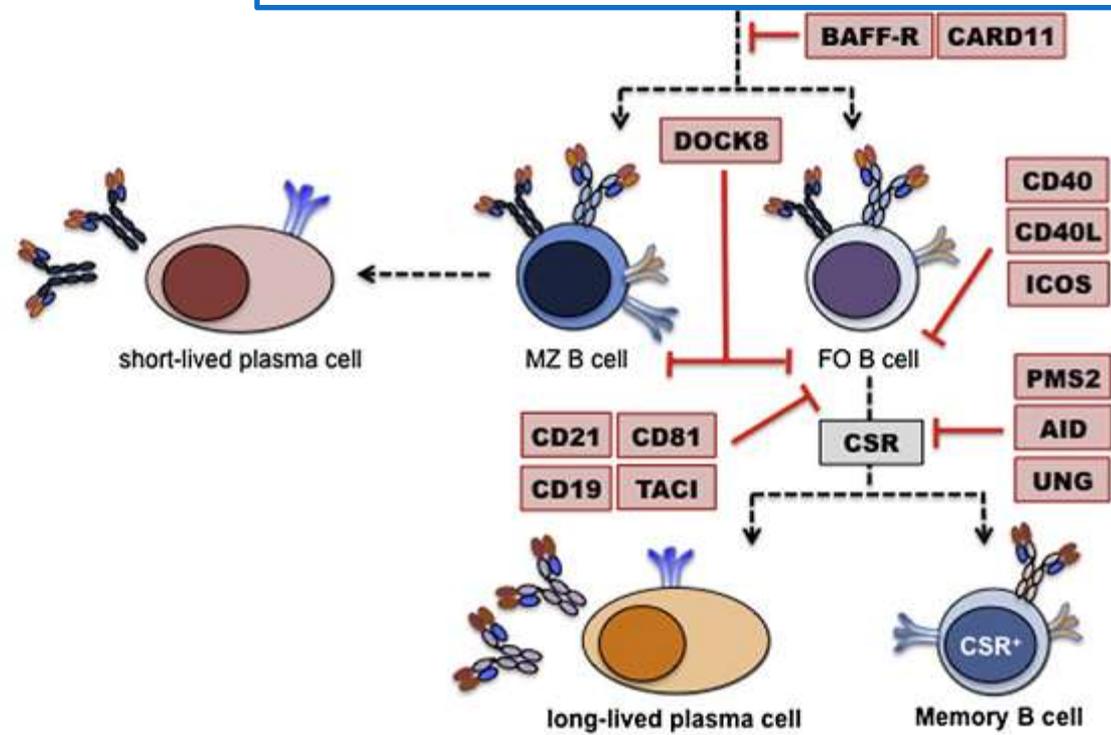
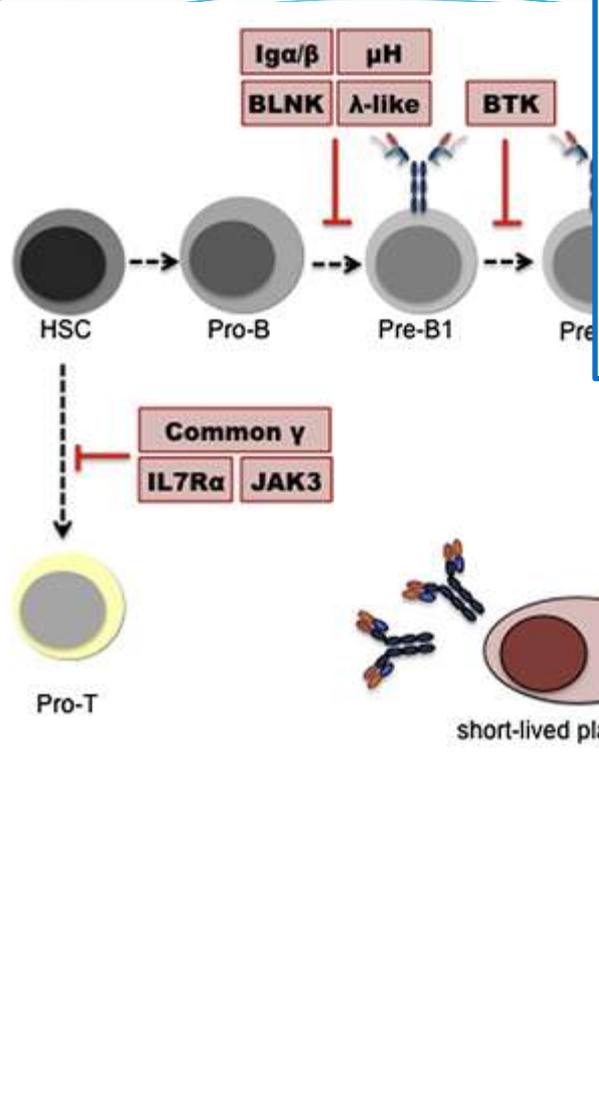


FIG 3. Genetic defects interrupting B-cell development. Genetic defects interrupting B-cell development at different stages are boxed in red.

Papel de BAFF-R es mediar la sobrevivida incrementando expresion de Bcl2, y su defecto se asocia con common variable immunodeficiency (CVID) con bajo numero de celulas B.

