

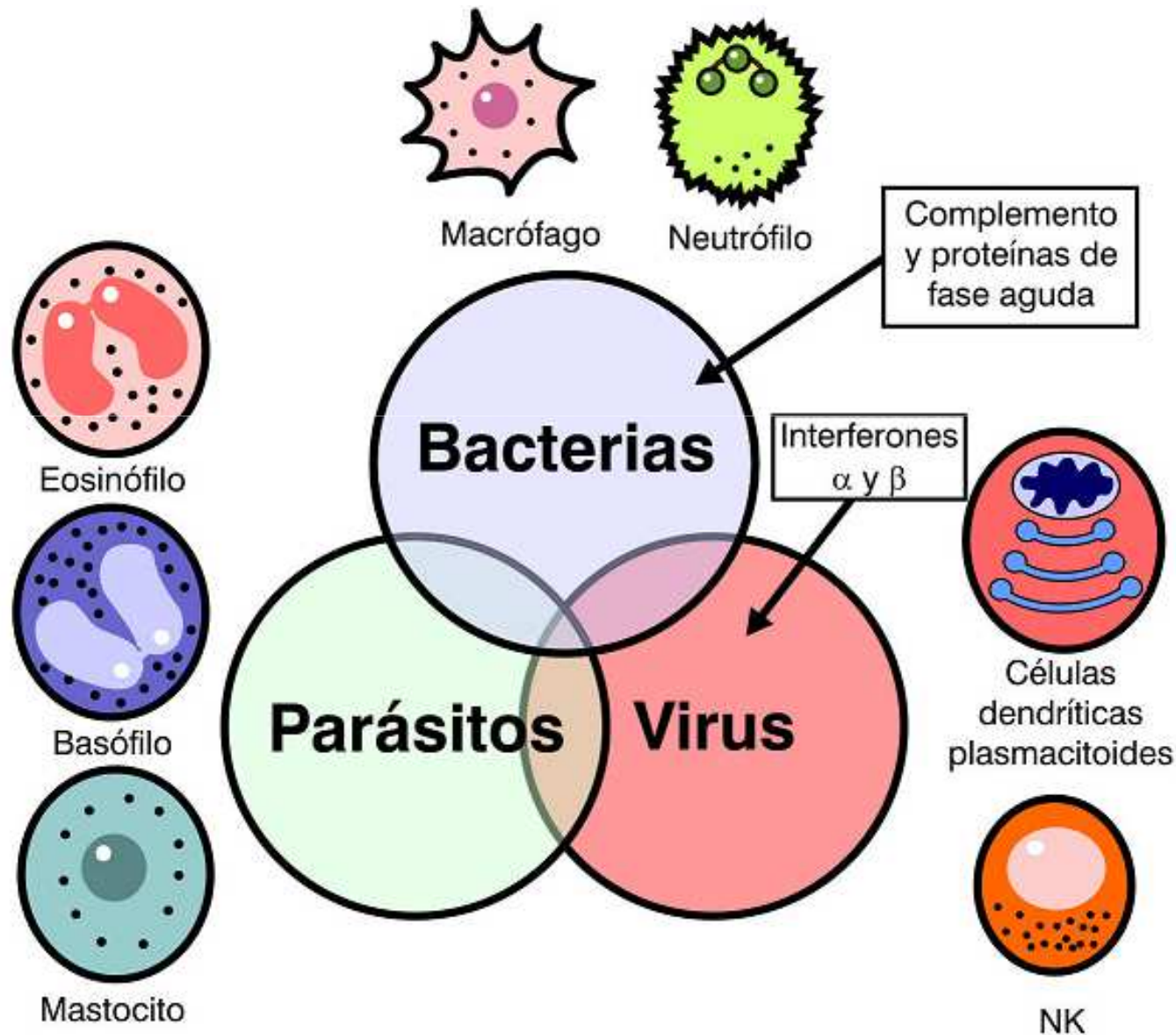
Asignatura Inmunología

Seminario 2: Respuesta inmune innata

Parte 2

Año: 2017

Redundancia y especialización en la respuesta inmune innata anti-infecciosa



Respuesta innata ante una infección viral

¿Cómo es reconocida la presencia de un virus?

Fundamentalmente a través de la detección de sus ácidos nucleicos

¿Cómo los detectamos?

Mediante distintos sistemas de receptores

TLRs	Flia RIG-1 (helicadas)	Sensores de ADN
TLR3, TLR7, TLR8, TLR9	RIG-1 y MDA5	DAI, cGAS, IFI16, AIM2

El reconocimiento de la infección viral induce la producción de interferones de tipo I

Producción de interferones α/β

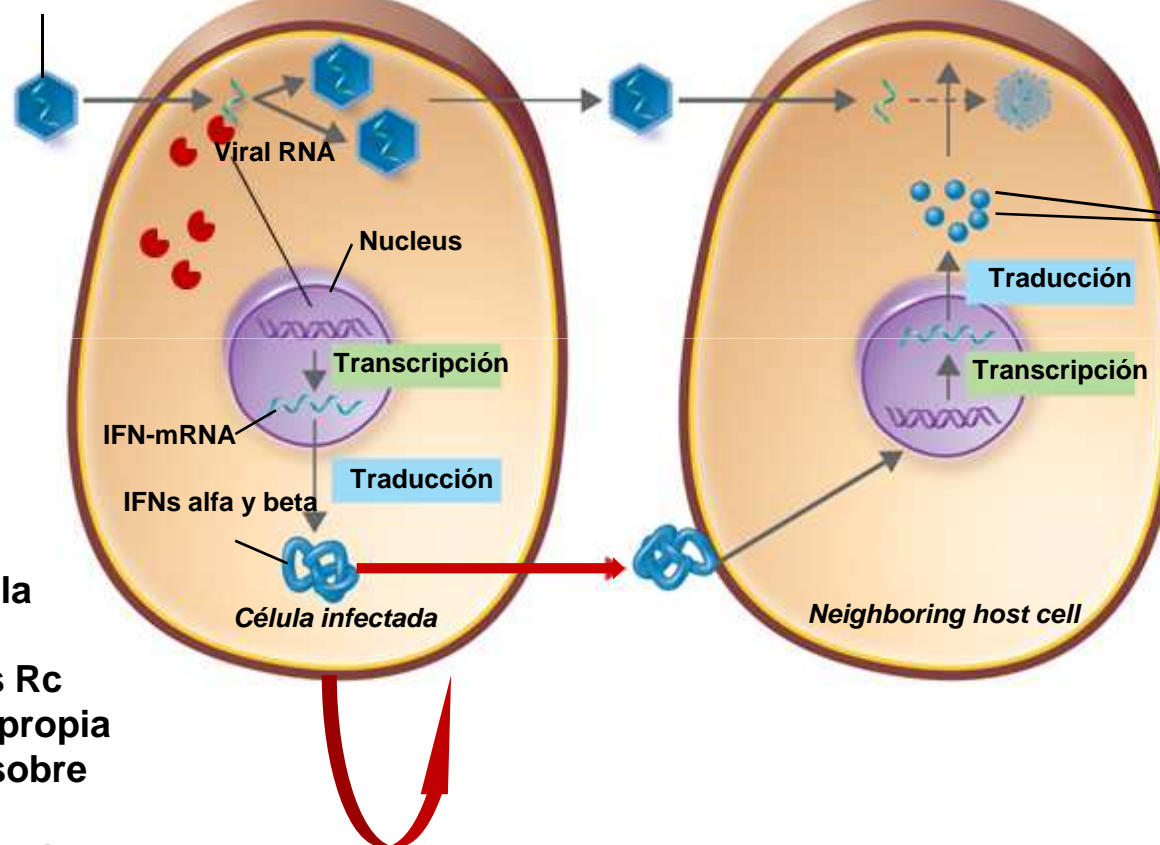
1 Virus a ARN infecta a la célula

2 El virus infectante replica y genera nuevos virus

3 El material genético viral activa sensores de ácidos nucleicos induciendo la transcripción y traducción de IFNs tipo I.

4 IFNs liberados por la célula infectada interactúan con los Rc para IFNs sobre la propia célula infectada o sobre células vecinas estimulando la síntesis de proteínas antivirales como la proteína quinasa R y la OAS, entre otras.

