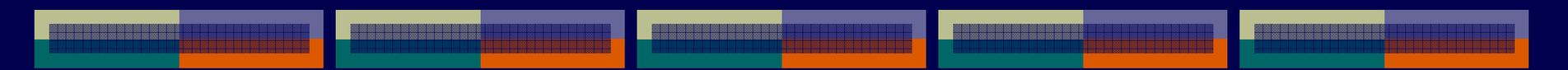


MECANISMOS DE AMPLIFICACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE



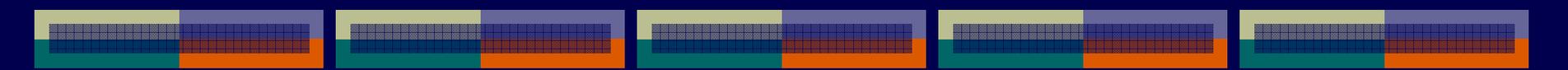
Dra Morella Bouchard
IDIC-ULA



INMUNIDAD INNATA

PRIMERA LÍNEA DE DEFENSA CONTRA LAS INFECCIONES

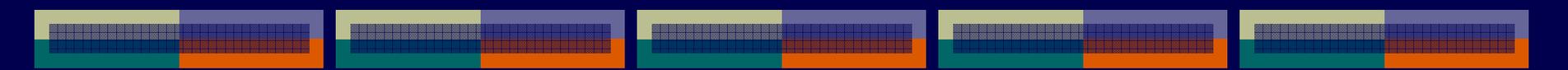
- La inmunidad innata estimula la respuesta inmunitaria adaptativa
 - El sistema inmune adaptativo produce señales y componentes que estimulan e incrementan la efectividad de la respuesta innata
- 



INMUNIDAD INNATA

COMPONENTES DE LA INMUNIDAD INNATA

- Barreras: Capas Epiteliales, Defensinas, Linfocitos intraepiteliales
 - Células efectoras: **Neutrófilos, Macrófagos**, Células NK
 - Proteínas efectoras: **Complemento**, colectina, proteína C reactiva, factores de coagulación
 - Citoquinas: TNF, IL-1, quimiocinas, IFN α - β y γ , IL-12, IL-15, IL-10, TGF β
- 



INMUNIDAD INNATA

LA RESPUESTA INFLAMATORIA ES LA REACCIÓN LOCAL INICIAL DE LA INMUNIDAD INNATA

LA FUNCIÓN DE LA INFLAMACIÓN ES DESTRUIR LOS MICROORGANISMOS INVASORES PONIENDO EN CONTACTO LAS CÉLULAS EFECTORAS ACTIVADAS CON LOS MICROORGANISMOS EN UN TEJIDO INFECTADO



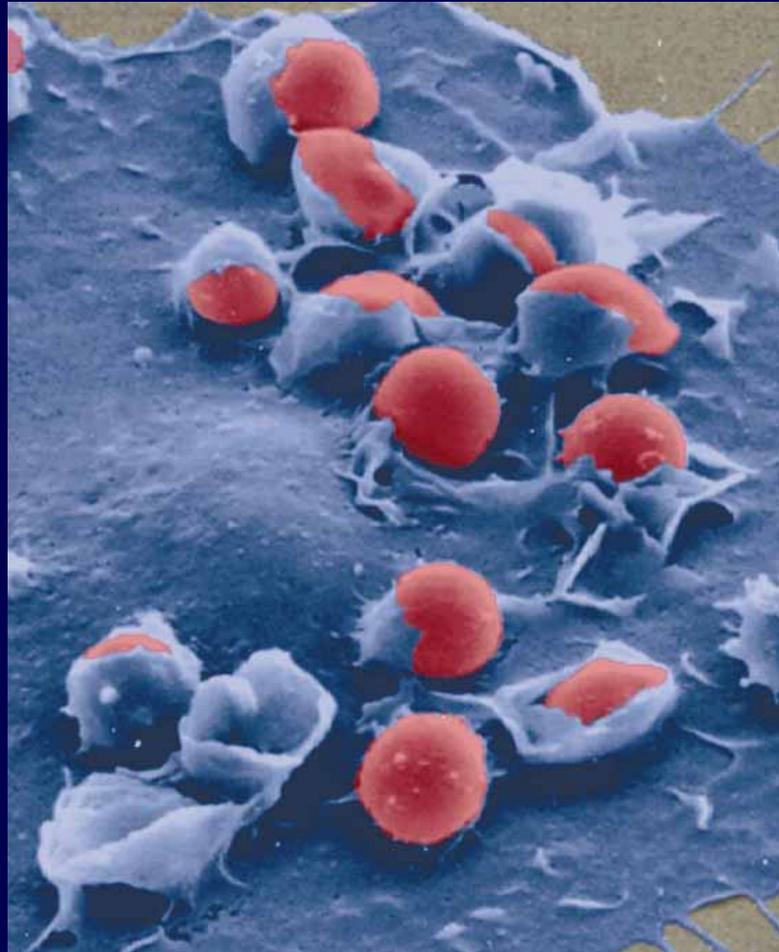


FAGOCITOSIS

ACTIVACIÓN DEL
COMPLEMENTO



FAGOCYTOSIS



FAGOCITOSIS

- Proceso dependiente del citoesqueleto que consiste en la ingesta de partículas grandes (>0,5 μm de diámetro) y posterior destrucción por la producción de moléculas microbicidas

- FAGOCITOS PROFESIONALES

 - Mononucleares

 - Monocitos

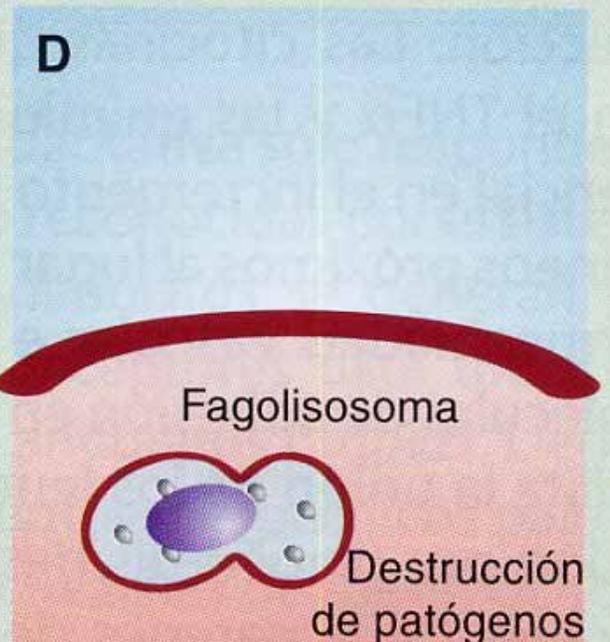
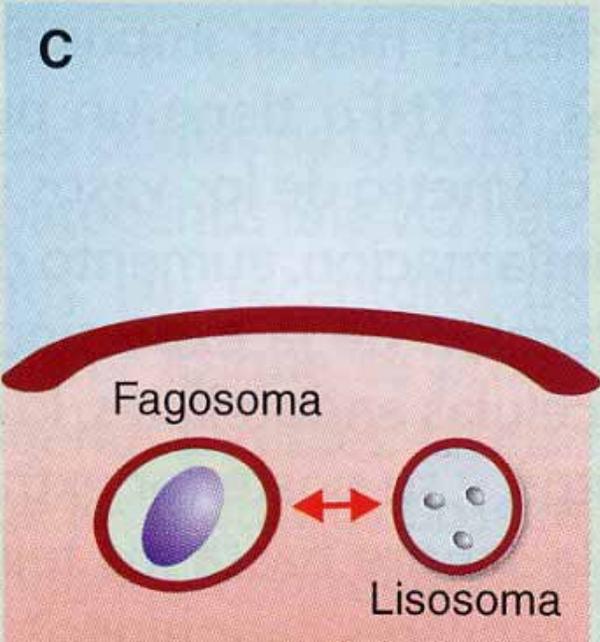
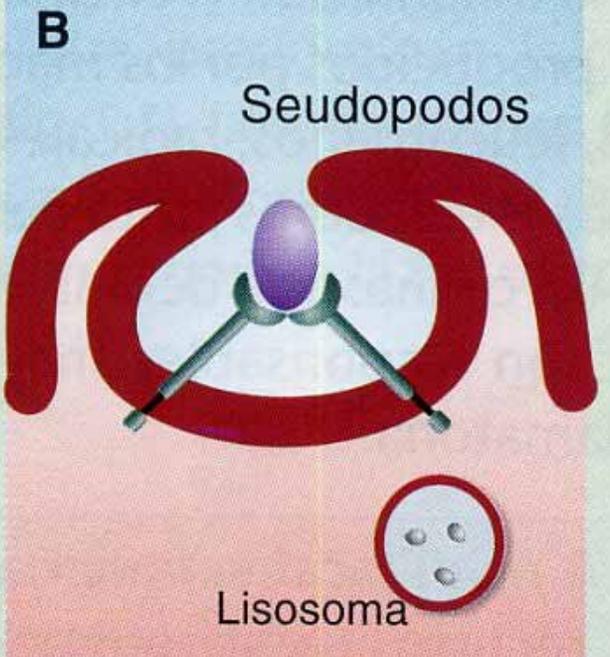
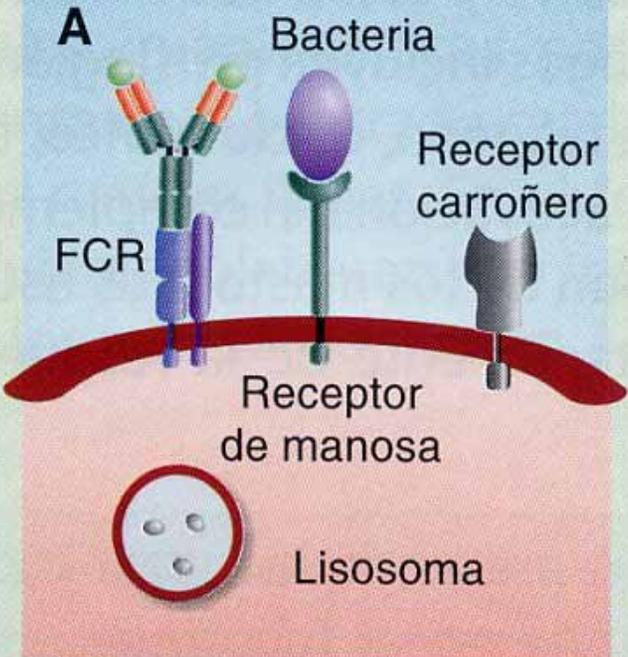
Macrófagos:	Células de Kupffer	Hígado
	Células de la microglía	SNC
	Células mesangiales	Riñón
	Osteoclastos	Hueso
	Macrófagos alveolares	Pulmón