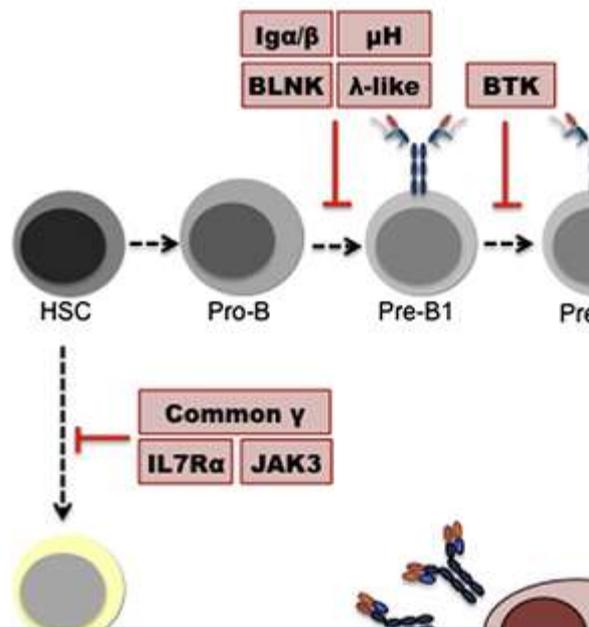
Onto

► Emig
eval

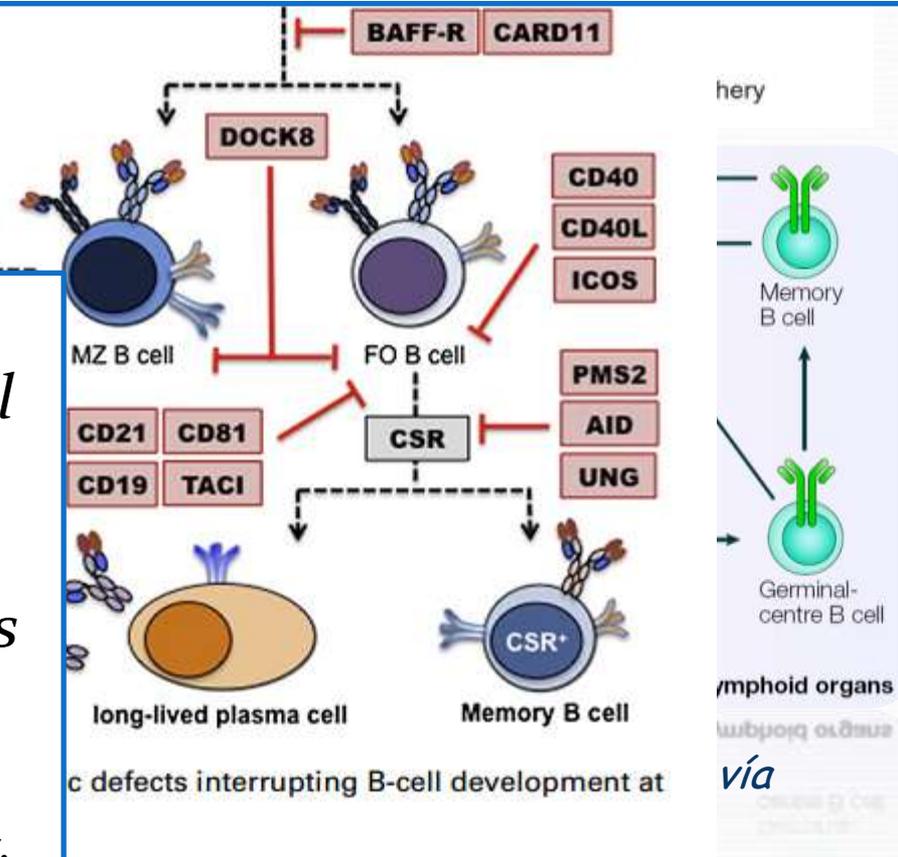
◦ Est

• T

I



- *Señalización via BCR y eje PI3K-AKT-FoxO1 es un punto de control crítico en esta etapa de desarrollo, facilitando la eliminación de los receptores de células B emergentes que reconocen antígenos propios*



Papel de BAFF-R es mediar la sobrevivida incrementando expresion de Bcl2, y su defecto se asocia con common variable immunodeficiency (CVID) con bajo numero de celulas B.

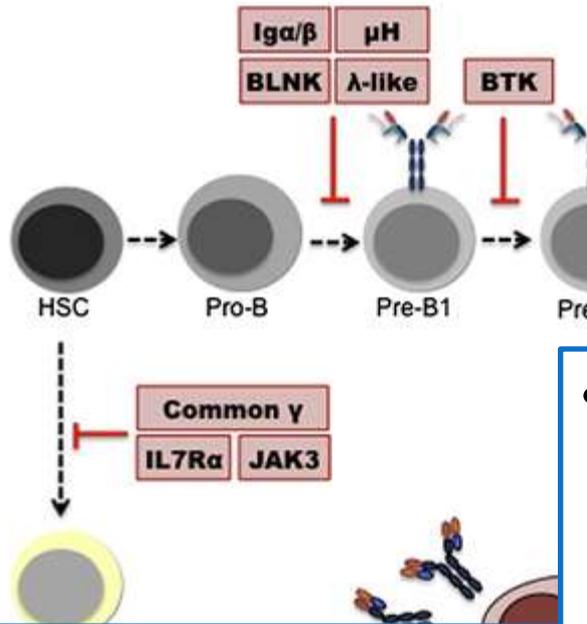
Onto

► Emig
eval

◦ Est

• T

I



• Re-edición del BCR:

- A partir del reconocimiento de un antígeno propio, el BCR sufre endocitosis, lo que resulta en caída de la señalización de PI₃K-AKT y re-expresión de **FOXO**, impulsado re-expresión de RAG1 y RAG2 y re-edición receptor.
- Eje PI₃K-AKT también está implicado en la inducción de anergia y/o delección clonal de las células B autorreactivas.