Virus infectante

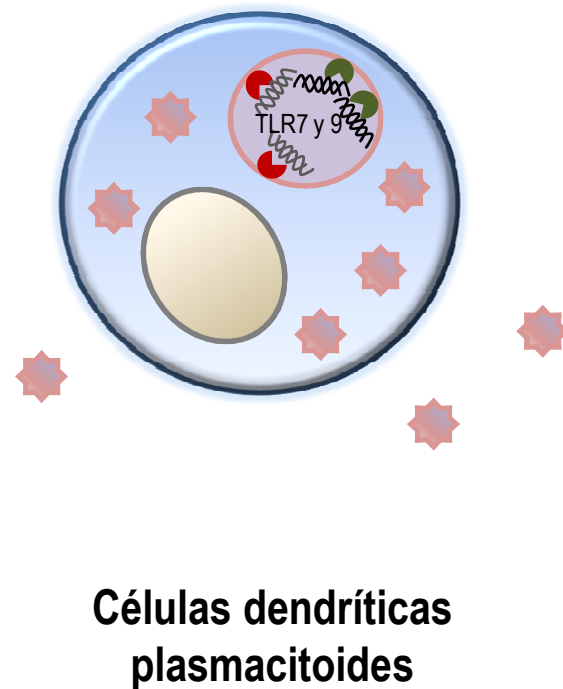
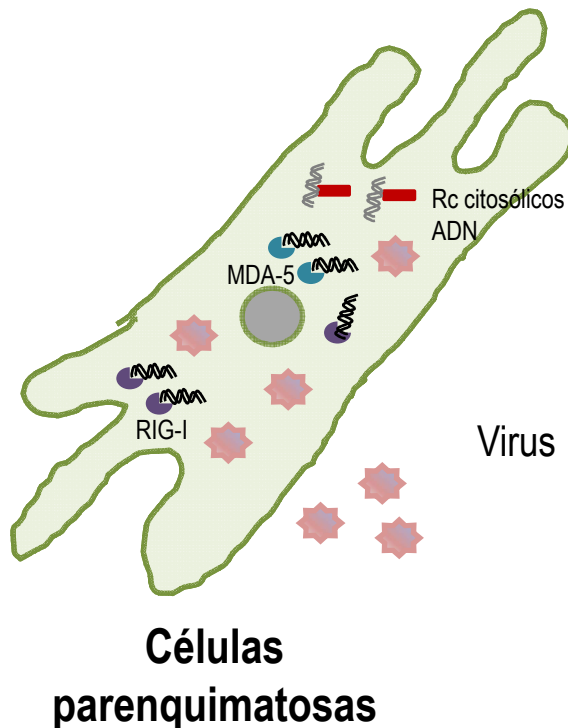


Proteínas antivirales

6 Las proteínas antivirales degradan al ARN viral e inhiben la síntesis de proteínas, interfiriendo con la replicación viral

¿Qué células producen IFNs de tipo I en respuesta a la infección viral?

- Prácticamente todos los tipos celulares poseen algún sensor capaz de detectar la presencia de una infección viral y en respuesta producir IFNs tipo I. Ejemplo: células epiteliales, células endoteliales, fibroblastos, células parenquimatosas y leucocitos.
- Sin embargo, las principales células productoras de IFN de tipo I son las **Células Dendríticas Plasmacitoides**



Células Dendríticas Plasmacitoides



Relevantes en etapas tempranas de infecciones virales

- Componen el 0.2-0.8% de las células mononucleares de sangre periférica
- Expresan TLR 7 y 9 a través de los cuales reconocen ADN y ARN virales
- Expresan una extraordinaria capacidad para producir interferones de tipo I
- Se ubican en sangre periférica y órganos linfáticos secundarios. En respuesta a procesos infecciosos son reclutadas en el tejido afectado.

Interferones de tipo I: una herramienta esencial en la inmunidad anti-viral

Los IFN de tipo I comprenden 16 miembros: 12 subtipos de IFN- α , IFN- β , IFN- ϵ , IFN- κ e IFN- ω . Casi todos los estudios relacionados a inmunidad anti-viral se han concentrado en las acciones mediadas por los IFN- α y β

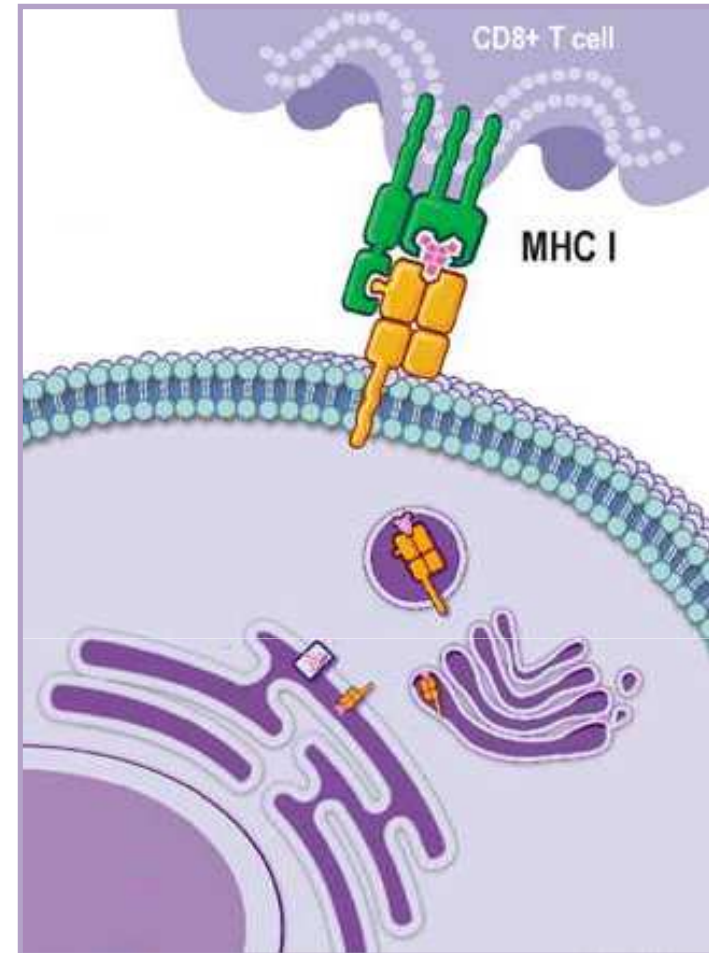
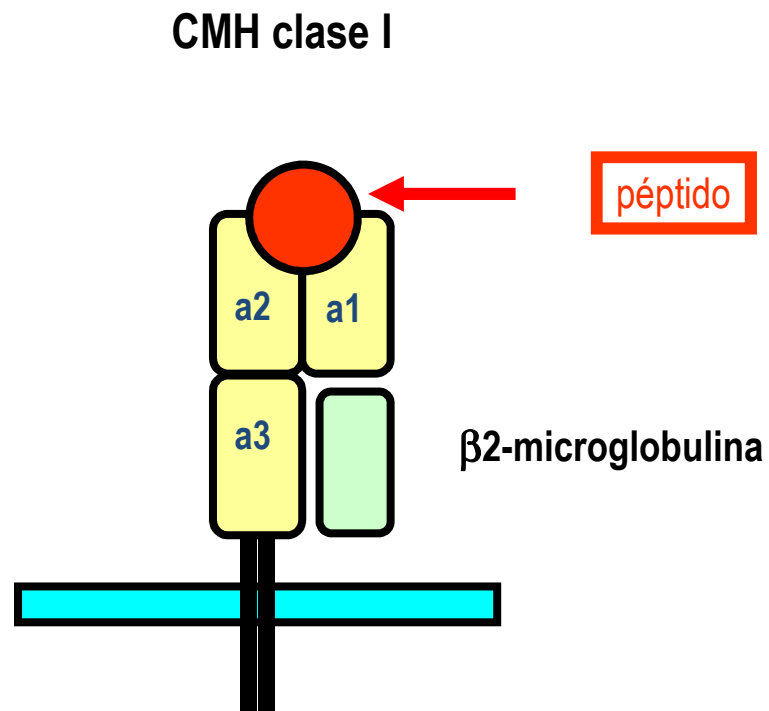
Los IFN de tipo I se caracterizan por ejercer una poderosa acción anti-viral, estimulando la transcripción de 500 a 2000 genes (ISGs, *IFN-stimulated genes*), cuyos productos (proteínas) median el establecimiento de un estado anti-viral.

Funciones de los interferones α/β

- Sus acciones biológicas son mediadas a través de un receptor, común para los interferones α y β , denominado IFNAR