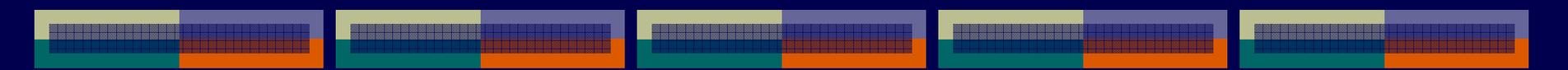
 - Polimorfonucleares

 - Neutrófilos

- FAGOCITOS NO PROFESIONALES

FAGOCITOSIS





FAGOCITOSIS

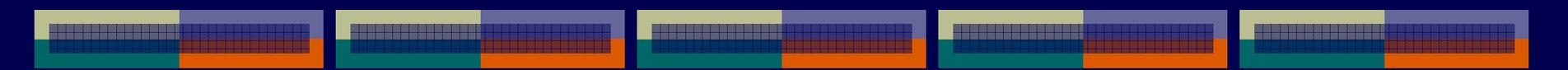
■ RECEPTORES:

Receptores de Manosa
Receptor *Scavenger*
Receptor Fc
Receptor del complemento
Integrinas
Receptores tipo Toll

■ FUNCIONES:

- Unión del microorganismo
- Señales de activación para Remodelación de la membrana del fagocito
- Formación del fagolisosoma
- Generación de radicales libres
- Producción de mediadores inflamatorios





FAGOCITOSIS

- RECEPTORES ENDOCÍTICOS

- RECEPTORES DE SEÑALIZACIÓN



FAGOCITOSIS

RECEPTORES ENDOCÍTICOS:

El reconocimiento del Ag lleva a la internalización y fusión con los lisosomas

■ Receptores de Manosa

Lectinas que reconocen carbohidratos con gran número de manosa. También ficolinas

■ Receptor *Scavenger*

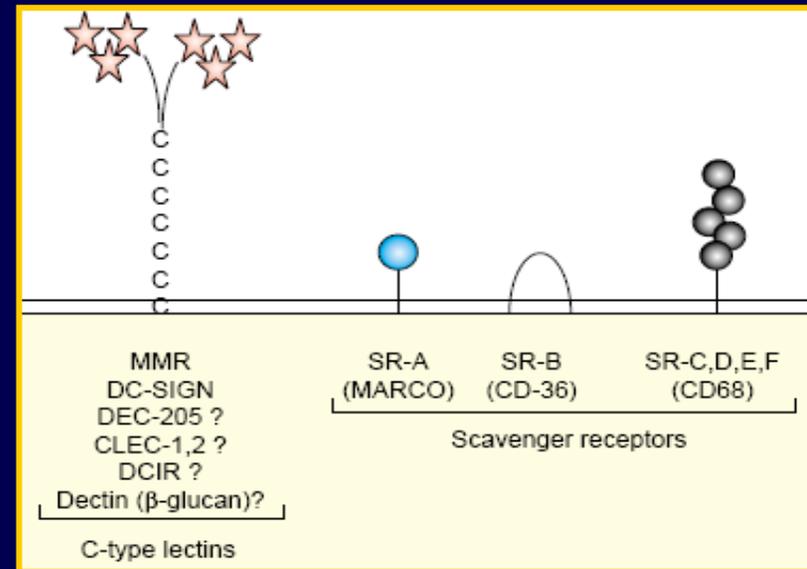
Se unen y median la fagocitosis de partículas de LDL oxidadas o acetiladas. Se unen también a polirribonucleótidos, LPS, sílice

Clase A (SR-A)

fagocitosis de bacterias

Clase B (SR-B)

CD36 fagocitosis de células apoptóticas



FAGOCITOSIS

RECEPTORES ENDOCÍTICO

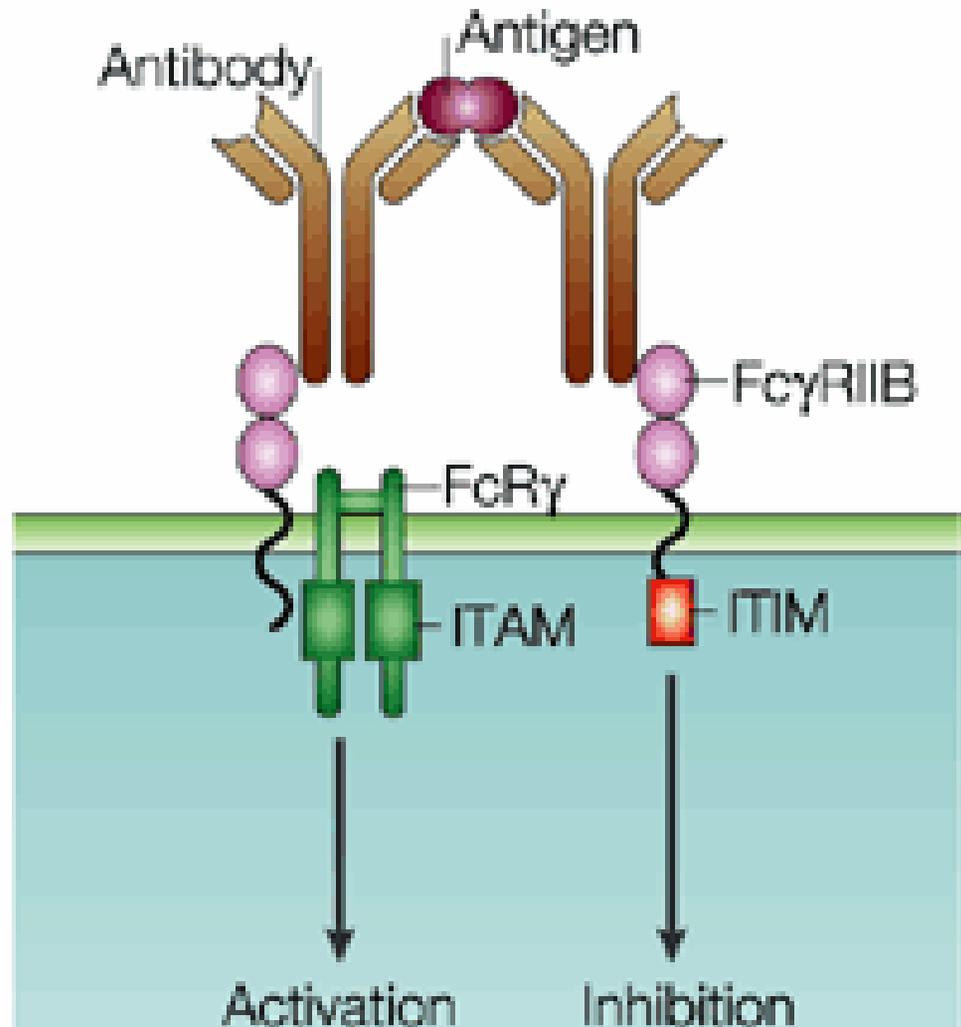
Receptor Fc

Los fagocitos reconocen a los patógenos opsonizados por IgG (IgG1, IgG3) a través de receptores para la porción Fc de las Igs

- Activadores: Fc γ RI, RIIA y RIII

- Inhibidores: Fc γ RIB

a Activation or inhibition of cell signalling



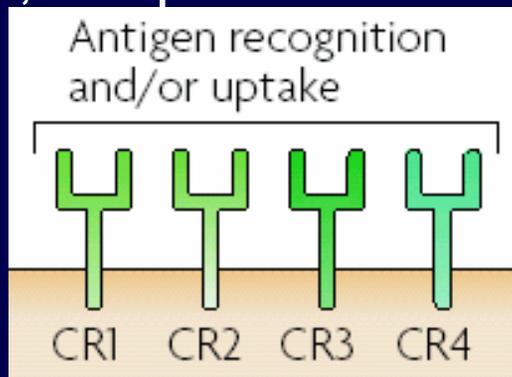
FAGOCITOSIS

J Cell Sc, 2001. 114:1061-1077

RECEPTORES ENDOCÍTICOS:

■ Receptor del complemento

Algunos fragmentos del sistema del complemento son potentes opsoninas y son reconocidos por los receptores CR1, CR3, CR4, C1qR



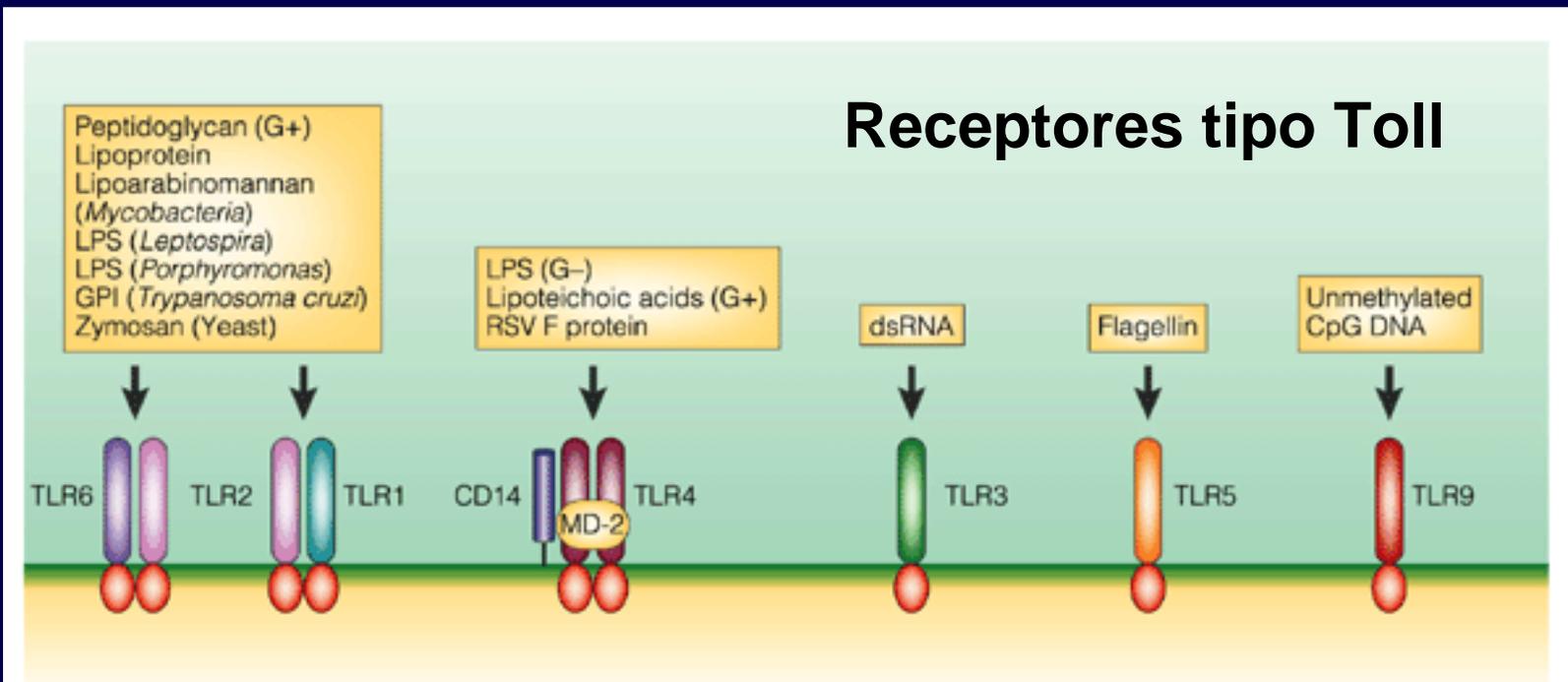
■ Integrinas

En especial $\alpha_M\beta_2$ (CD11b CD18 o Mac1), $\alpha_5\beta_1$, $\alpha_v\beta_3$