• Señalización via BCR y eje AKT-FoxO1 es un punto crítico en esta etapa de desarrollo, facilitando la eliminación de receptores de células B que reconocen antígenos

Ontogenia de linfocitos B: Subpoblaciones en la periferia

- B-1:
 - CD5+
 - Ubicadas preferencialmente en cavidad peritoneal
 - Potencialmente autorreactivas
 - No son eliminadas por antígenos propios
- B-2
 - Predominan en la periferia
 - CD5-

Surface marker	Peripheral B cell subset					
	T1	T2	MR/B-2	B-1a	B-1b	MZ
IgM	+++	++	+	+++	+++	+++
IgD	+/-	+	+++	+/-	+/-	+/-
493/AA4.1	++	+	-	-	-	-
B220(6B2)	+	++	+++	+/+++	+/+++	++
CD21	+/-	+	++	+/-	+/-	+++
CD23	-	+	++	++/- ^a	++/- ^a	-
HSA(J11d/30F1)	+++	++	+	++	++	++
CD43	+/-	-	-	++/- ^a	++/- ^a	
CD5	-	-	-	+	-	-
CD11b/Mac-1	-	-	-	+ ^b	+ ^b	-

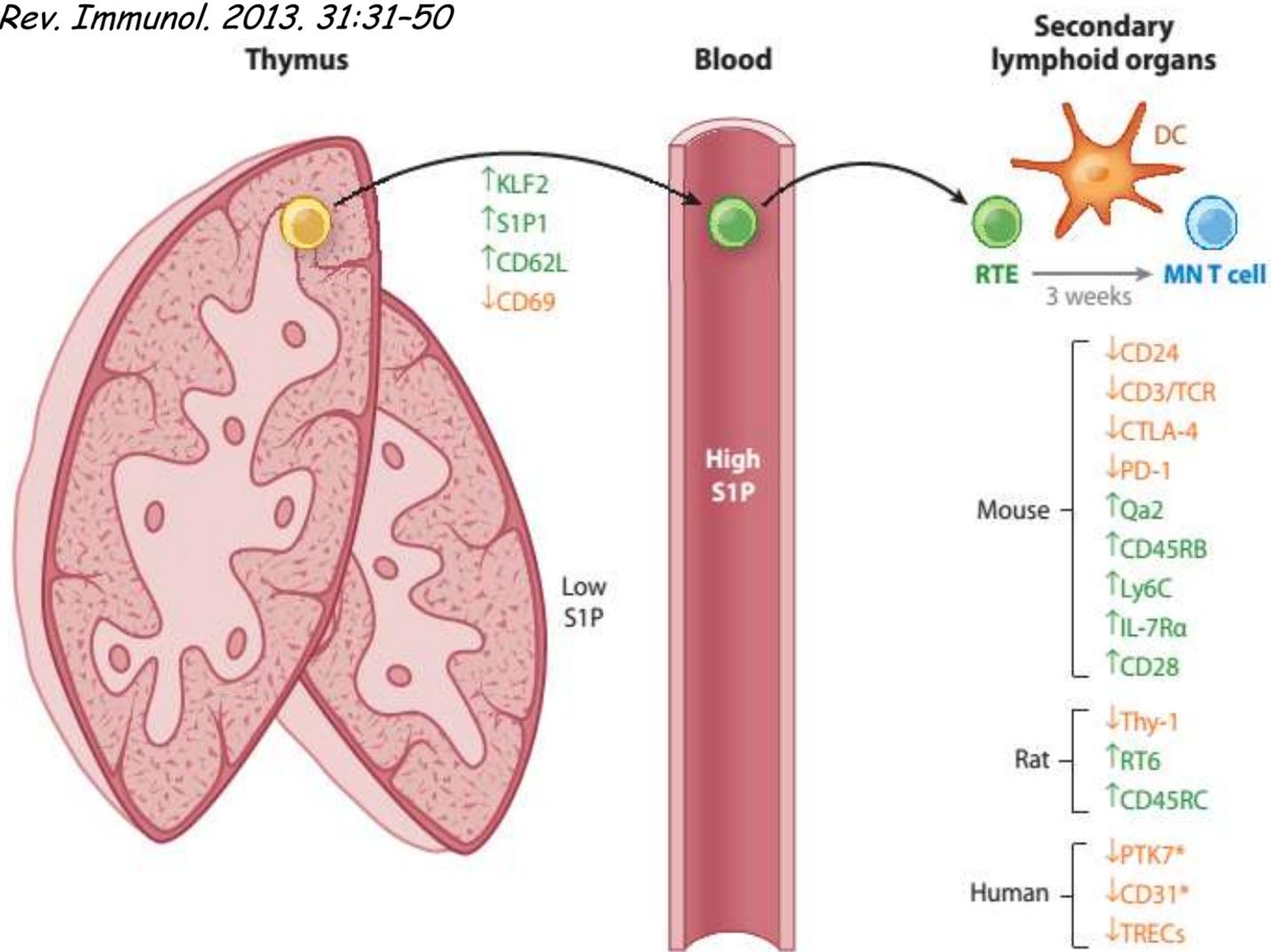
^a part are ++ and part are -.