Funciones mediadas por los Interferones de tipo I

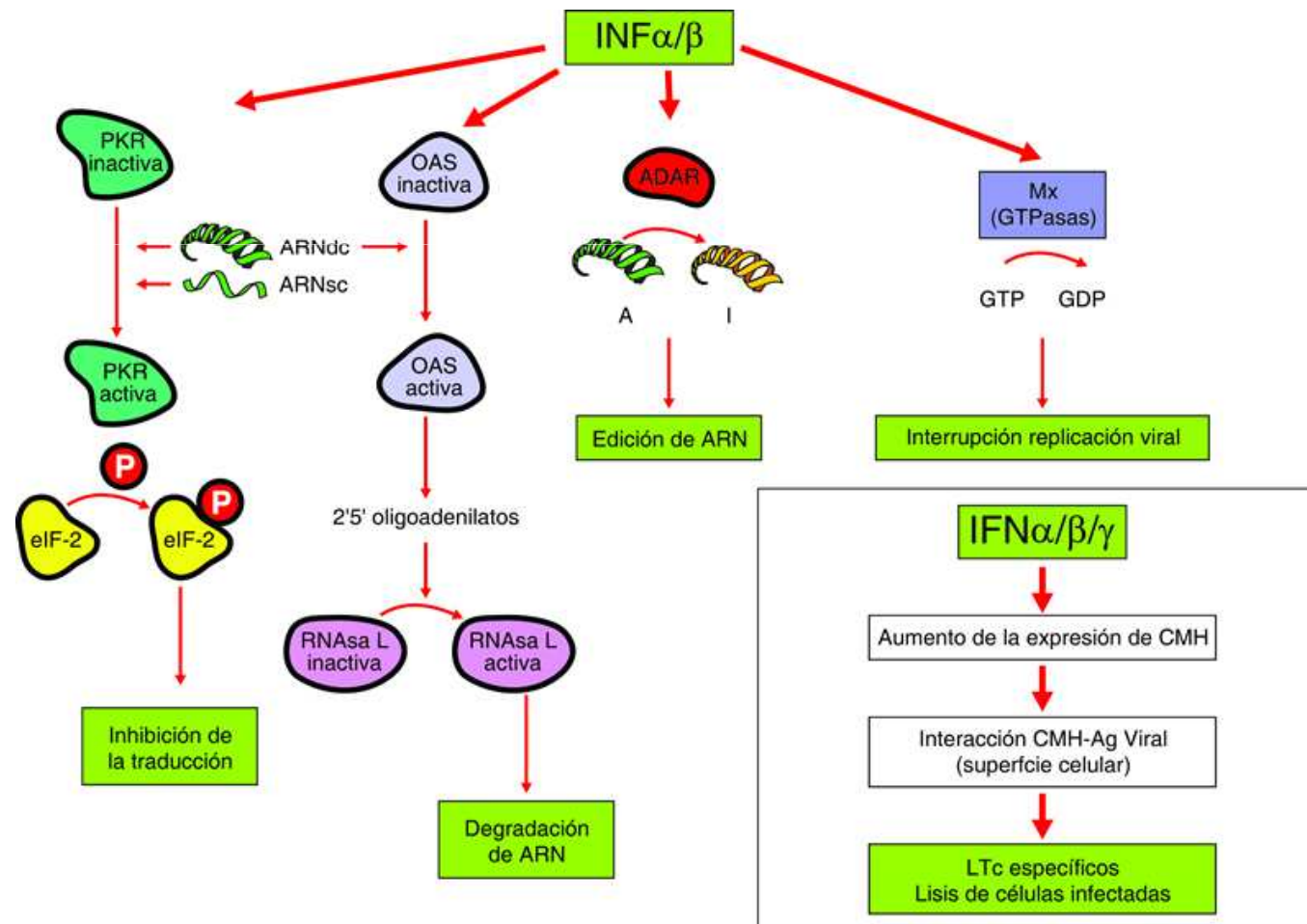
- ☐ Tornan a las células vecinas refractarias a la infección viral
- ☐ Activan a las células NK
- ☐ Incrementan la expresión de moléculas de histocompatibilidad (CMH) de clase I
- ☐ Incrementan la presentación antigénica a través de moléculas CMH Clase I
- ☐ Favorecen el desarrollo de la memoria T



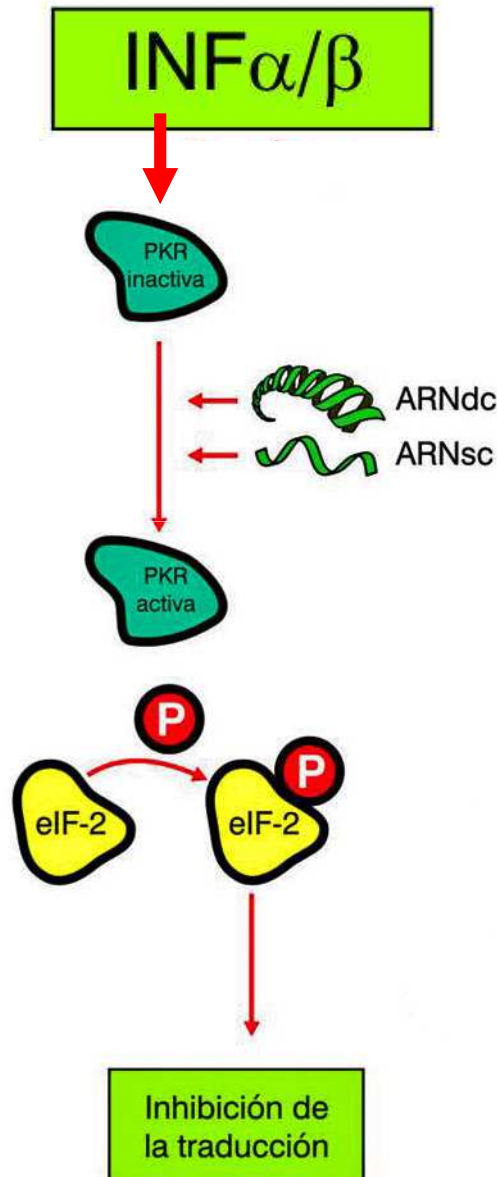
El detalle de la estructura y función de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) y las vías de procesamiento y presentación antigénica se estudiarán en próximas clases.

Efectos anti-virales de los interferones α/β

La interacción de los interferones α y β con su receptor resulta en la transcripción de más de 500 genes diferentes (*Interferon stimulated genes*, ISGs), responsables de inducir un “estado antiviral” en las células infectadas y en células vecinas



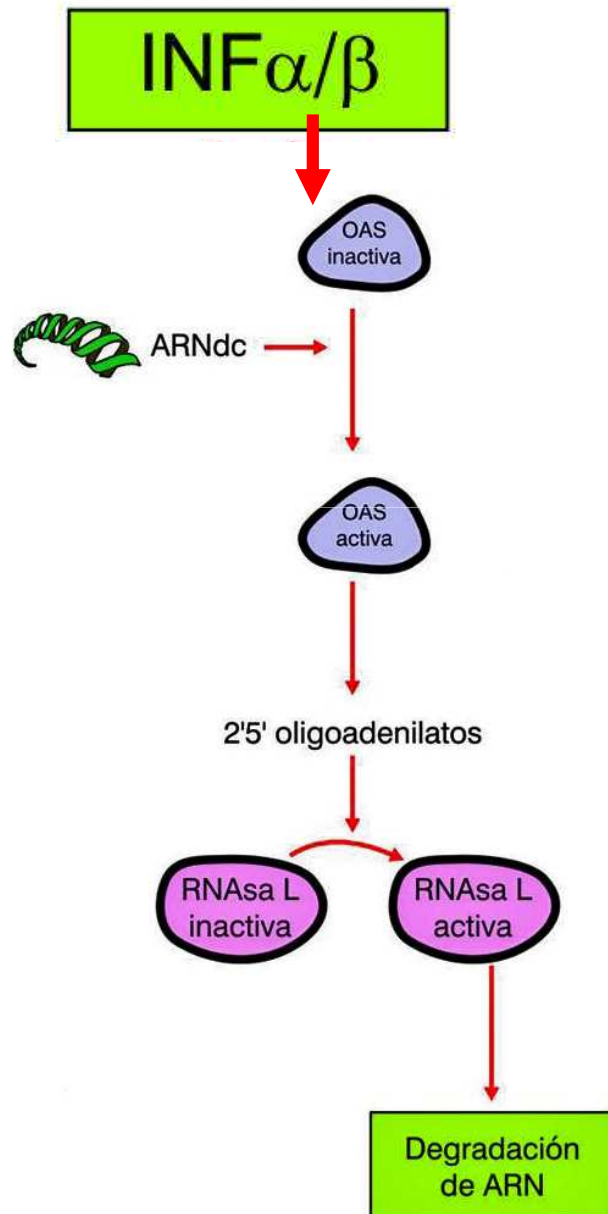
Algunos ejemplos de ISGs (*Interferon stimulated genes*) y sus efectos en las células



La interacción de los interferones α y β con su receptor resulta en la transcripción de la **proteína quinasa R (PKR)**, la cual puede activarse por reconocer ARN viral y de esa forma inactivar por fosforilación al factor de traducción eIF-2 responsable del inicio de la traducción proteica.

Consecuencia: inhibición de la síntesis proteica y, consecuentemente, de la replicación viral.

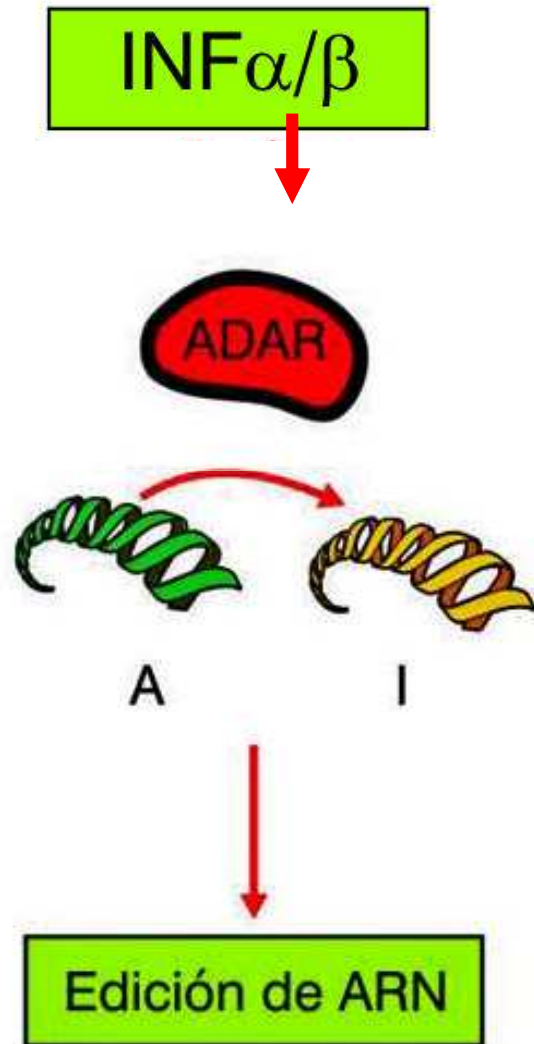
Algunos ejemplos de ISGs (*Interferon stimulated genes*) y sus efectos en las células



La interacción de los interferones α y β con su receptor resulta en la transcripción de la **Oligoadenilato Sintetasa (OAS)** la cual puede activarse por reconocer ARN viral y de esa forma sintetizar oligoadenilatos producidos a partir del ATP capaces de activar a la enzima Ribonucleasa L (RNasa L) capaz de degradar RNA viral.