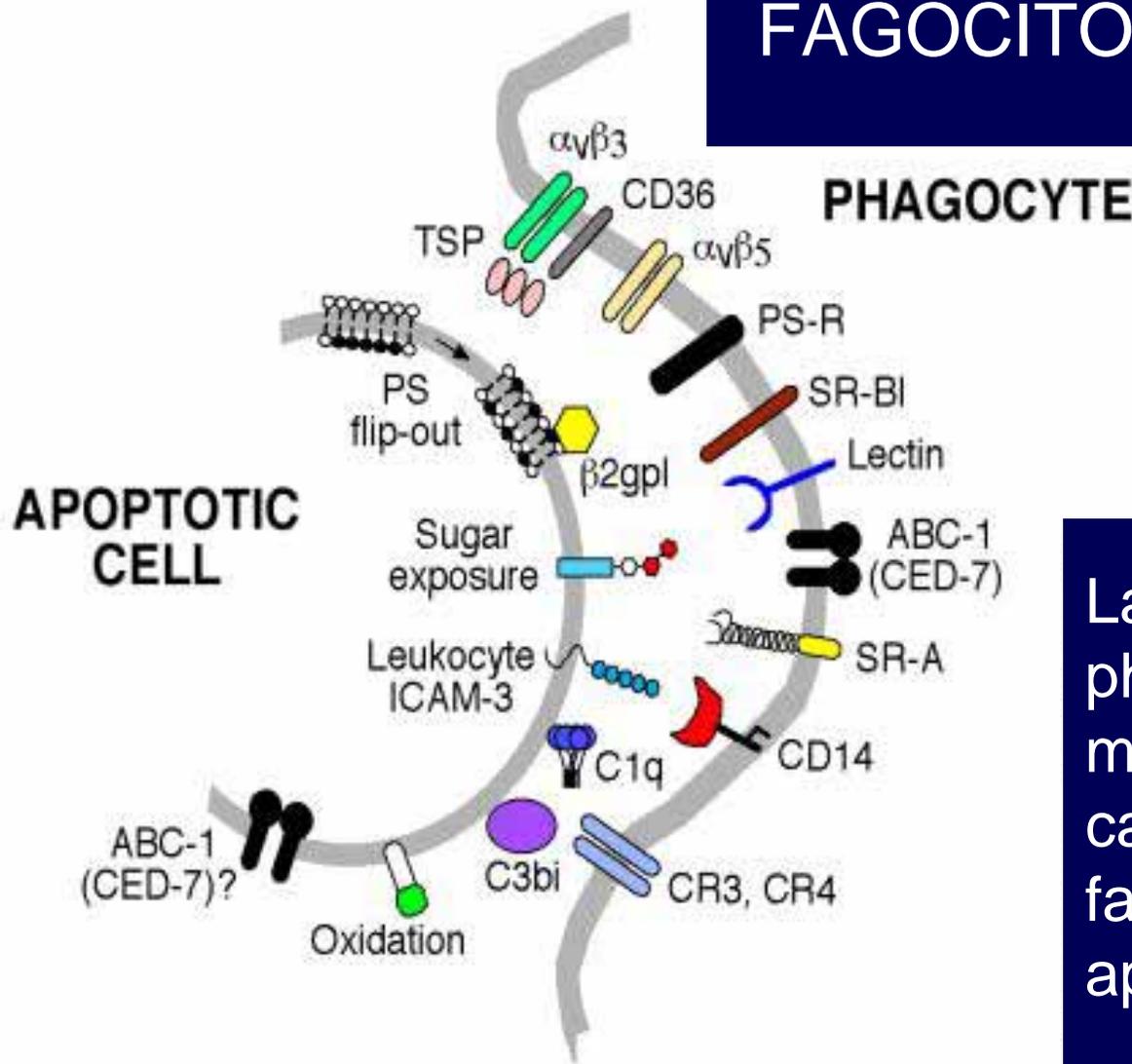
FAGOCITOSIS

RECEPTORES DE SEÑALIZACIÓN:

El reconocimiento de Ags induce la activación de una gran variedad de vías de transmisión de señales que ponen en marcha la activación de numerosos genes de la respuesta inmune

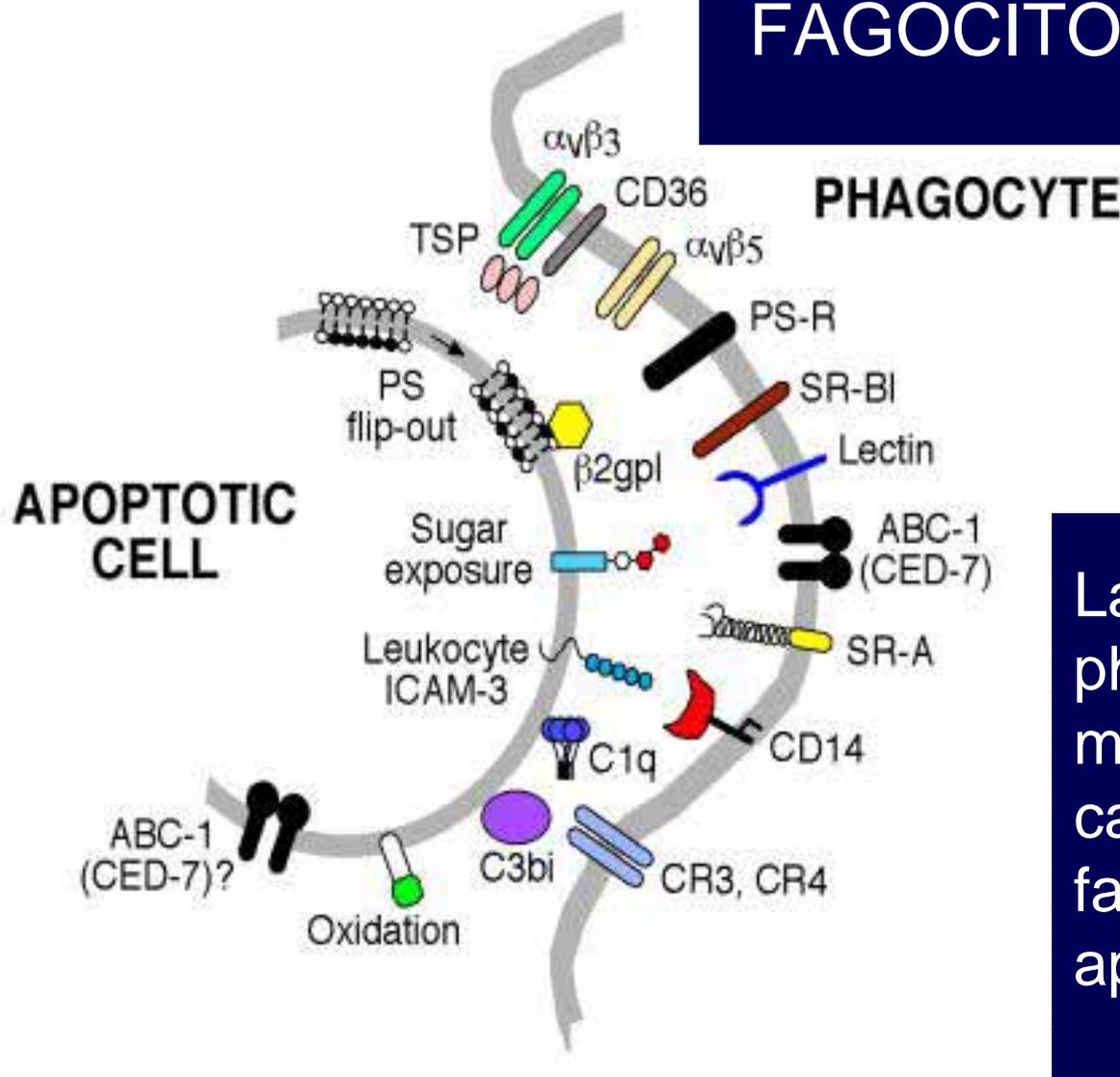


FAGOCITOSIS Y APOPTOSIS



La fosfatidilserina (PS, phosphatidylserina) es el marcador mejor caracterizado para la fagocitosis de las células apoptóticas

FAGOCITOSIS Y APOPTOSIS

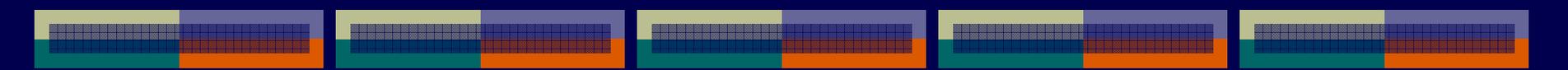


La fosfatidilserina (PS, phosphatidylserina) es el marcador mejor caracterizado para la fagocitosis de las células apoptóticas

Eliminación de célula apoptótica



Liberación de mediadores antiinflamatorios IL-10, TGF β



MECANISMOS DE DESTRUCCIÓN DE LOS MICROORGANISMOS

•LISOSOMAS

pH bajo

Hidrolasas ácidas (proteasas, nucleasas, glucosidasas, lipasas)

Proteínas catiónicas

Lactoferrina

•ESTALLIDO RESPIRATORIO

Posterior a la unión de los receptores endocíticos hay un incremento en la captación de oxígeno por los fagocitos para la generación de productos intermediarios reactivos de O_2 (ROI, *reactive oxygen intermediates*)



MECANISMOS DE DESTRUCCIÓN DE LOS MICROORGANISMOS

• **ESTALLIDO RESPIRATORIO**
generación de ROI por las enzimas:

NADPH OXIDASA

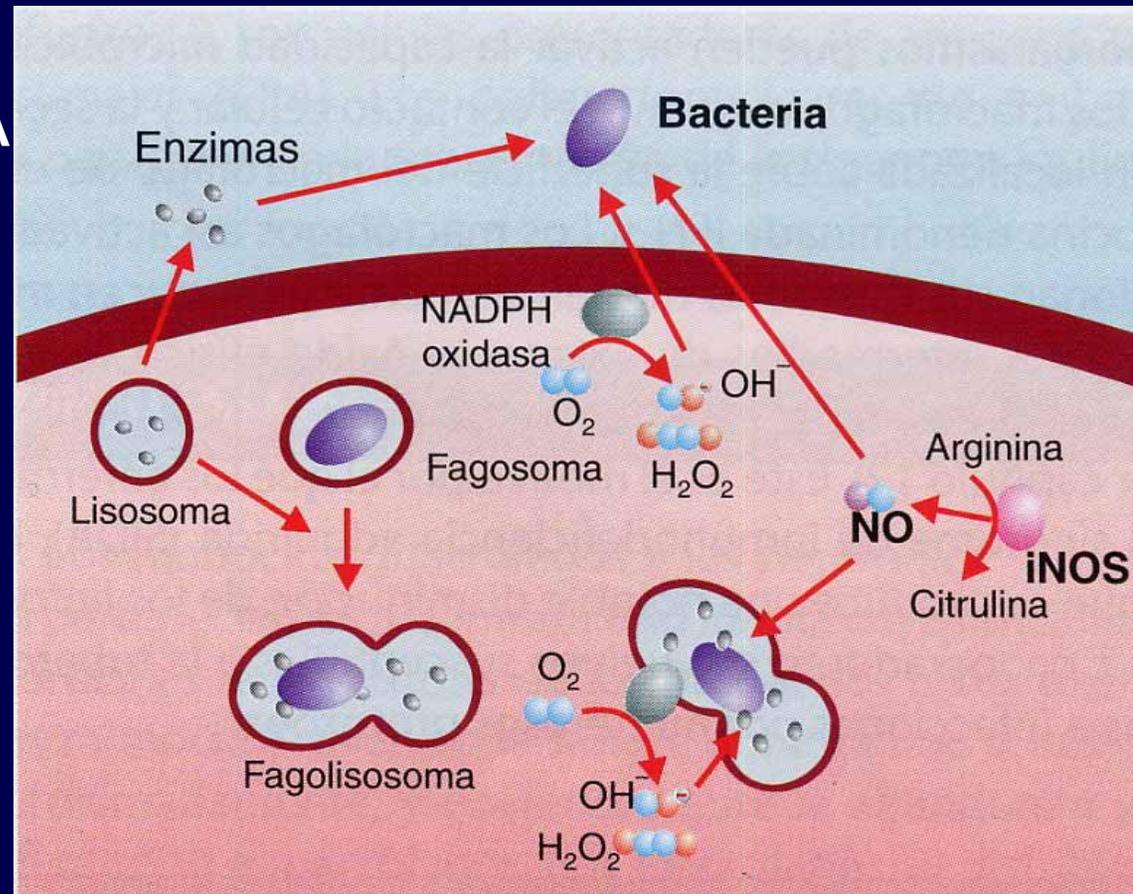
SUPERÓXIDO DISMUTASA

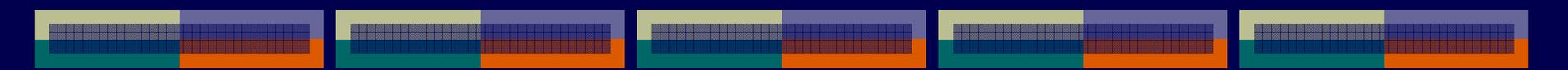
SINTETASA DEL ÓXIDO NÍTRICO inducible (iNOS)

MIELOPEROXIDASA

Oxidantes reactivos

Superóxido	O_2^-
Radicales hidroxilo	OH
Peróxido de hidrógeno	H_2O_2
Óxido nítrico	NO
Ácido hipocloroso	$HOCl$





FAGOCITOSIS

PRODUCCIÓN DE MEDIADORES INFLAMATORIOS

IL-1

TGF β

IL-6

TNF α

IL-8

IFN α

IL-10

IFN β

QUIMIOCINAS

TNF α

FACTOR DE CRECIMIENTO DERIVADO DE PLAQUETAS

FACTOR ACTIVADOR PLAQUETARIO

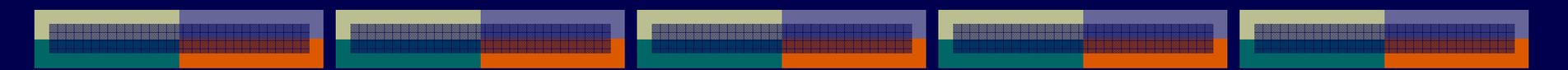
DERIVADOS DEL ÁCIDO ARAQUIDÓNICO

GMCSF

GCSF

MCSF





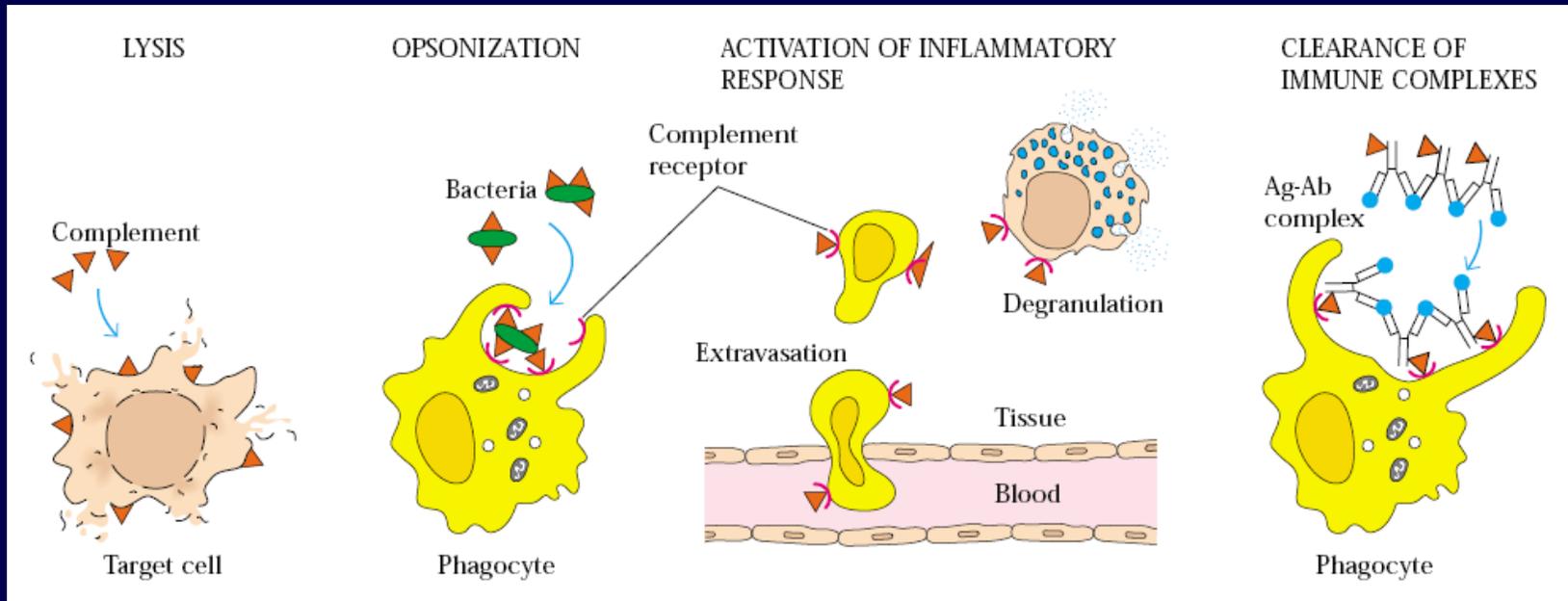
EVALUACIÓN DE LA FAGOCITOSIS

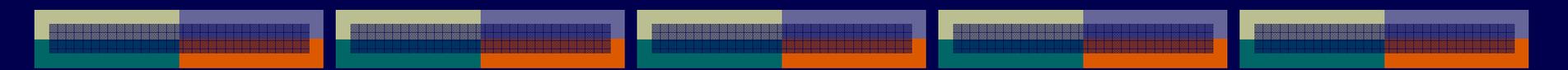
Deficiencia de los fagocitos conduce a infecciones recurrentes con bacterias y hongos.

ESTUDIOS FUNCIONALES

- Ensayos de quimiotaxis
 - Ensayos de adhesión
 - Ensayos de fagocitosis
 - Ensayos de estrés oxidativo
 - Actividad microbicida
- 