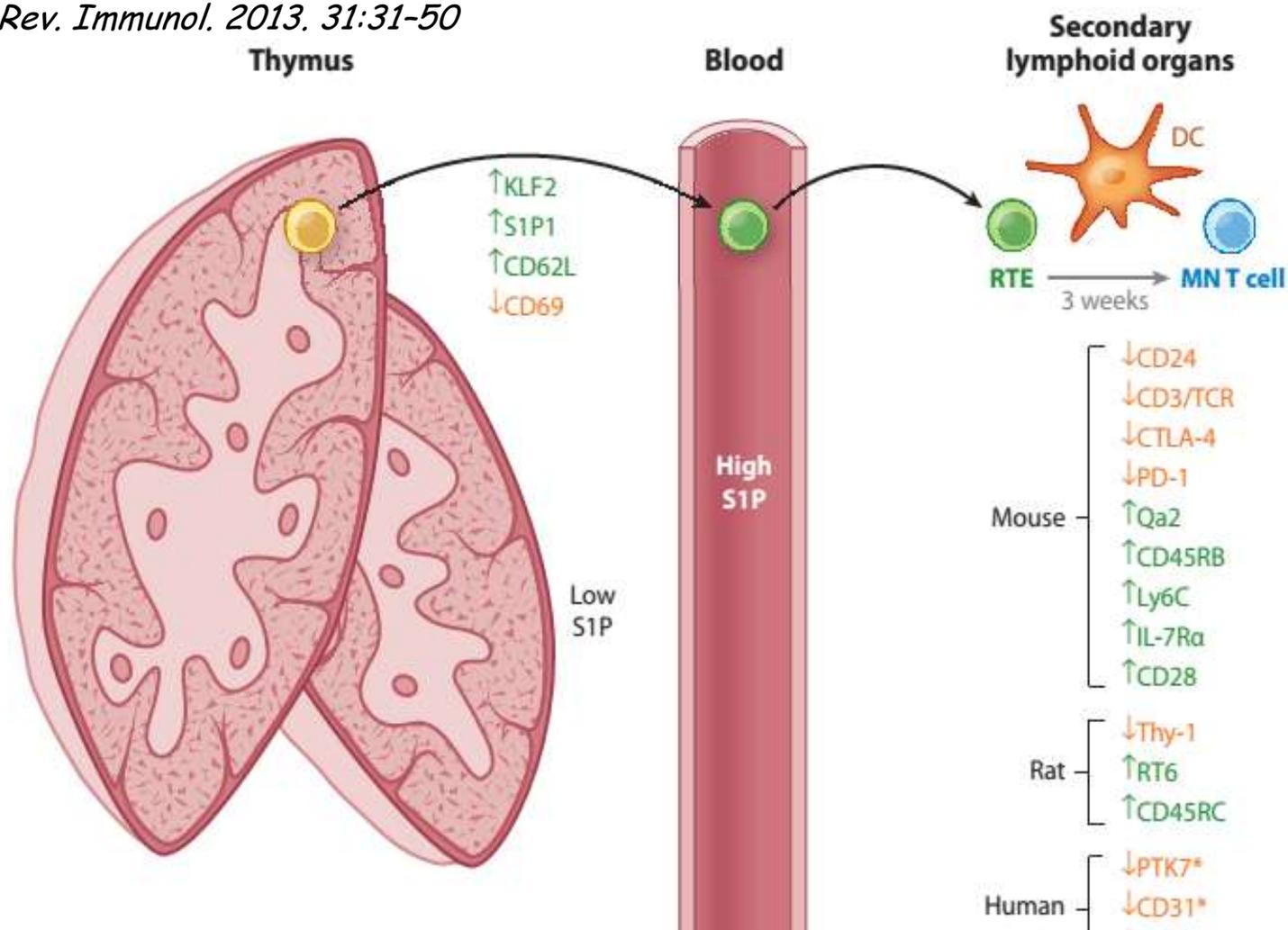
^b Only in peritoneal cavity; B-1 cells are CD11b/Mac-1⁻ in spleen.

T1, T2 = transitional (maturing) B cells.

MR = mature recirculating B cells.

MZ = marginal zone B cells.