Consecuencia: degradación del ARN e inhibición de la replicación viral.

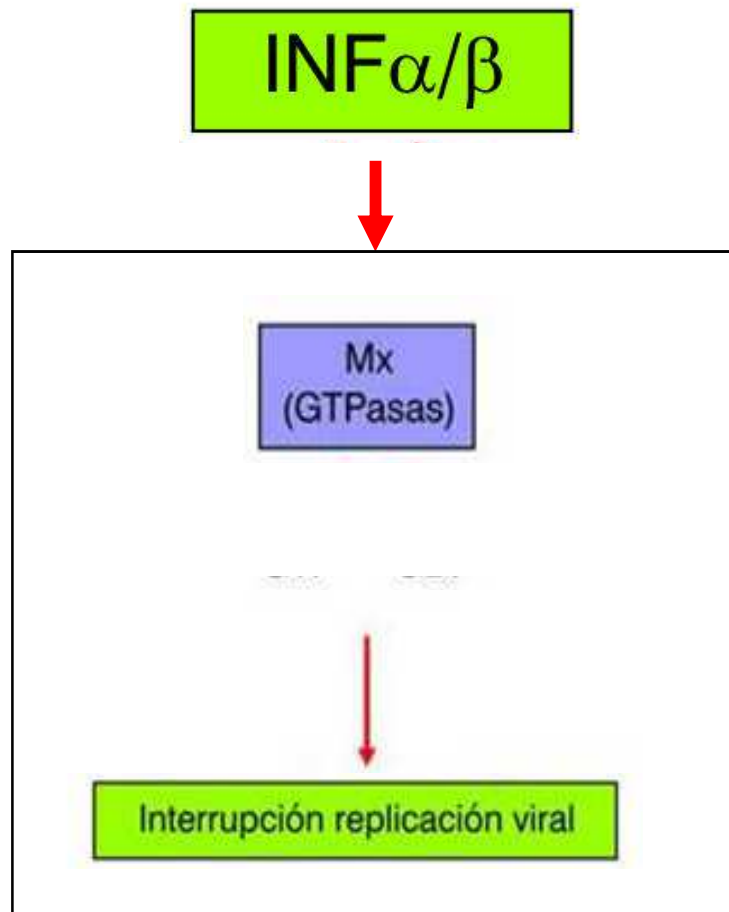
Algunos ejemplos de ISGs (*Interferon stimulated genes*) y sus efectos en las células



La interacción de los interferones α y β con su receptor resulta en la transcripción de la **Adenosina Deaminasa (ADAR)** la cual modifica la secuencia nucleotídica del ARN incrementando el número de proteínas mutadas en las células infectadas.

Consecuencia: Edición del ARN e inhibición de la replicación viral.

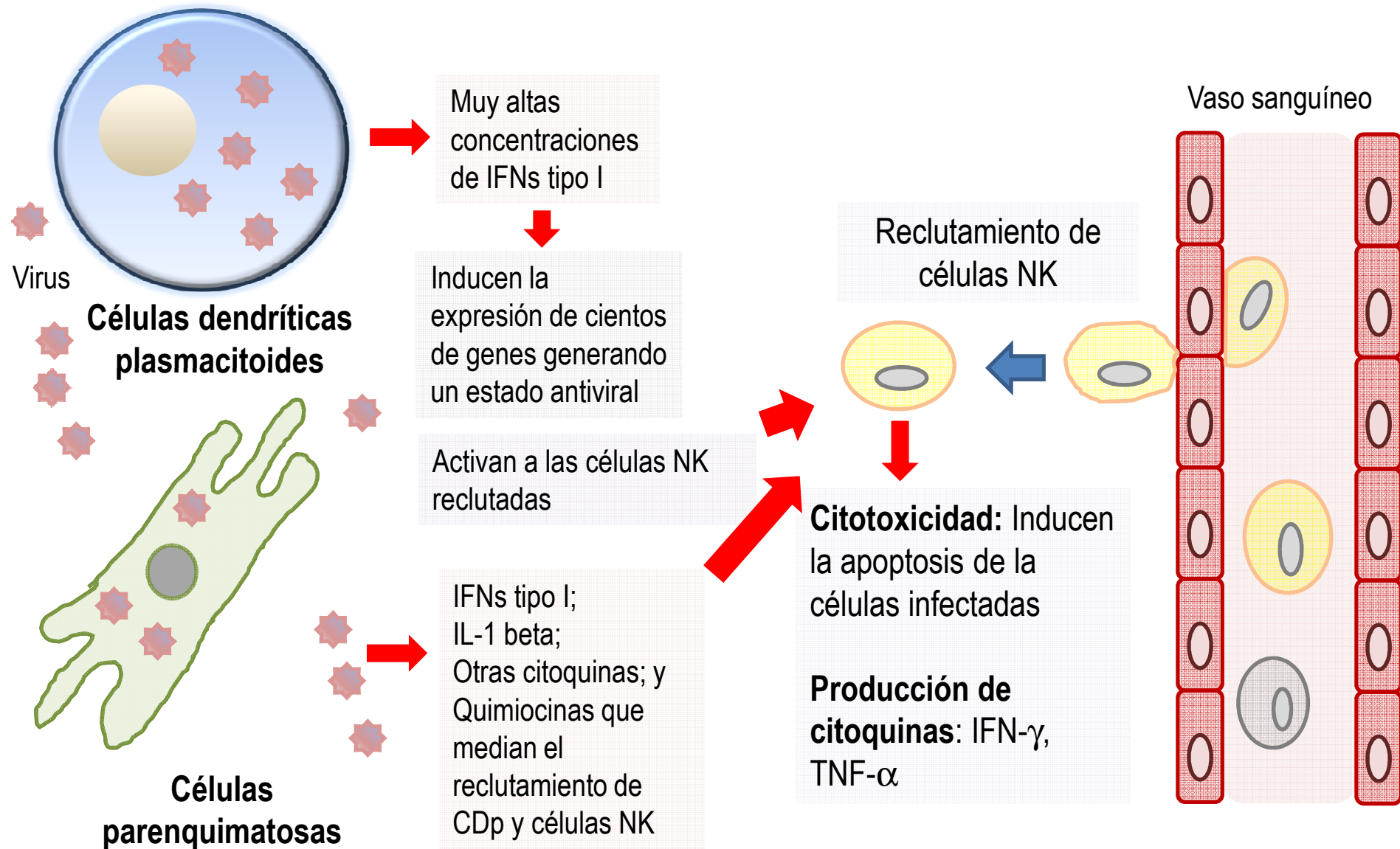
Algunos ejemplos de ISGs (*Interferon stimulated genes*) y sus efectos en las células



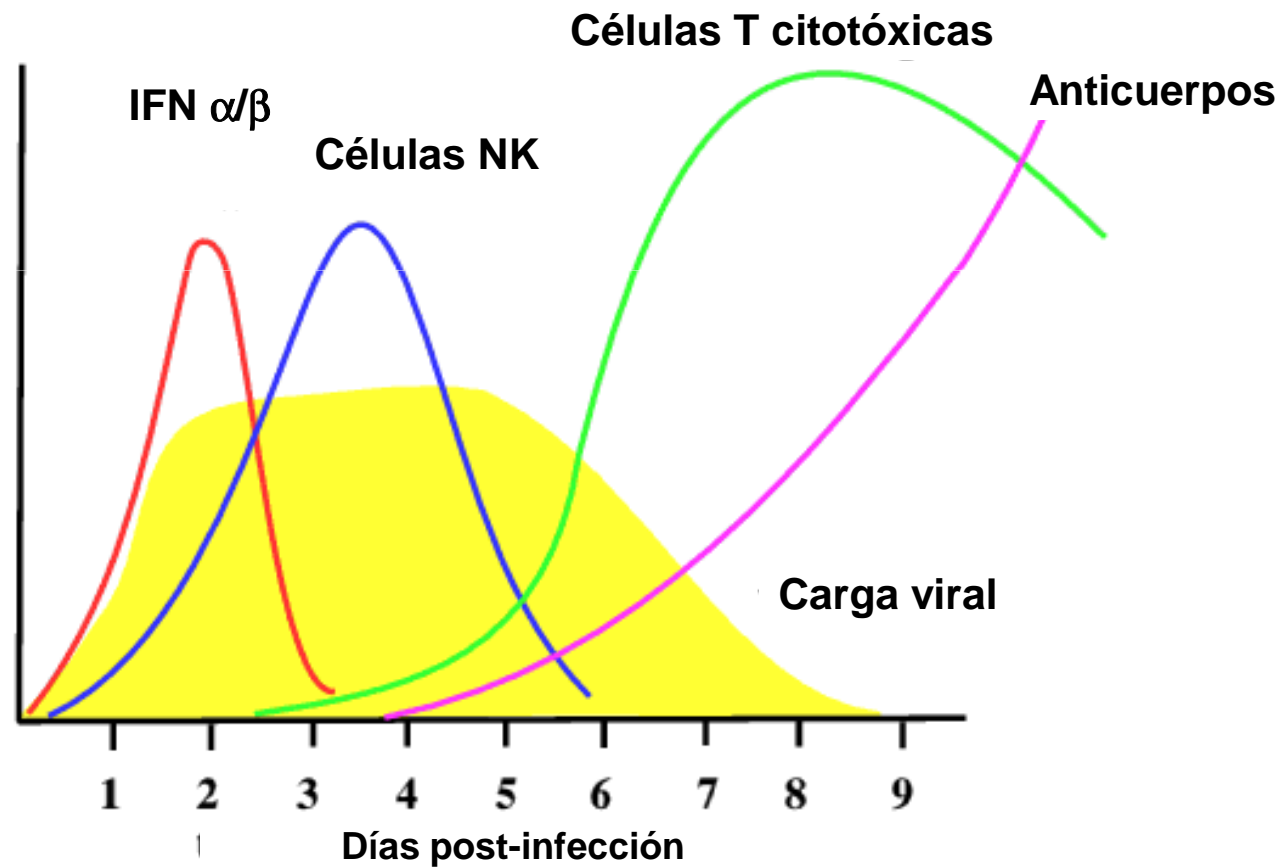
La interacción de los interferones α y β con su receptor resulta en la transcripción de las **GTPasas Mx**. La proteína MxA se acumula en el citoplasma de las células tratadas con IFN α/β e interactúa con la nucleocápsides virales, inhibiendo su transporte o alterándolas.