SISTEMA DEL COMPLEMENTO





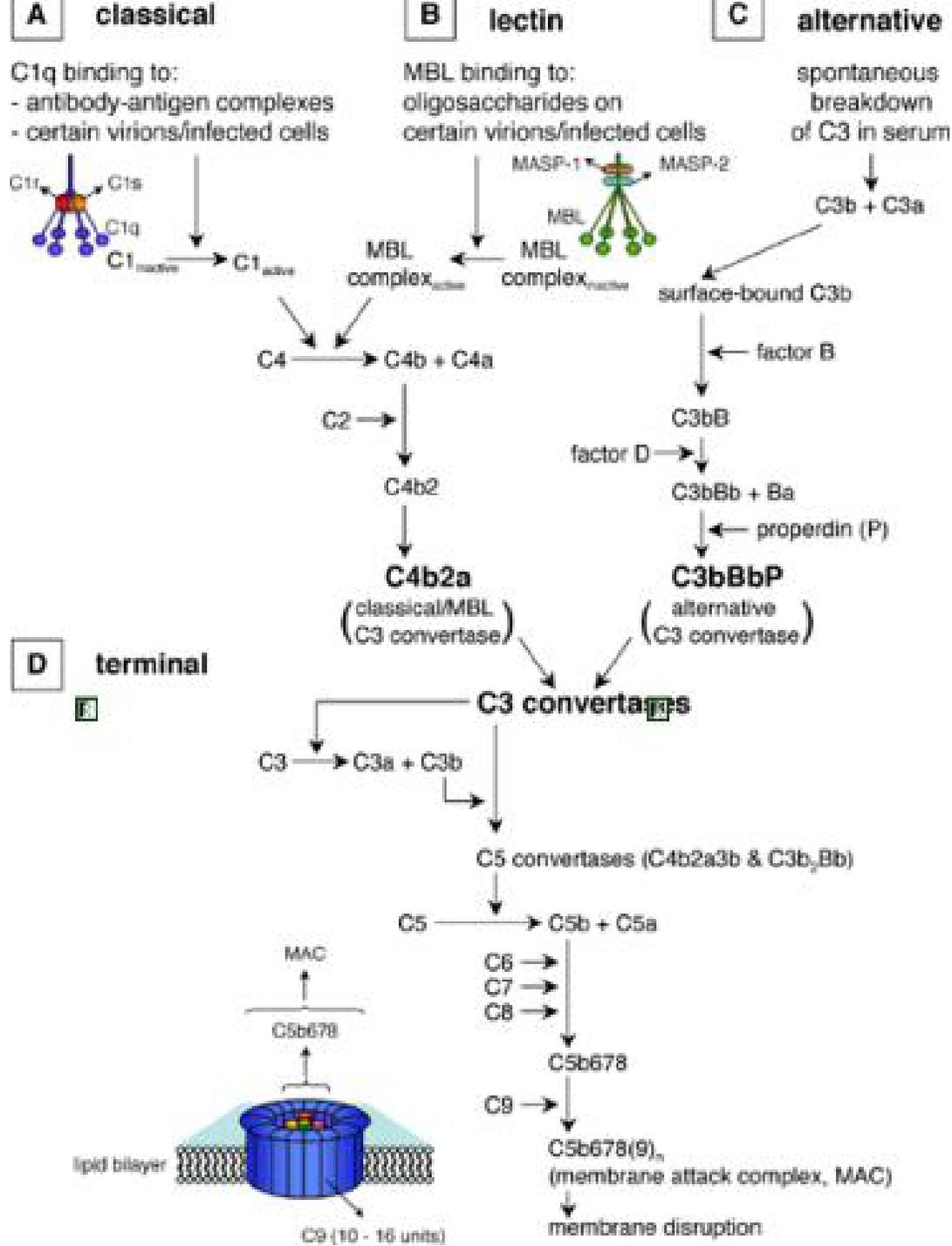
COMPLEMENTO

FUNCIONES

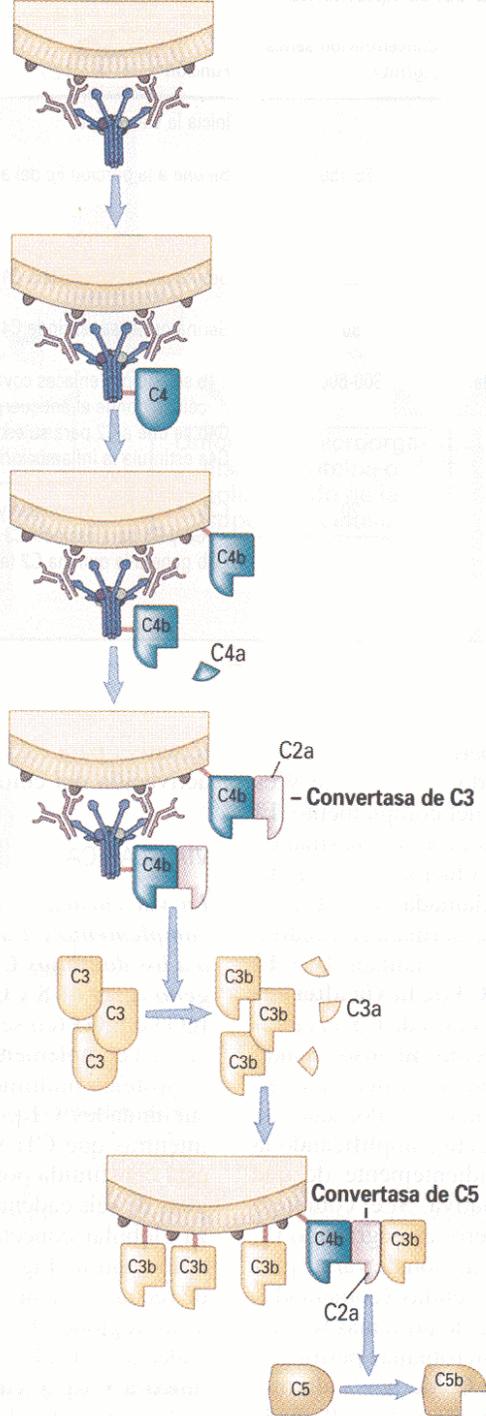
- LISIS
 - OPSONIZACIÓN
 - ACTIVACIÓN DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA
 - ELIMINACIÓN DE INMUNOCOMPLEJOS
- 

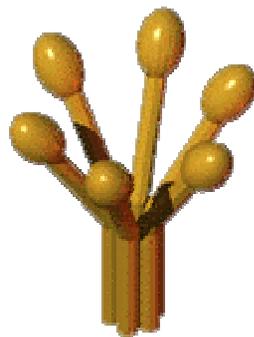
COMPLEMENTO

- Se nombran con la letra C seguida de un número o por letras como factor B
- Proenzimas inactivas hasta su escisión proteolítica
- El fragmento más pequeño se designa con la letra a y el más grande con la letra b, excepto para C2
- La vía alternativa y de la lectina son mecanismos efectores de la inmunidad innata
- La vía clásica es un mecanismo efector de la inmunidad humoral



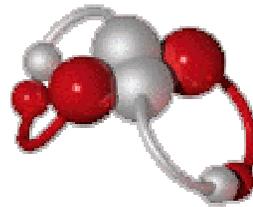
VIA CLÁSICA





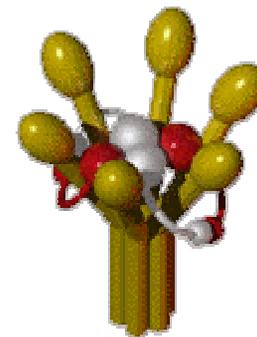
C1q

+



C1r and C1s

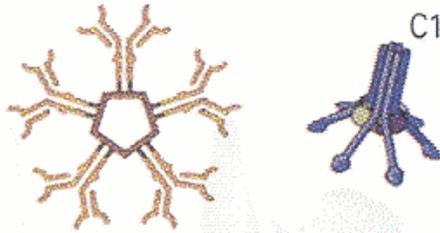
=



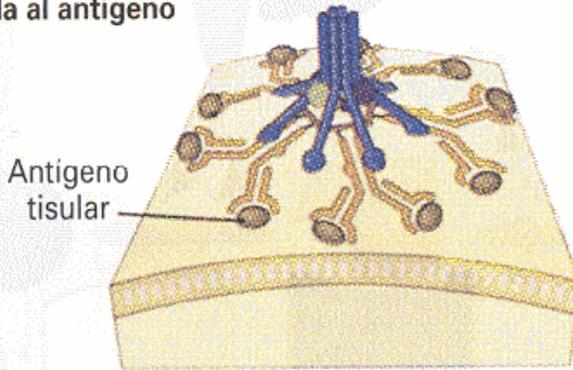
Intact C1

C1q_r₂s₂

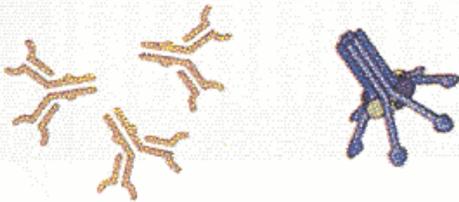
IgM soluble (Fc inaccesible)



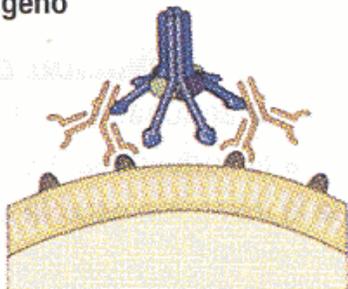
IgM unida al antígeno



IgG soluble (porciones Fc no adyacentes)



IgG unida al antígeno

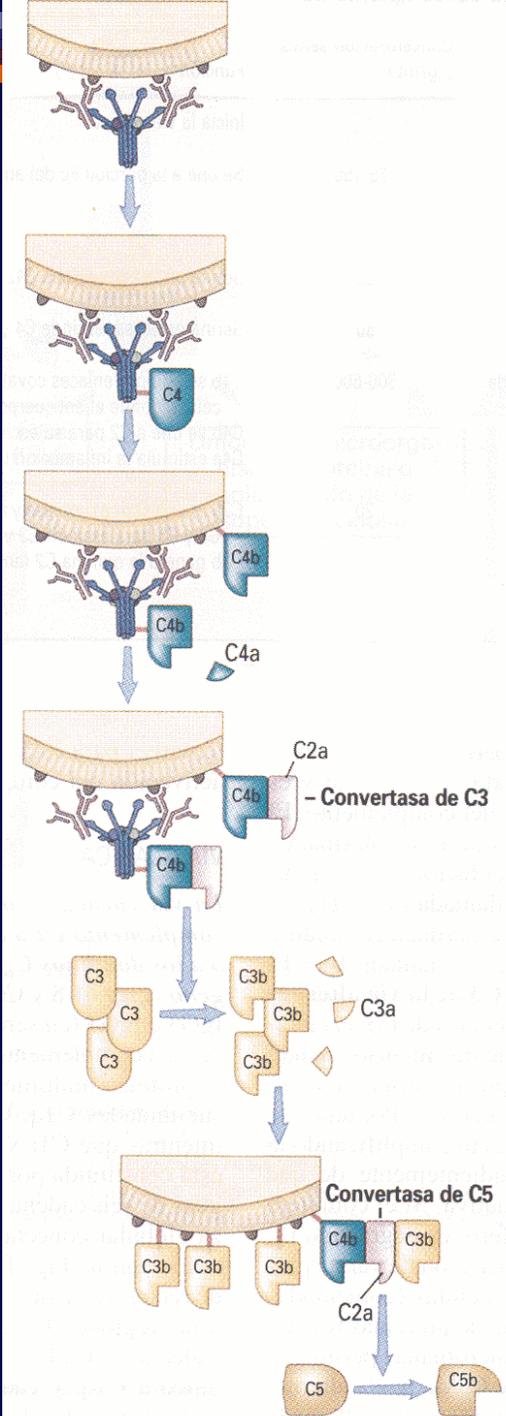


VÍA CLÁSICA

- Cada molécula de C1 puede unirse a 2 sitios Fc
- Una molécula de IgM pentamérica unida a Ag expone 3 sitios de unión a C1
- Una molécula de IgG contiene sólo un sitio de unión a C1, para que ocurra la activación de C1q es necesario que 2 moléculas de IgG estén adyacentes dentro de 30-40 nm