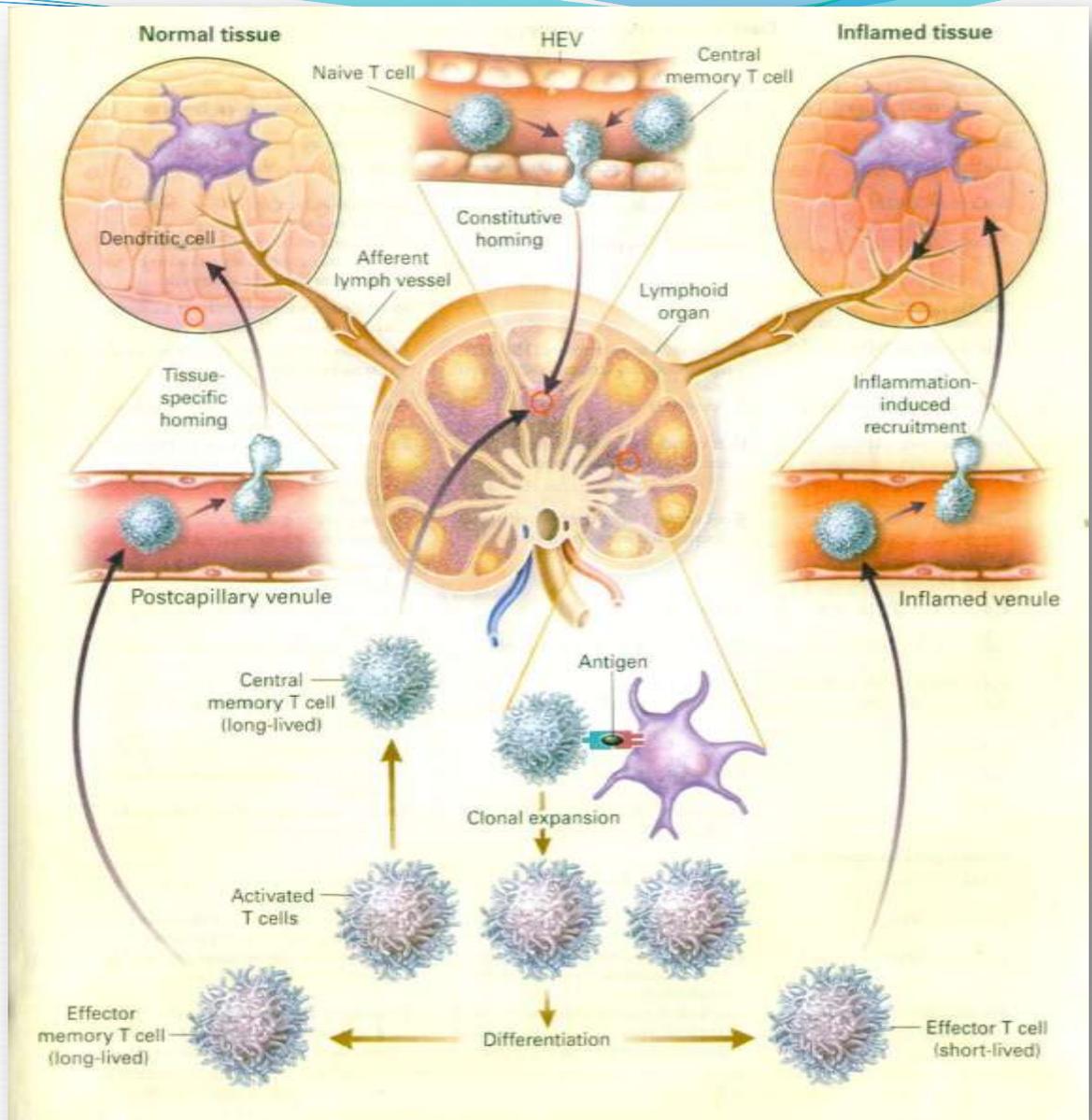




Solo 1-5% de los timocitos que sobreviven, sin embargo una vez que pasan la selección positiva, permanecen 2 días en el timo.

Para ser liberados requieren incrementar la expresión de Kruppel-como factor de 2 (KLF2) un factor de transcripción que dirige la expresión de esfingosina-1-fosfato de receptor-1 (S1P1)

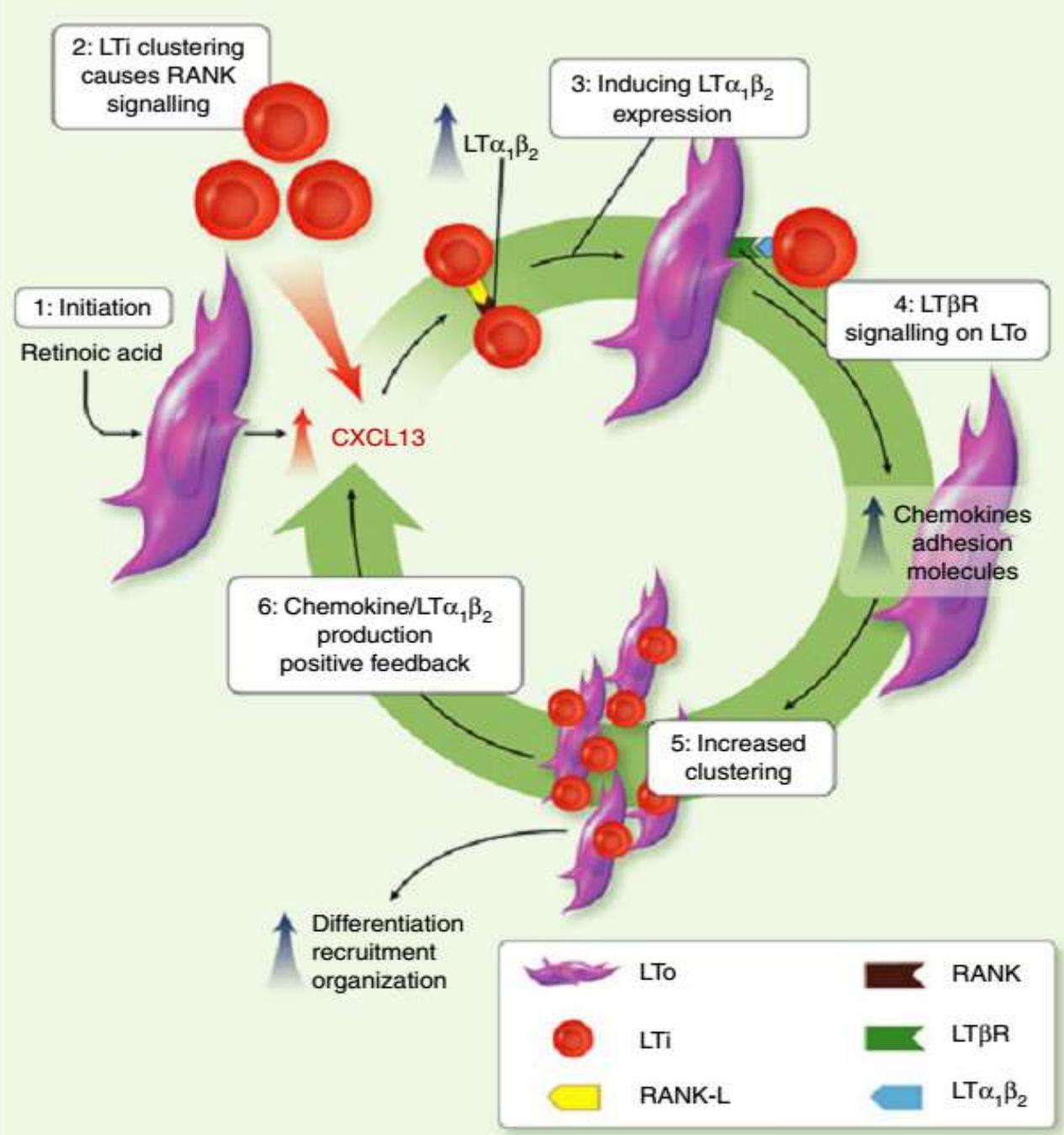
¿Que eventos regulan la migración y alojamiento dentro de un tejido o de un tejido a otro?