Consecuencia: Interrupción de la replicación viral.

¿Qué características tiene la respuesta innata antiviral?



Los interferones de tipo I y las células NK proveen protección temprana frente a infecciones virales



Células NK e importancia en humanos. Casos de deficiencias de células NK y susceptibilidad a patógenos

Deficiencias absolutas		Deficiencias funcionales	
Caso	Infecciones (patógenos)	Caso	Infecciones (patógenos)
1	VZV, CMV, HSV	1	EBV
2	VZV, <i>M. avium</i>	2	EBV
3	CMV	3	virus respiratorios
4	VZV	4	CMV, VZV
5	VZV	5	neumonía viral, EBV, HSV, VZV
6	neumonía viral, EBV	6	HSV, virus respiratorios

Funciones de las células NK

- Inmunidad anti-viral
- Inmunidad contra bacterias y parásitos intracelulares
- Inmunidad anti-tumoral
- Regulación de la inmunidad adaptativa

¿Cómo hacen las células NK para reconocer a las células blanco?

Utilizan receptores de ACTIVACIÓN y de INHIBICIÓN



¿Cómo hacen las células NK para reconocer a las células blanco?

Receptores inhibitorios de células NK



Receptores de activación de células NK

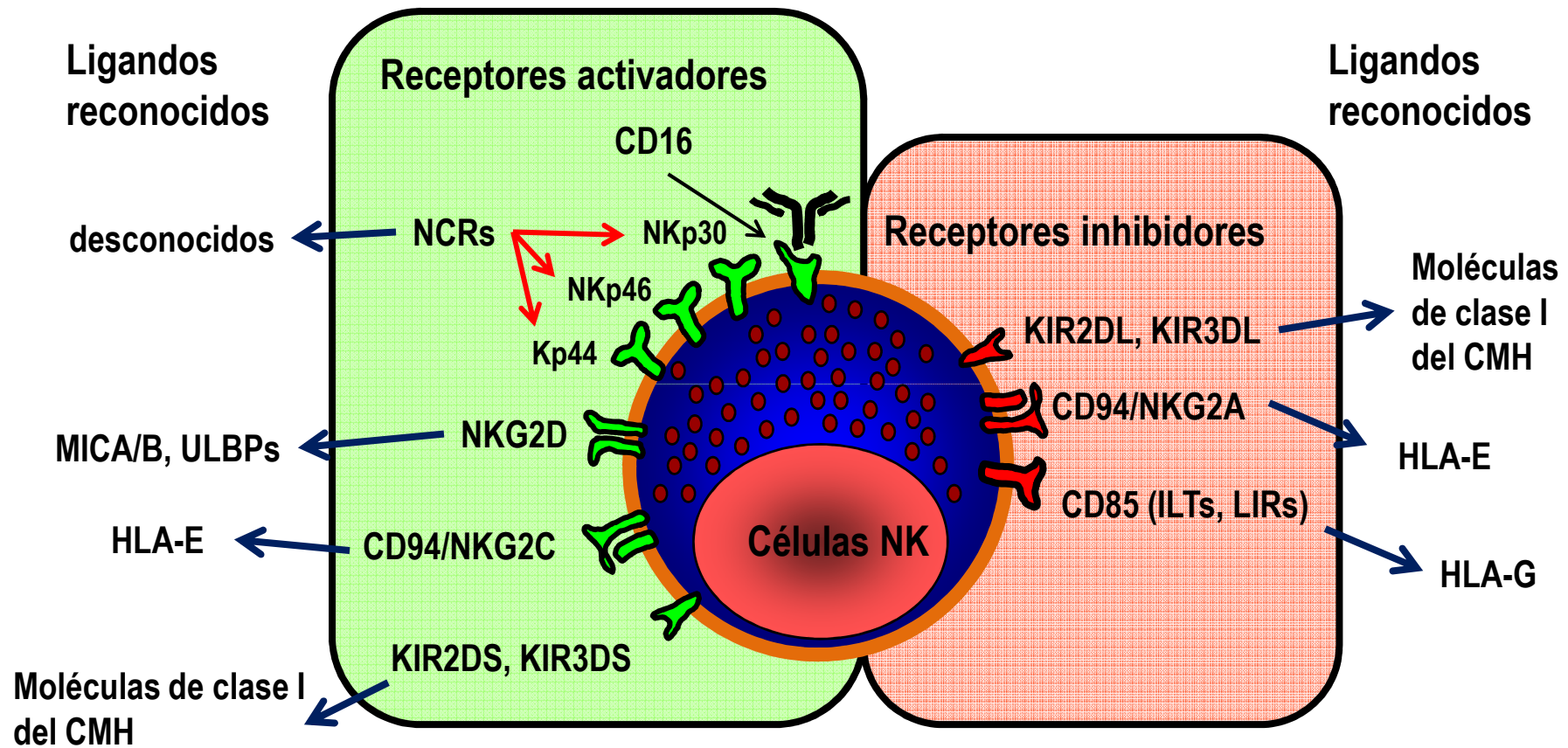
INFECCIÓN VIRAL, TRANSFORMACIÓN NEOPLÁSICA

Receptores inhibitorios de células NK



Receptores de activación de células NK

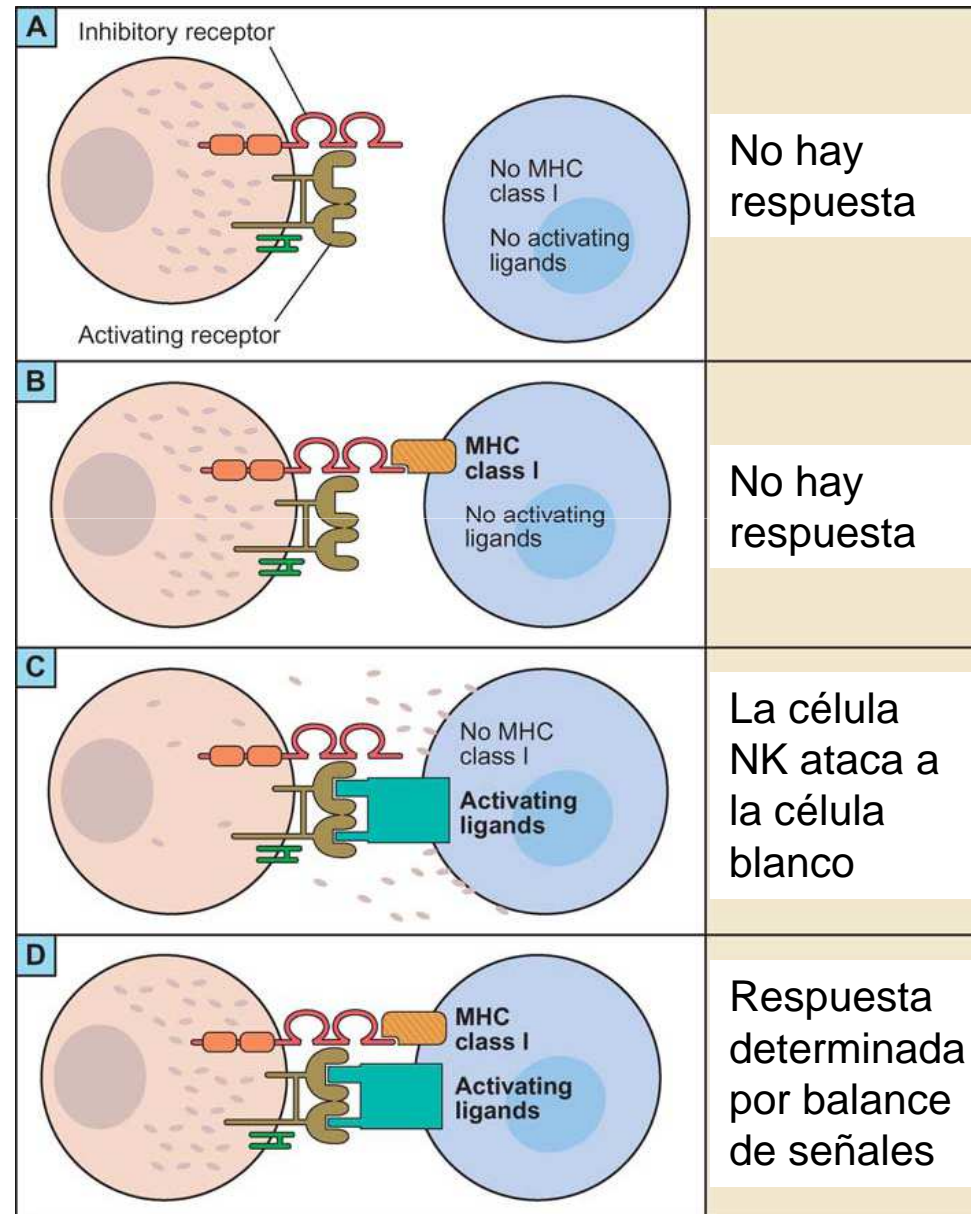
¿Qué receptores activadores e inhibidores expresan las células NK?