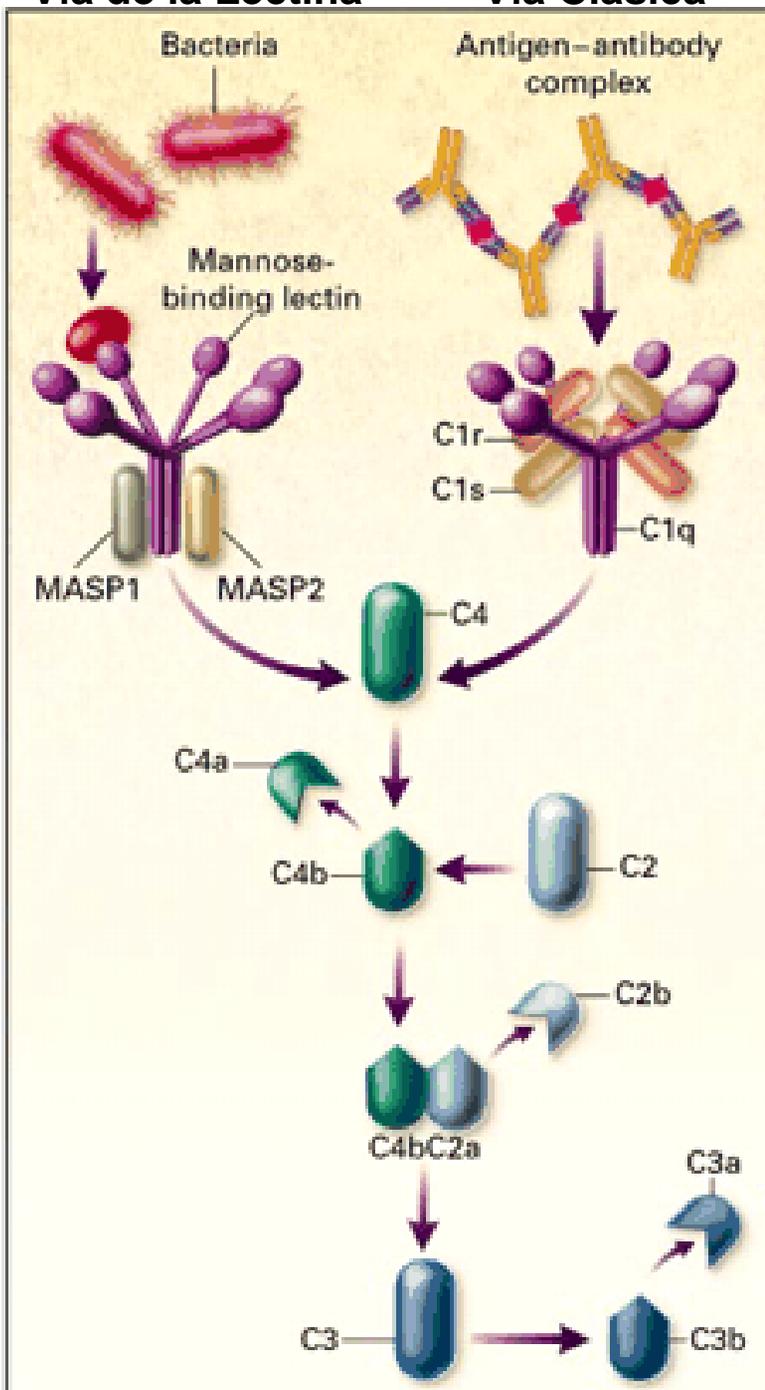
VIA CLÁSICA

- La unión de C1q a la región Fc convierte a C1r en una enzima activa, la cual escinde a C1s convirtiéndola en una enzima activa
- C1s hidroliza C4 y C2
- C4a es una anafilatoxina, queda libre
- C4b se ancla adyacente a C1
- C2a se une a C4b, C4b2a » C3 convertasa
- C3a es una anafilatoxina, queda libre
- Una molécula de C3 convertasa puede generar 200 moléculas de C3b, paso de amplificación de la cascada
- C4b2a3b » C5 convertasa



Vía de la Lectina

Vía Clásica

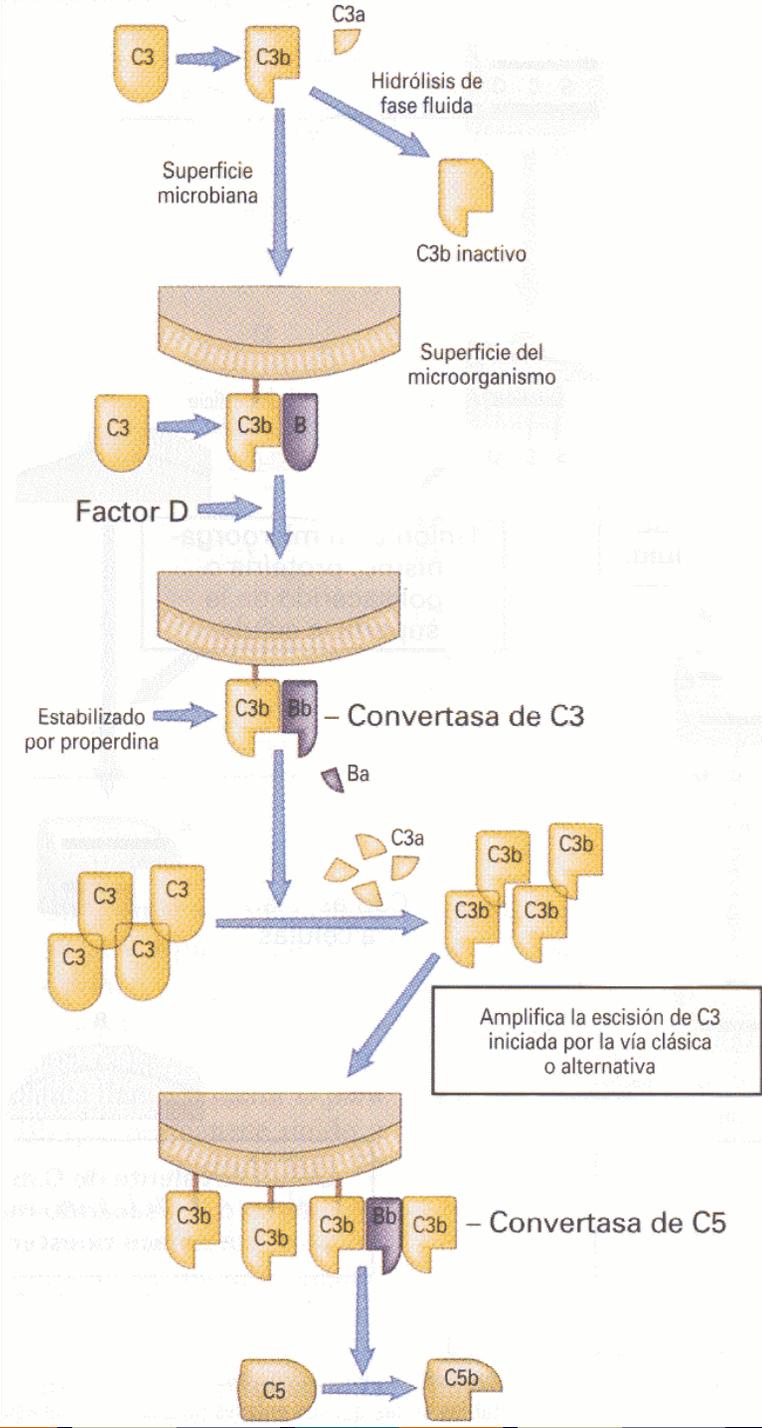


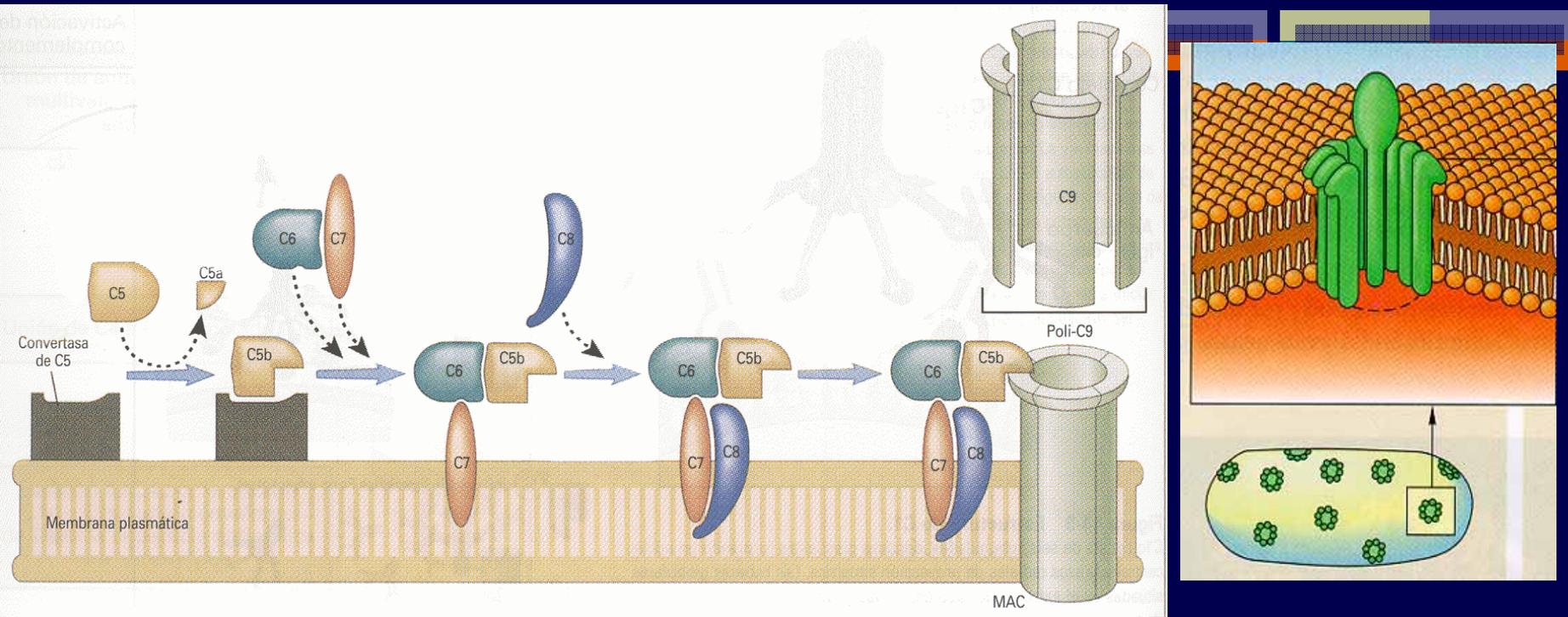
VÍA DE LA LECTINA

- Se inicia con la unión de MBL, (*Mannose Binding Lectin*) con residuos de manosa sobre la superficie de microorganismos
- Unión de MASP, serina proteasa asociada a MBL
- El complejo MBL-MASP causa la escisión de C4
- MBL similar a C1q, MASP similar a C1r y C1s

VIA ALTERNATIVA

- C3 sérico sufre hidrólisis espontánea
- C3b se une covalentemente a superficies extrañas
- Superficies de las células de mamíferos contienen ácido siálico que inactivan a C3b
- Factor B se une a C3b, permitiendo al factor D escindir el fragmento Ba
- C3bBb » C3 convertasa, es inestable hasta la unión de properdina