COLONIZACIÓN

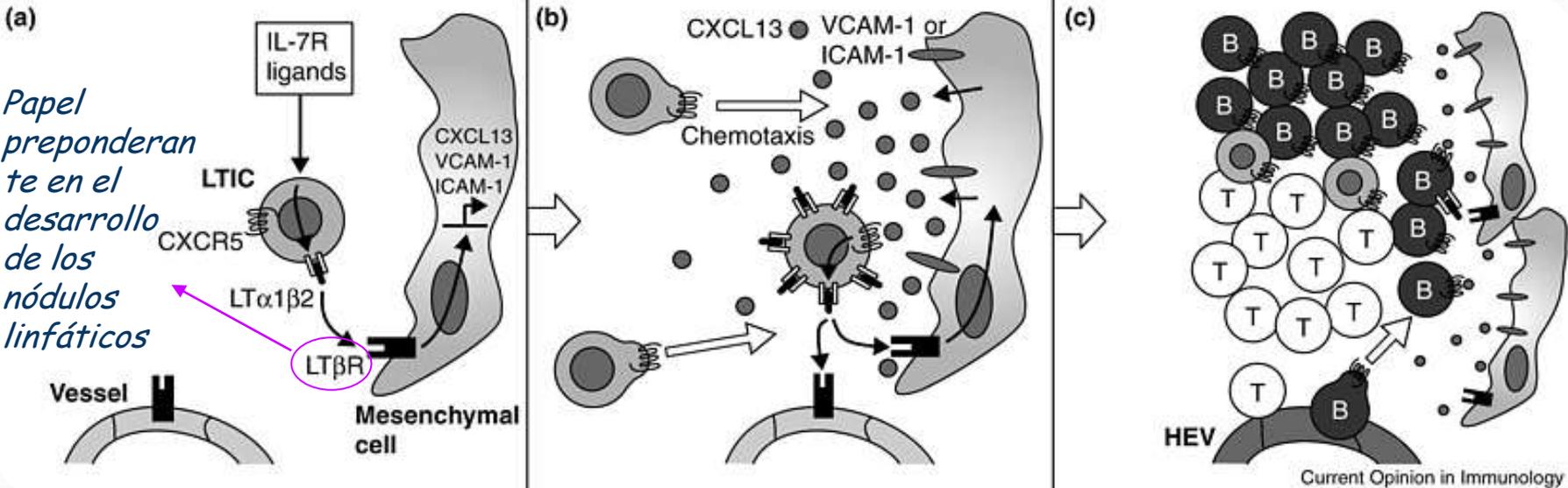
Las *Lti* (inductoras de tejido linfoide) $CXCR5^+$ son reclutadas a los LN en formación y en presencia de $CXCL3$ se activa receptor activador of nuclear factor- κ B ligand (RANKL), e induce la expresión de linfotoxina $\alpha_1\beta_2$ y del receptor de $LT\beta R$ sobre $LT\beta$, induce a las células estromales a diferenciarse en *Lto* (organizadores del tejido linfoide) e incrementar expresión de $CXCL13$, $CCL19$ and $CCL21$ y moléculas de adhesión

CXCR5 y su ligando favorece la colonización de los LN.



COLONIZACIÓN DE ÓRGANOS LINFOIDES SECUNDARIOS

CD45+CD4+CD3-, células colonizantes e inductoras de la organogénesis de los tejidos linfoides secundarios (atraídas por CXCL13, CCL19 y CCL21)



Papel preponderante en el desarrollo de los nódulos linfáticos

Inducción de moléculas de adhesión

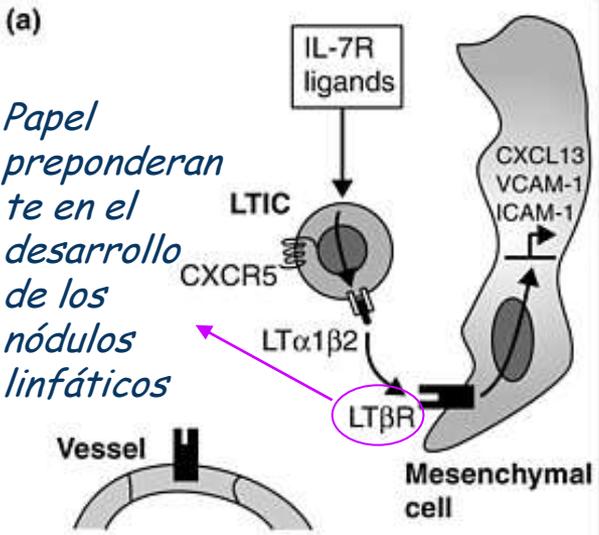
Acúmulo de células inductoras de tejido linfoide

Colonización por linfocitos T y B

CXCR5 y su ligando CXCL13: crucial en el desarrollo de órganos linfoides. Favorecen formación de HEV y reclutamiento de linfocitos B

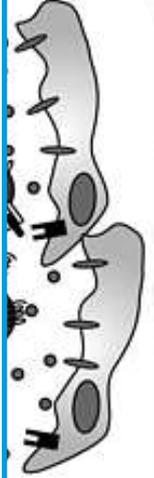
COLONIZACIÓN DE ÓRGANOS LINFOIDES SECUNDARIOS

CD45+CD4+CD3-, células colonizantes e inductoras de la organogénesis de los tejidos linfoides secundarios (atraídas por)



Papel preponderante en el desarrollo de los nódulos linfáticos

Celulas mesenquimaticas derivadas de células estromales: 1. Celulas dendriticas foliculares (FDCs), 2. células reticulares marginales y 3. células reticulares fibroblasticas (FRCs).