NCRs: familia de Receptores de Citotoxicidad Natural

KIR: killer Ig-like receptors

Reconocimiento, balance de señales y activación de las células NK



Mecanismos anti-infecciosos mediados por las células NK

- Citotoxicidad:
 - Mecanismo secretorio (exocitosis de gránulos)
 - Mecanismo no secretorio (activación de receptores de muerte)
- Producción de citocinas inflamatorias (fundamentalmente IFN- γ)

Mecanismos citotóxicos de la célula NK

Ejemplo de la interacción a través del receptor activador NKG2D

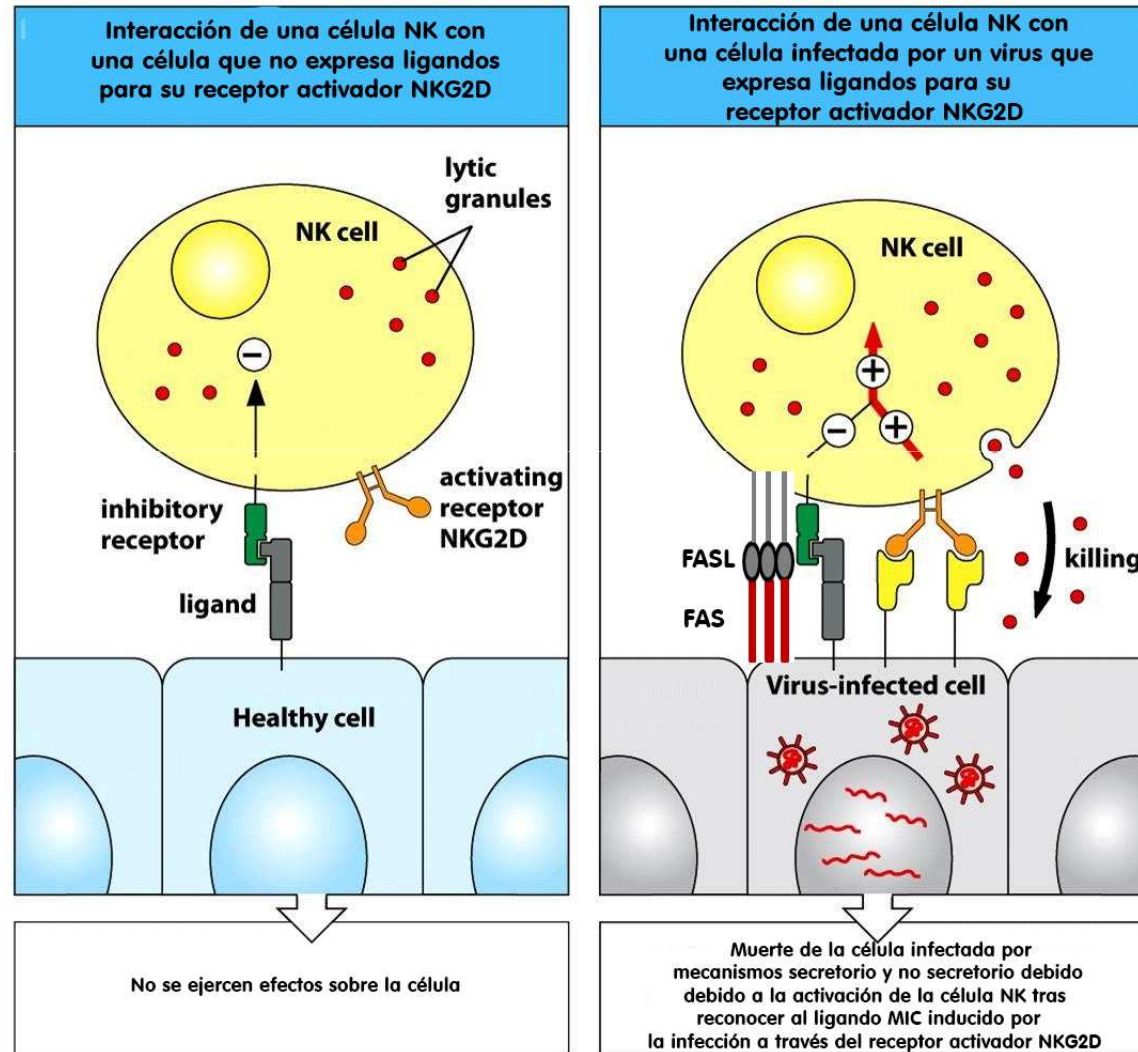
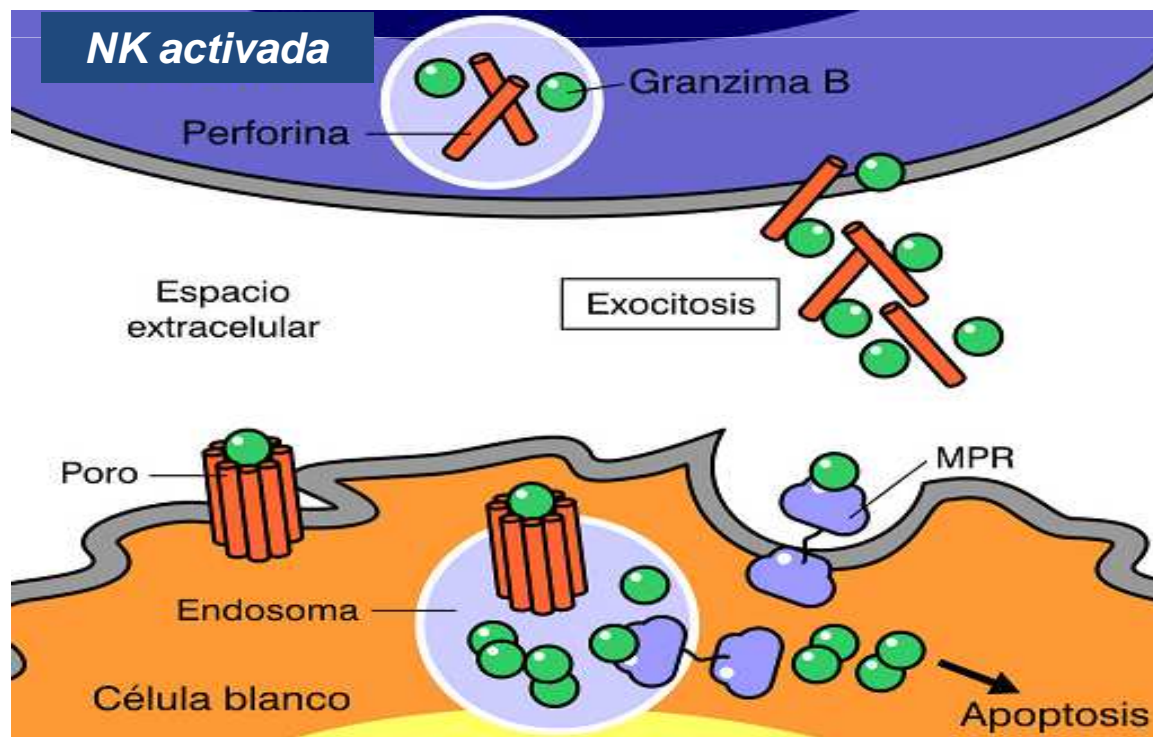
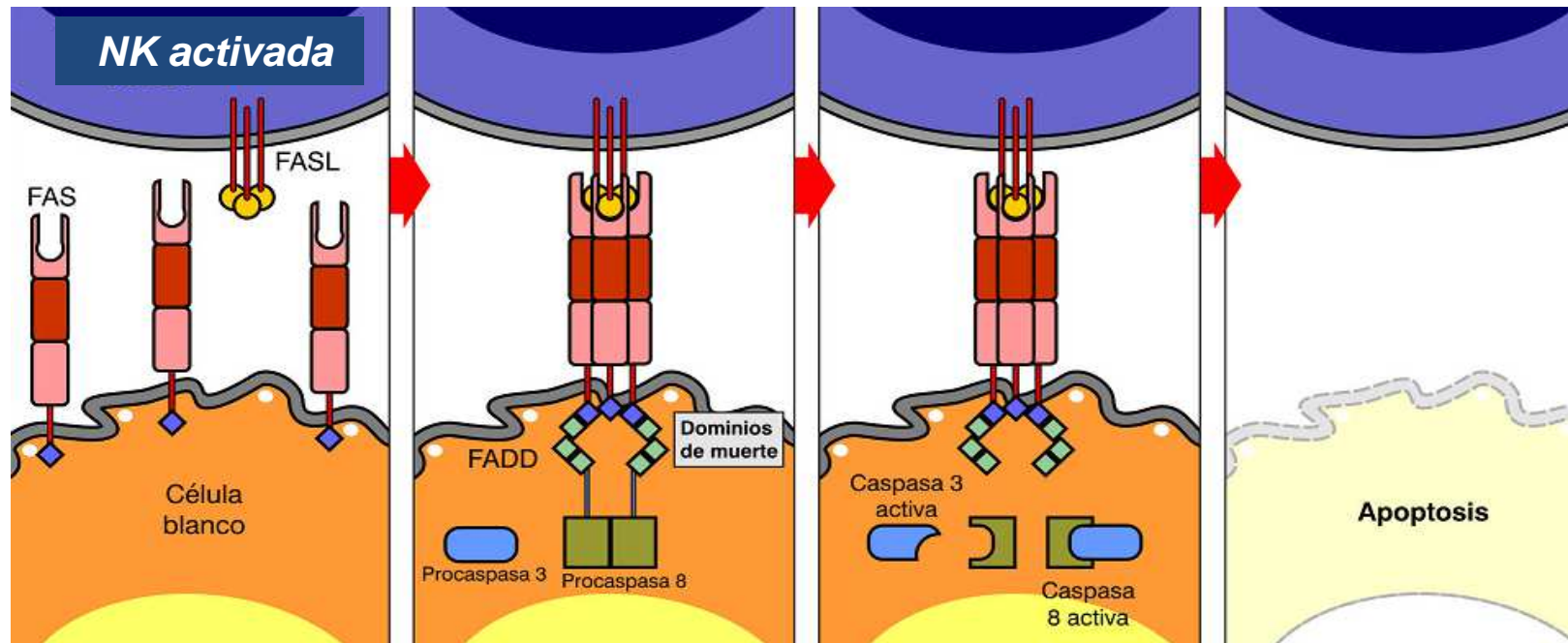