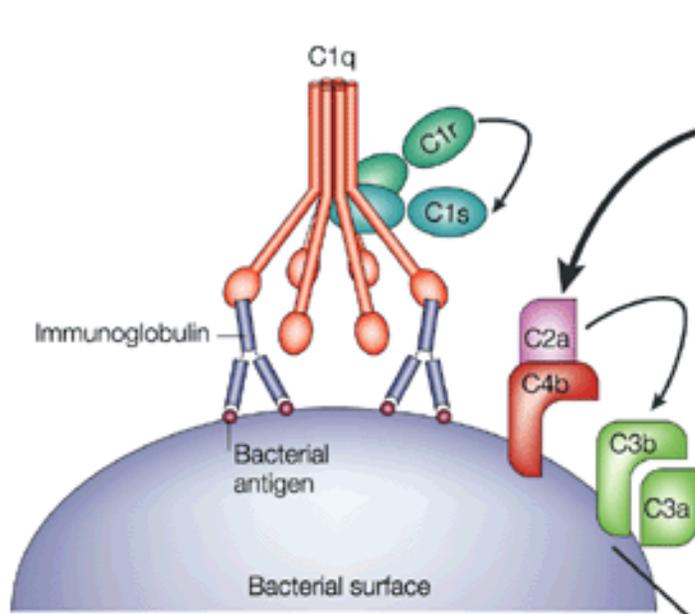


SECUENCIA TERMINAL

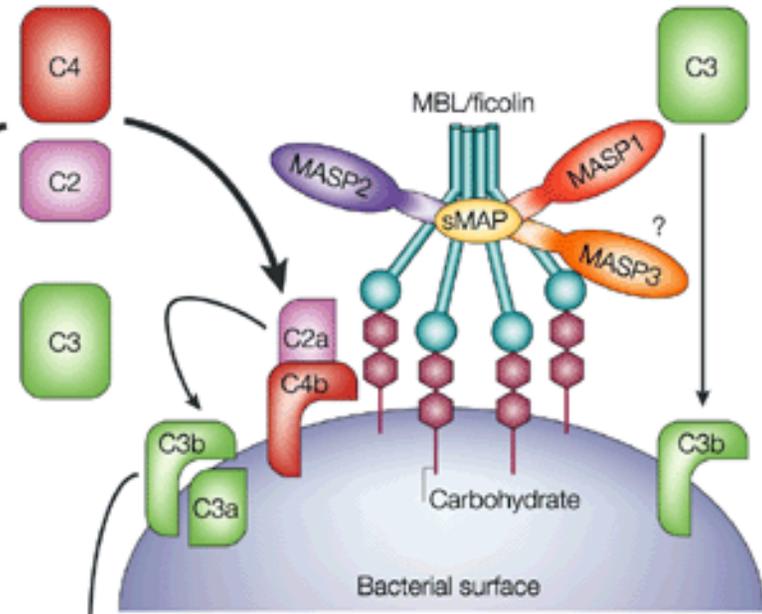
- La vía clásica, de la lectina y la alternativa conducen a la producción de C5 convertasa que escinde a C5
- C5b se une a la superficie de la célula blanco, es inestable hasta que se une C6
- Al unirse C7 el complejo se inserta en la bicapa lipídica
- La unión de C8 induce un cambio conformacional
- C5b678 forma un poro de 10 Å
- El paso final es la polimerización de C9, molécula similar a perforina
- El CAM tiene forma tubular y el Ø es de 70-100 Å

RESUMEN

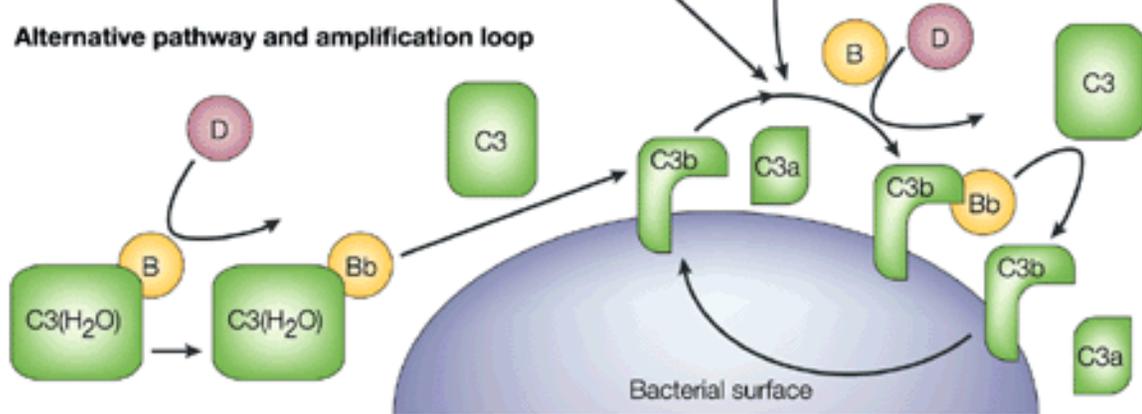
a Classical pathway



b Lectin pathway



c Alternative pathway and amplification loop

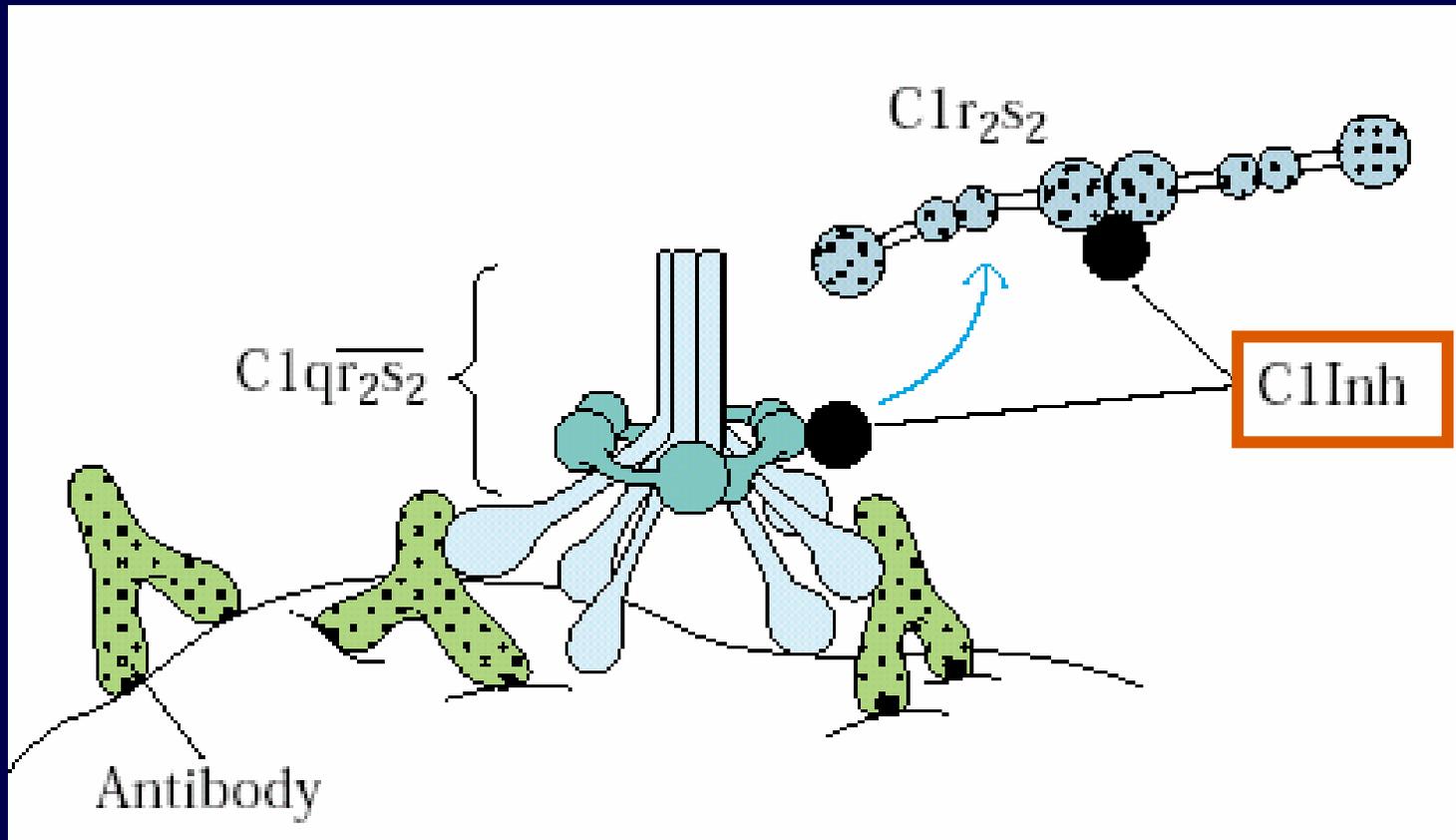


RECEPTORES

RECEPTOR	LIGANDOS	DISTRIBUCIÓN	FUNCIÓN
CR1 (CD35)	C3b, C4b	Eritrocitos, neutrófilos, monocitos, macrófagos, eosinófilos, células dendríticas, células B, algunas células T	<ul style="list-style-type: none"> -Bloquea formación de C3 convertasa -Cofactor para Factor I -Eliminación de inmunocomplejos
CR2 (CD21)	C3d, C3dg, iC3b	Células B, algunas células T, células dendríticas foliculares	<ul style="list-style-type: none"> -Correceptor de cel B -Receptor para VEB -Atrapamiento de Ag en centros germinales
CR3 (CD11b/18)	iC3b	Monocitos, macrófagos, neutrófilos, NK, algunas células T	<ul style="list-style-type: none"> -Adhesión de leucocitos al endotelio -Fagocitosis
CR4 (CD11c/18)			
Receptor C3a/C4a	C3a, C4a	Mastocitos , basófilos, granulocitos	<ul style="list-style-type: none"> -Induce degranulación de mastocitos y basófilos
Receptor C5a	C5a	Mastocitos , basófilos, granulocitos, monocitos, macrófagos, plaquetas, células endoteliales	<ul style="list-style-type: none"> -Induce degranulación de mastocitos y basófilos

PROTEÍNAS QUE REGULAN EL SISTEMA DEL COMPLEMENTO

PROTEÍNA	TIPO	VÍA AFECTADA	FUNCIÓN
C1 inhibidor	Soluble	Clásica	Causa que C1 _{r₂s₂} se disocie de C1q
C4BP	Soluble	Clásica y lectina	Bloquea formación de C3 convertasa por unión a C4b Cofactor para Factor I
Factor H	Soluble	Alternativa	Bloquea formación de C3 convertasa por unión a C3b Cofactor para Factor I
CR1	Unida a membrana	Clásica, alternativa y lectina	Bloquea formación de C3 convertasa por unión a C4b o C3b Cofactor para Factor I
MCP (CD46)			
DAF	Unida a membrana	Clásica, alternativa y lectina	Acelera la disociación de las C3 convertasas Cofactor para Factor I
Factor I	Soluble	Clásica, alternativa y lectina	Corta C4b o C3b usando C4bBP, CR1, factor H, DAF, o MCP como cofactores
Proteína S	Soluble	Terminal	Impide la inserción de C5b678
HRF	Unida a membrana	Terminal	Bloquea la unión de C9, uniéndose a C5b678
MIRL (CD59)			
Inactivador de anafilatoxinas	Soluble	Efectora	Inactiva las anafilatoxinas C3a, C4a y C5a



b Regulation

Current Op Immunol, 2000. 12:44-51

Nat Rev Immunol, 2007. 7:9-18

Cofactor activity



Decay-accelerating activity for C3 convertases



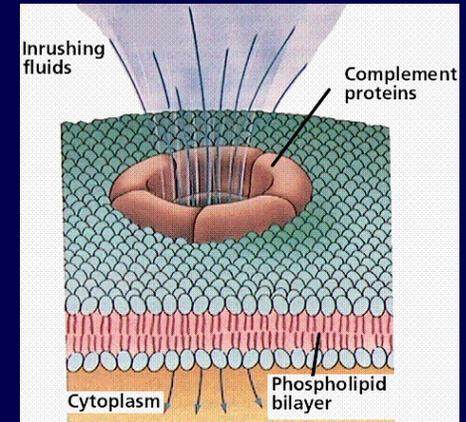
Inhibition of lysis



FUNCIONES

■ CITÓLISIS

- El CAM es capaz de lisar bacterias, virus, eritrocitos y células nucleadas
- Evita la expansión viral durante la infección aguda. Virus que pueden ser lisados por el complemento: herpesvirus, ortomixovirus, paramixovirus y retrovirus
- La mayoría de las bacterias gram – son susceptibles a la lisis mediada por complemento, principalmente *Neisseria*
- Las células nucleadas son más resistentes a la lisis que los GR