Inducción de moléculas de adhesión

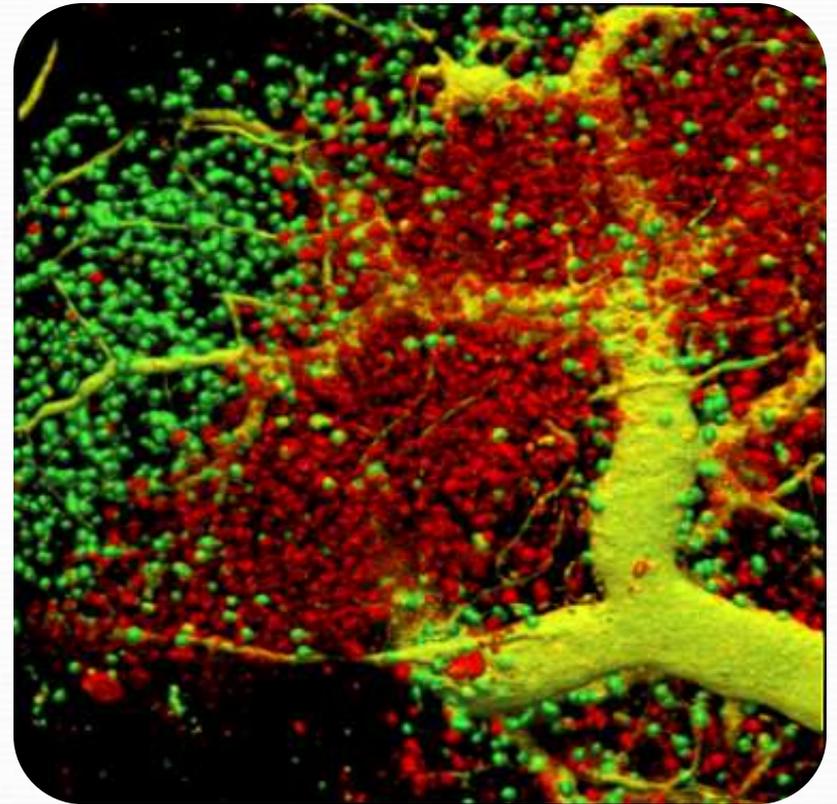
Acúmulo de células inductoras de tejido linfoide

Colonización por linfocitos T y B

CXCR5 y su ligando CXCL13: crucial en el desarrollo de órganos linfoides. Favorecen formación de HEV y reclutamiento de linfocitos B

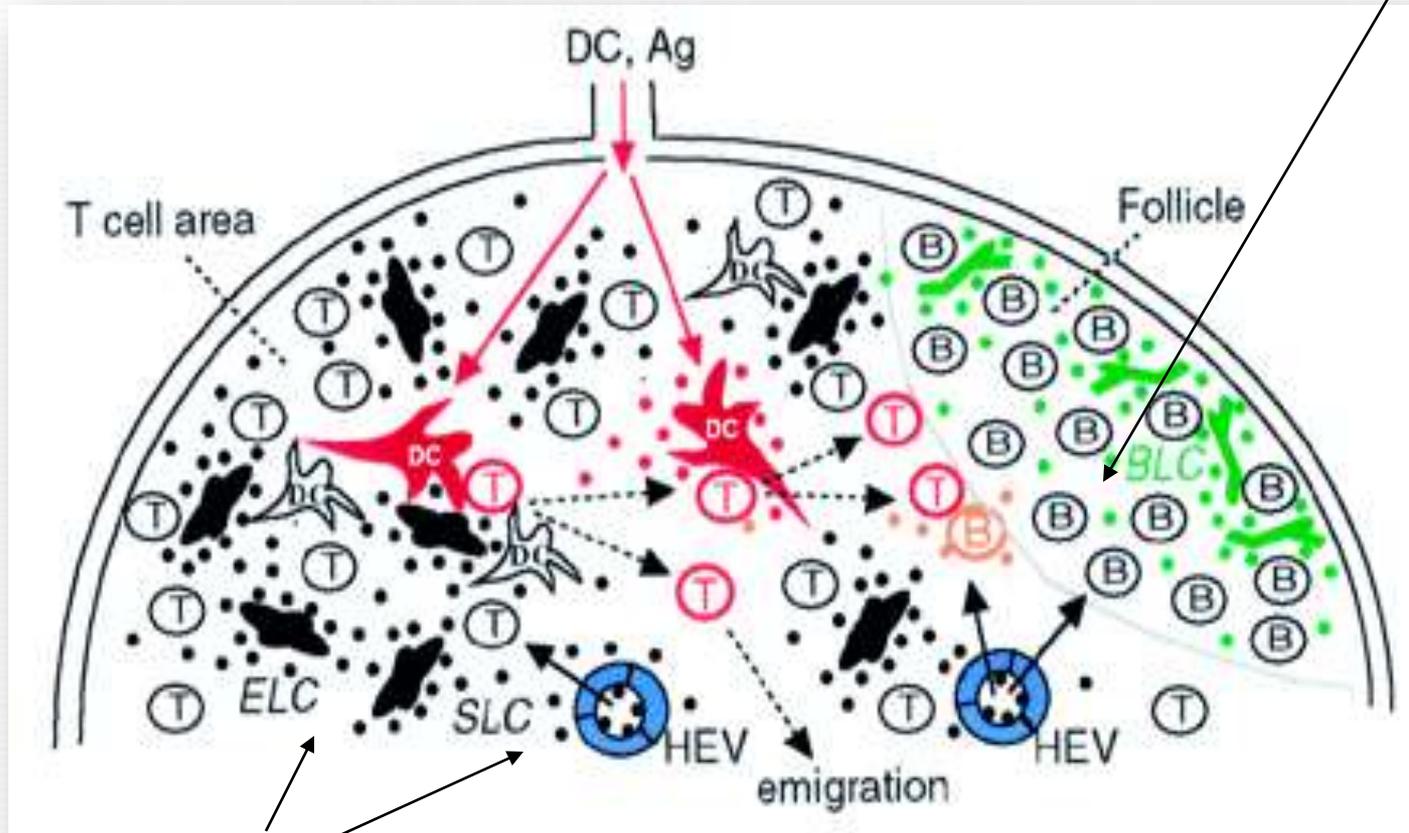
Recirculación y alojamiento de los leucocitos: ¿De qué depende?