Figure 2.49 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

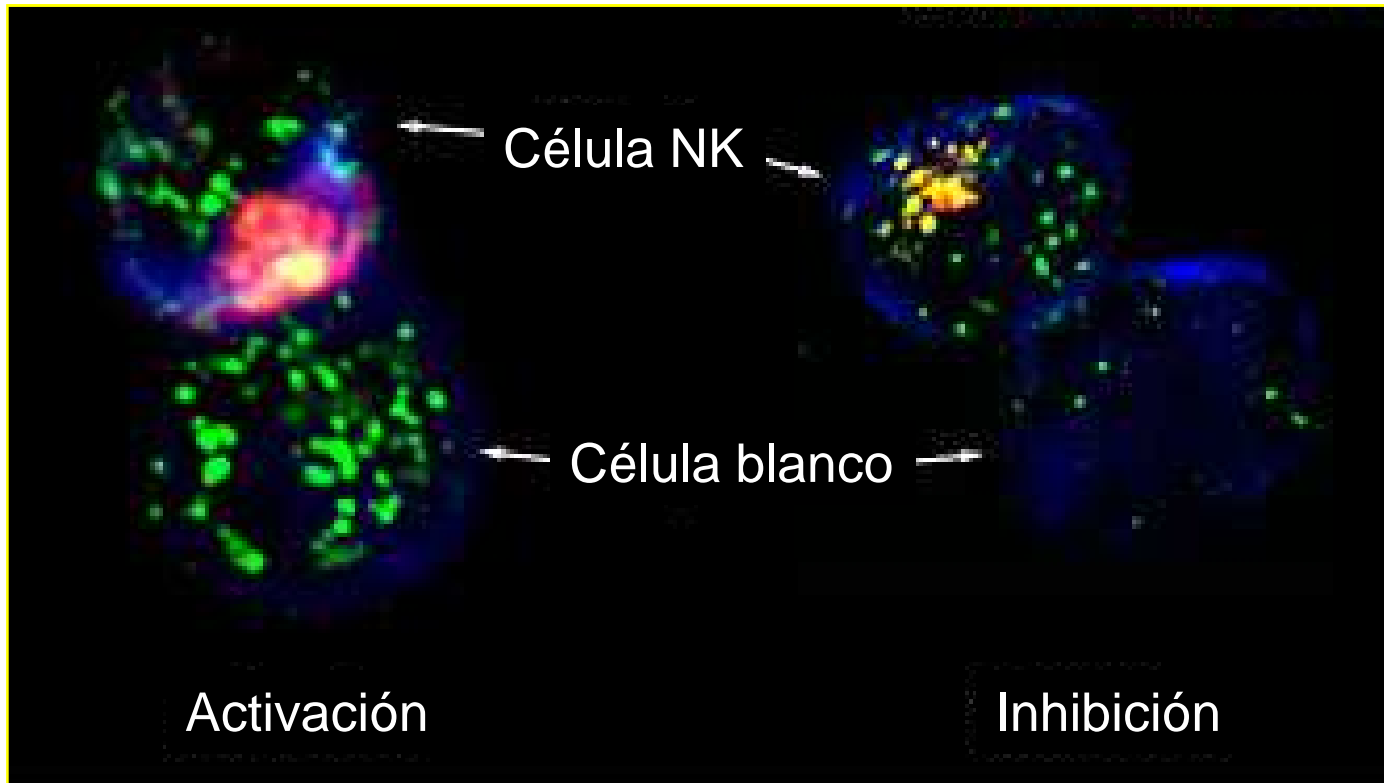
Modificado de *The Immune system, 3ed.*
(Garland Science 2009)



La citotoxicidad NK involucra mecanismos:

- **SECRETORIOS** (perforinas y granzimas) y
- **NO SECRETORIOS** (Fas-FasL)

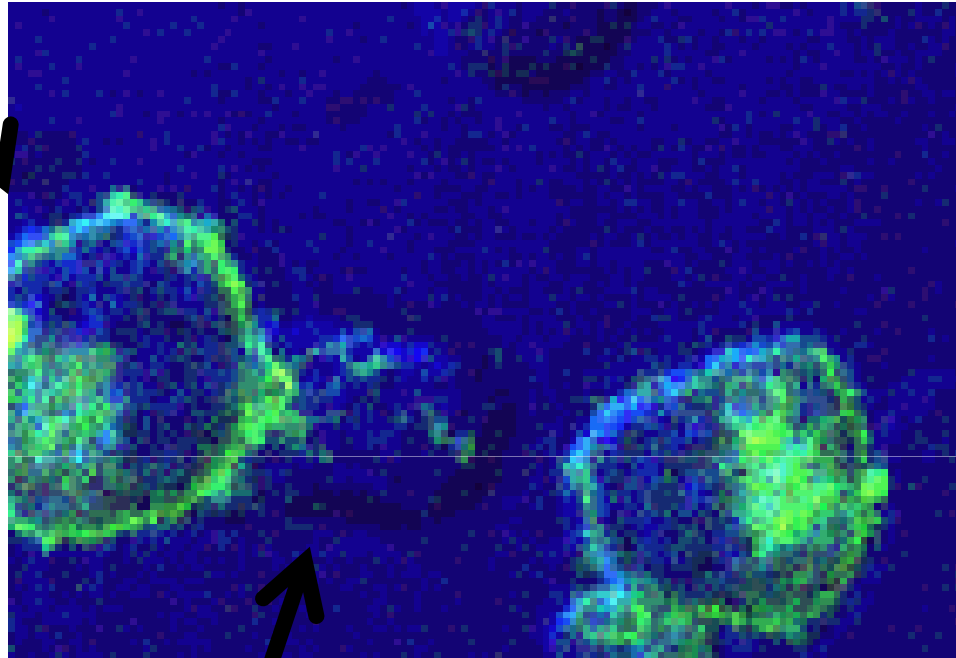
Las células NK pueden establecer dos clases de sinapsis inmunológicas