FUNCIONES

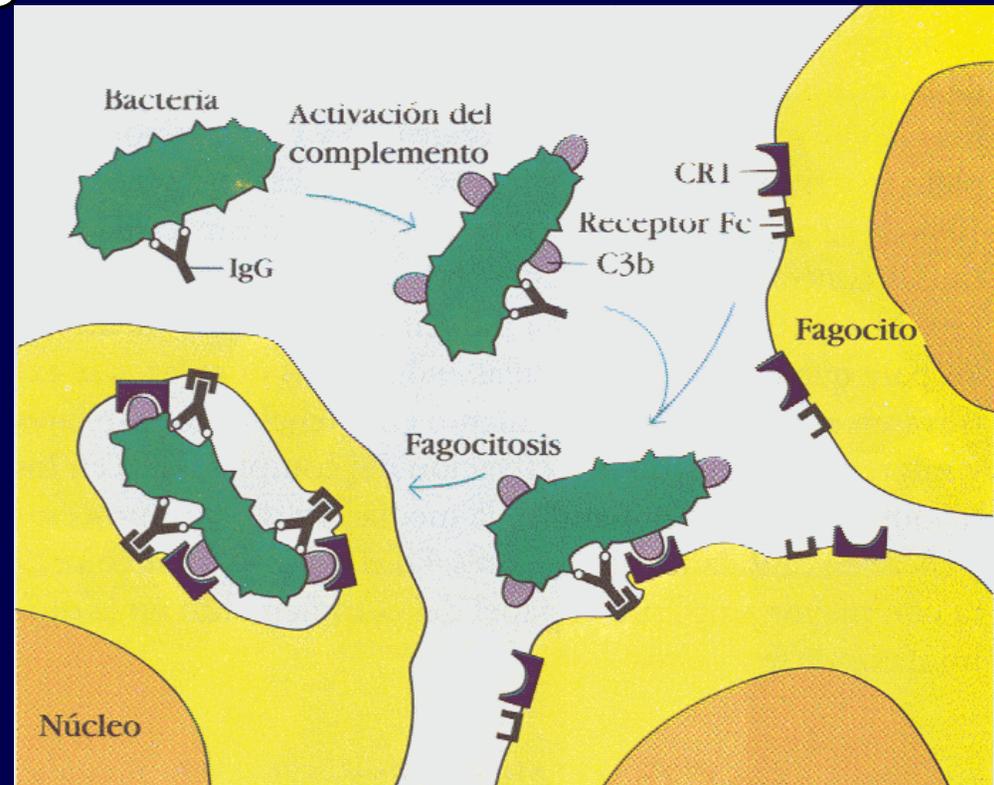
■ RESPUESTA INFLAMATORIA

- C3a, C4a y C5a son anafilatoxinas que se unen a receptores sobre mastocitos y basófilos e inducen degranulación con liberación de histamina y otros mediadores
 - C3a y C5a estimulan en los neutrófilos:
 - la migración hacia los sitios de entrada del Ag
 - la adhesión a las células endoteliales
 - la producción de intermediarios reactivos del O₂
- 

FUNCIONES

■ OPSONIZACIÓN

C3b es la principal opsonina

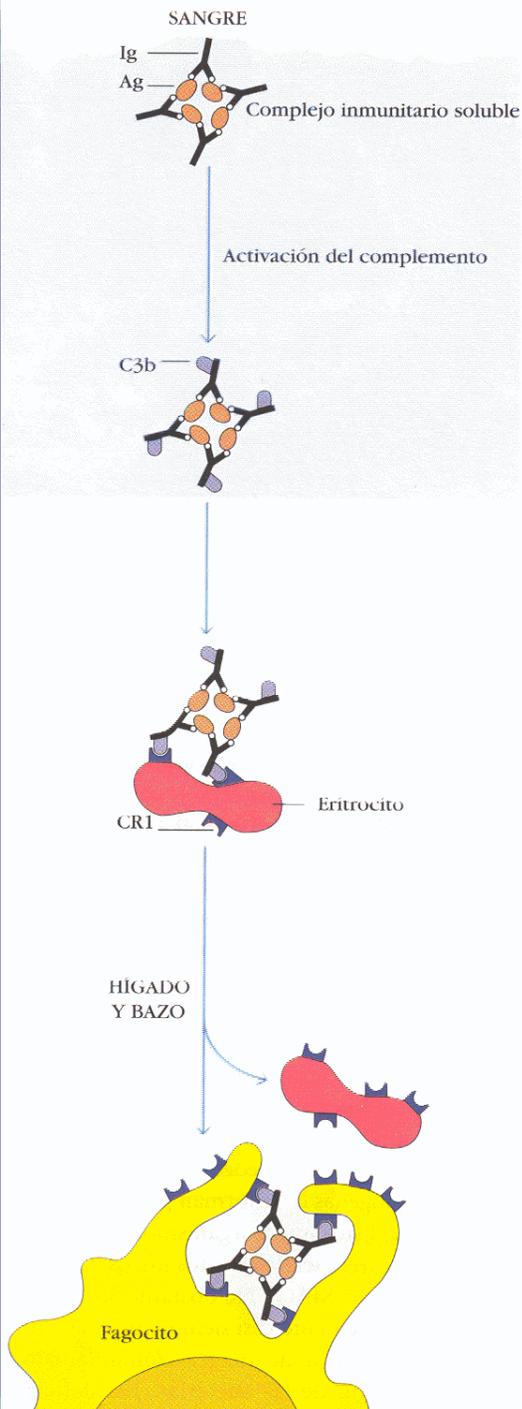


Los inmunocomplejos y las partículas antigénicas son recubiertas por estas opsoninas que se unen a los receptores (CR1) sobre fagocitos (macrófagos y neutrófilos) incrementando la fagocitosis

FUNCIONES

■ ELIMINACIÓN DE INMUNOCOMPLEJOS

- Los inmunocomplejos pueden ser recubiertos con C3b que se une a CR1 sobre los eritrocitos, los transportan al hígado y bazo, donde ocurre el traspaso a los macrófagos presentes en estos órganos y son eliminados por fagocitosis



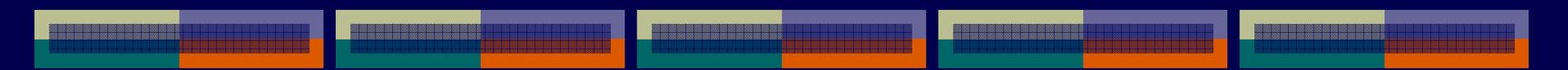
COMPLEMENTO

PRUEBAS DE LABORATORIO

Pueden ser funcionales o inmunoquímicas

FUNCIONALES → CH50

- Evalúa la integridad de la vía clásica
- Mide la hemólisis específica de eritrocitos mediada por anticuerpos y complemento
- Emplea
 - Eritrocitos de carnero
 - Ac de conejo contra eritrocitos de carnero
 - Suero fresco de cobayo como fuente de complemento
- Cantidad de complemento que se necesita para provocar la lisis del 50% de los eritrocitos, bajo condiciones estandarizadas de sensibilización con Ac



COMPLEMENTO

PRUEBAS DE LABORATORIO

INMUNOQUÍMICAS

- Concentraciones moleculares en suero
 - Se pueden determinar cualquiera de los componentes de la vía clásica, alterna, lectinas y sus inhibidores
 - Técnicas utilizadas
 - Inmunodifusión radial
 - Nefelometría
 - ELISA
 - C3 evalúa la vía efectora común, anomalías tanto de la vía clásica como de la alterna
 - C4 evalúa la vía clásica y de las lectinas
- 

PRINCIPALES ENFERMEDADES QUE PUEDEN CURSAR CON HIPOCOMPLEMENTEMIA

Hipocomplementemia Adquirida

Por consumo (eliminación de IC)

LES

Vasculitis sistémica

Crioglobulinemia

Glomerulonefritis postestreptocócica

Endocarditis bacteriana

Enfermedad del suero

Sepsis por gram negativos

Rechazo a transplante

Por pérdidas protéicas

Grandes quemaduras

Síndrome nefrótico

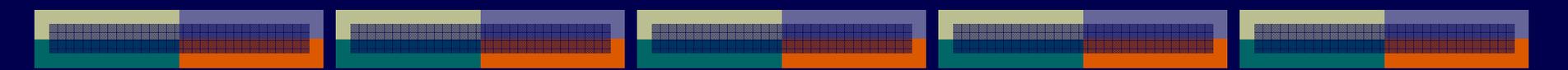
Por déficit de síntesis

Insuficiencia hepática

Hipocomplementemia congénita

DEFICIENCIAS DEL COMPLEMENTO

<i>Componente</i>	<i>Sintomatología y comentarios</i>
Vía clásica	
C1q	Enfermedades por inmunocomplejos, infecciones repetidas
C1r	LES, glomerulonefritis, infecciones repetidas
C1s	LES
C4A	Enfermedades por inmunocomplejos, infecciones repetidas
C4B	Infecciones repetidas
C2	LES. Más del 90% asintomáticos
Vía alternativa	
Factor D	Infecciones repetidas de vías respiratorias
Properdina	Meningitis
C3	Infecciones repetidas, enfermedades por inmunocomplejos
Vía lítica	
C5	Infecciones repetidas por <i>Neisseria</i> , LES
C6	Infecciones repetidas por <i>Neisseria</i> , LES
C7	Infecciones repetidas por <i>Neisseria</i> , LES
C8	Infecciones repetidas por <i>Neisseria</i> , LES
C9	Asintomáticos
Reguladores	
C1-inhibidor	Angioedema hereditario. LES. Determina niveles bajos de C2 y C4
Factor I	Infecciones repetidas. Determina valores bajos de C3 y factor B
Factor H	Meningitis
CR1	No genético. Problemas asociados a inmunocomplejos
CR3	Infecciones repetidas. Se acompaña de déficit de LFA-1 y gp150,95
DAF	No genético. Hemoglobinuria paroxística nocturna



BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA

1. Goldsby R. Kindt T, Osborne B, Kuby J. Inmunología. Quinta Edición Mc Graw Hill. 2004. Capítulo 13
 2. Abbas A. Inmunología Celular y Molecular. Interamericana, Mc Graw-Hill. 2001. Capítulo 12 y 14
 3. Walport, M. Complement. N Engl J Med. 2001.344 (14 - 15).
 4. Babior, B and Andreoli, Th. Phagocytes and Oxidative Stress. Am J Med. 2000. 109 (1). 33-44
- 