- Qué determina esta distribución y tráfico diferencial?
 - Expresión y activación diferencial de receptores de quimiocinas y de integrinas
- Interacciones entre las células endoteliales, la matriz extracelular, quemokinas y las moléculas de adhesión



Migración celular: QUEMOKINAS

CXCR5: expresado sobre Th, permitir interacción con células B

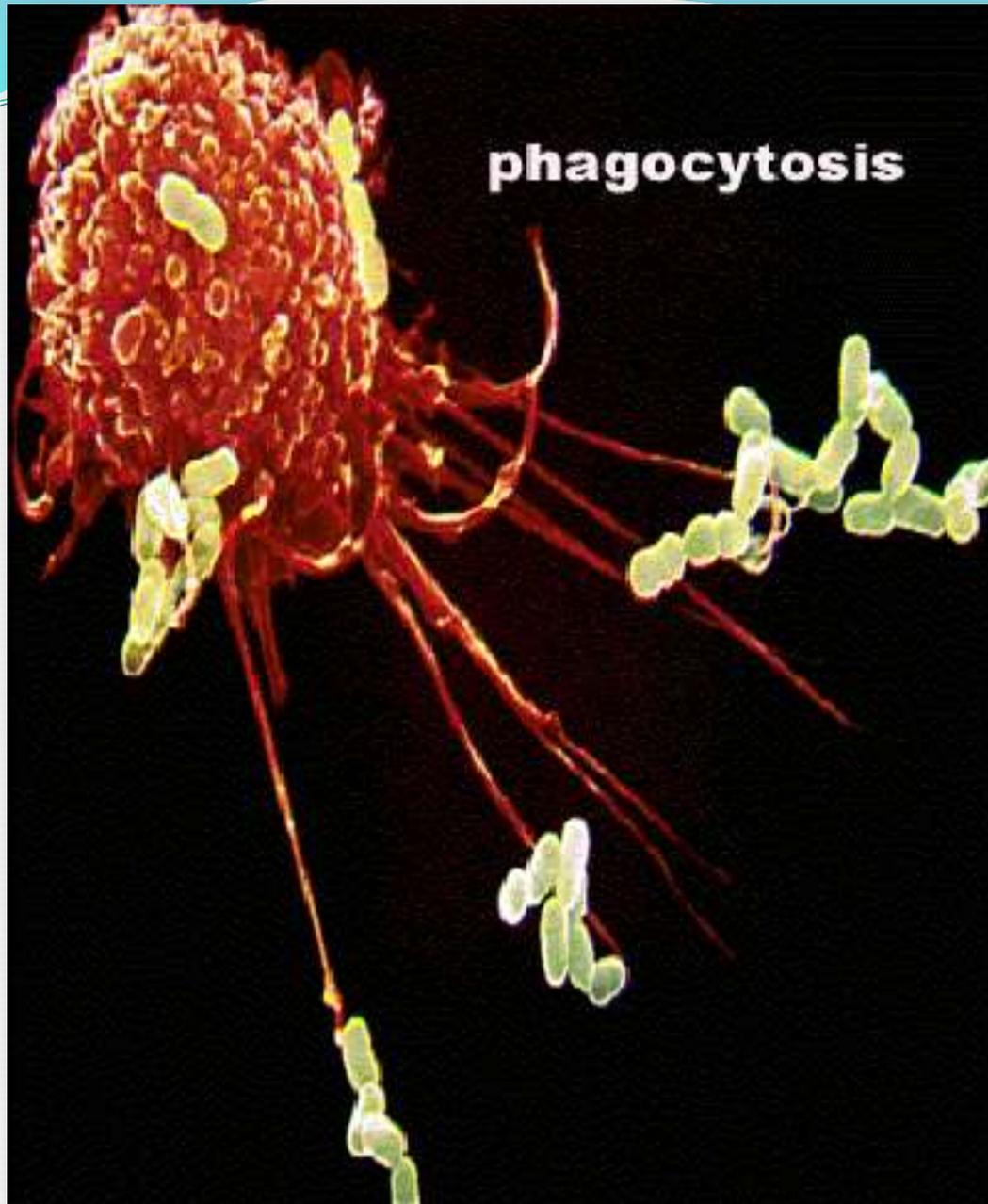


•Durante la activación inicial los linfocitos pierden el receptor CCR7 y adquieren otros, lo que le permite salir hacia los tejidos inflamados

CCR7:
Expresado sobre los linfocitos T "naive" y DC maduras

Órganos secundarios

- Función:
 - Facilitan el trabajo de los linfocitos
 - Sitios de encuentro entre células presentadoras de antígeno (APC) y linfocitos
 - Proveen el microambiente adecuado para la expansión de linfocitos T
 - Optimizan la activación de linfocitos B “naive”



Todo el proceso de ontogenia permite a los linfocitos estar preparados para reconocer de manera específica a los antígenos extraños