Polarización de los
gránulos citotóxicos

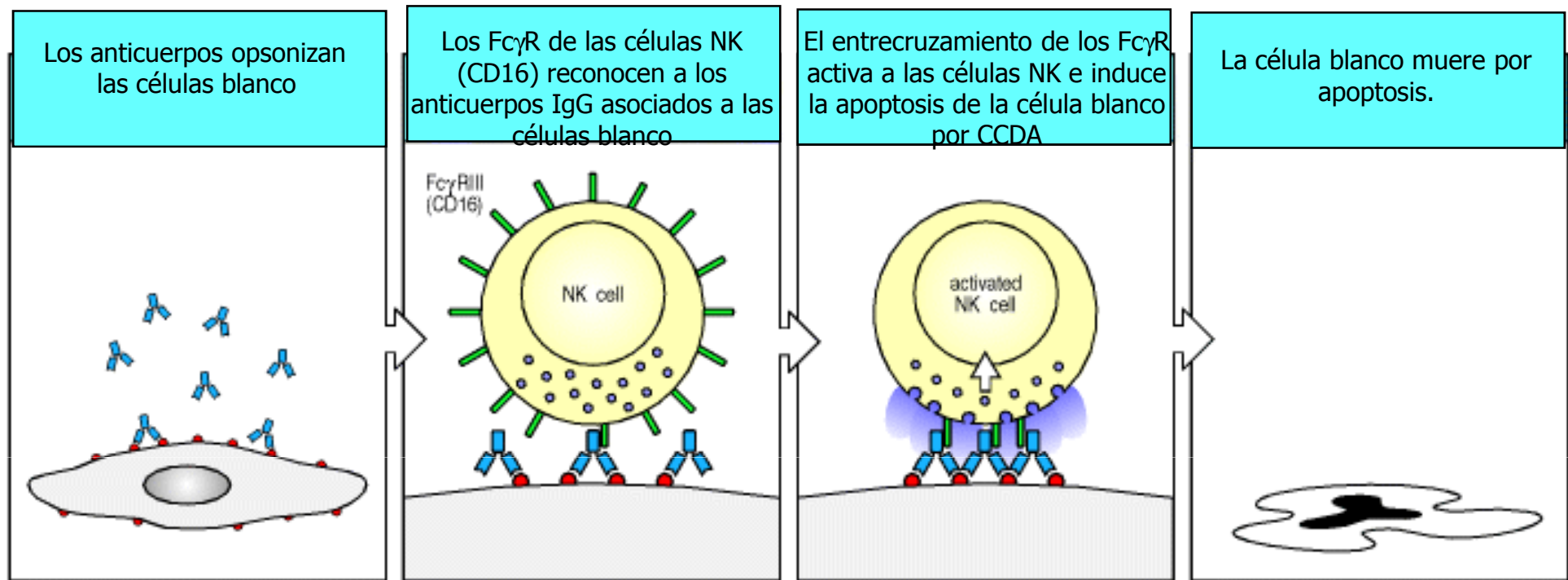
No hay polarización de
los gránulos citotóxicos

Linfocito T CD8 marcado con
fluorocromo verde

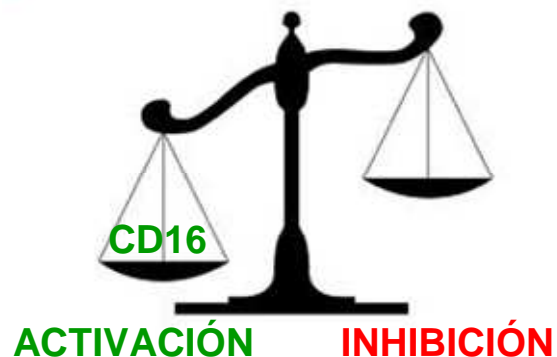


Ver cómo a lo largo de la animación, la célula tumoral adquiere la fluorescencia verde de los linfocitos TCD8. Se aprecia el pasaje de moléculas de membrana marcadas que luego son endocitadas por la célula tumoral. En esas membranas están las granzimas y perforinas que terminan provocando la apoptosis de la célula tumoral. Un proceso similar ocurre con las células NK.

Citotoxicidad celular dependiente de Ac: CCDA



El CD16 de las células NK es un receptor de **ACTIVACIÓN** muy potente que media la CCDA.



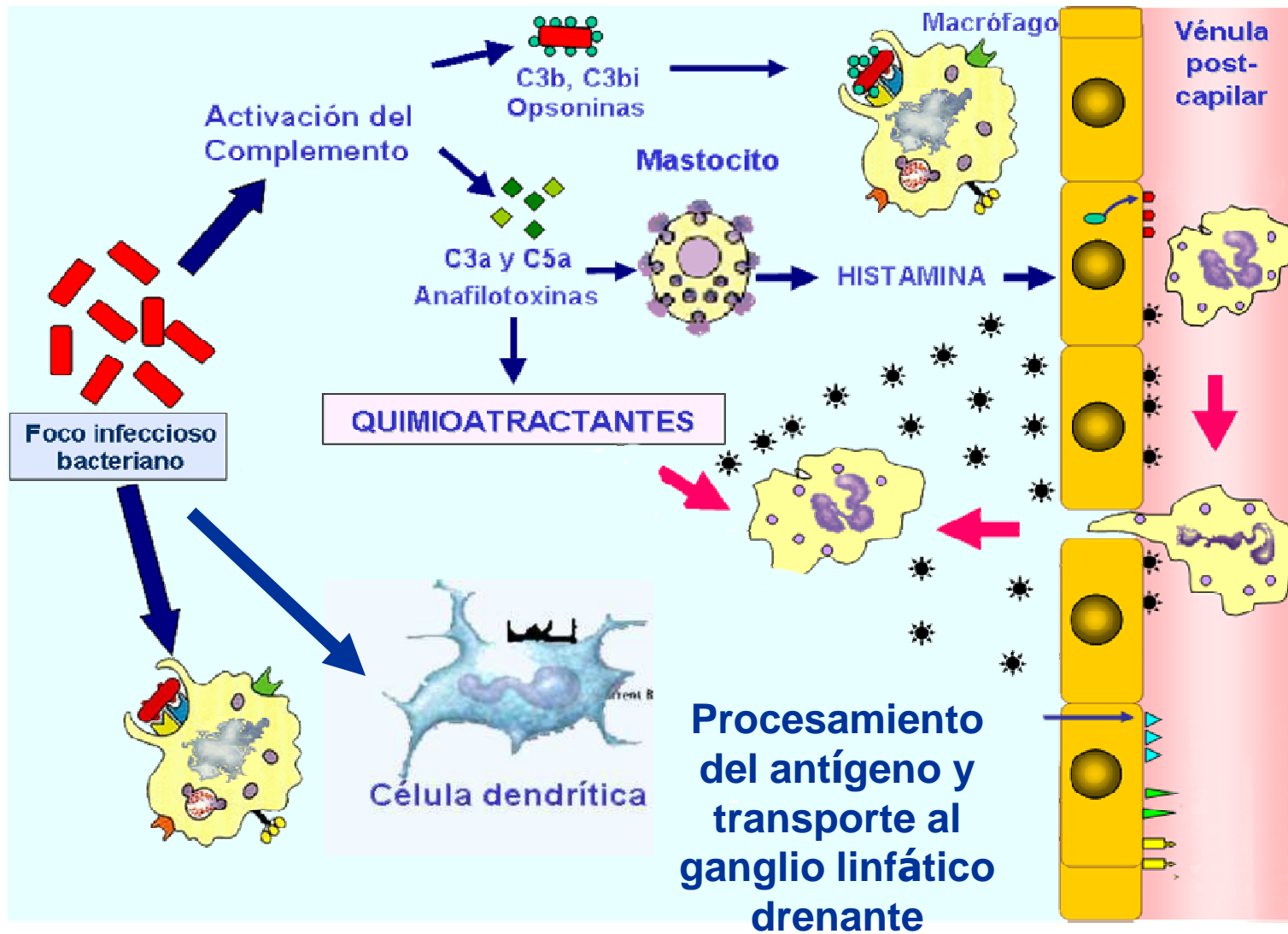
Las moléculas que median la inducción de apoptosis en la célula blanco son, al igual que cuando la citotoxicidad es gatillada a través de otros receptores de activación de la célula NK, las perforinas y granzimas (mecanismo secretorio de citotoxicidad)

Dos poblaciones de células NK	
Representan el 90% de las células NK de sangre periférica	Representan el 10% de las NK de sangre periférica
Ejercen sus funciones en tejidos periféricos y mucosas	Ejercen funciones en órganos linfáticos secundarios
<ul style="list-style-type: none"> • Intensa expresión de perforinas y granzimas. • Alta expresión del marcador CD16 • Moderada expresión del marcador CD56 	<ul style="list-style-type: none"> • Débil expresión de perforinas y granzimas • Moderada o nula expresión del marcador CD16 • Alta expresión del marcador CD56 
<ul style="list-style-type: none"> • Exhibe alta actividad citotóxica natural. • Pueden mediar la CCDA en forma eficiente. • Baja capacidad de producir citoquinas 	<ul style="list-style-type: none"> • Alta capacidad de producir citoquinas. • Baja actividad citotóxica natural. • Baja capacidad de mediar CCDA.

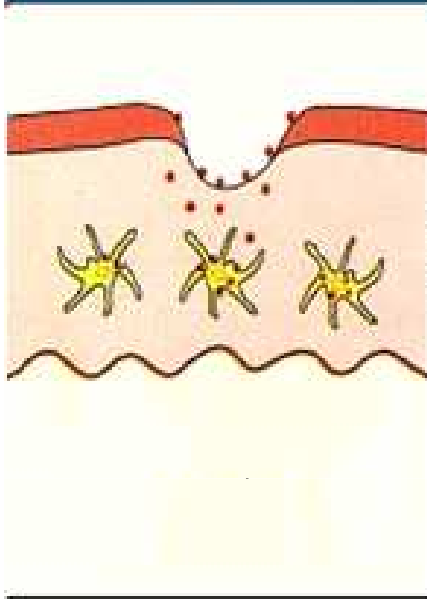
La respuesta innata

- En ciertos casos logra erradicar la infección
- En otros, en cambio, permite evitar la diseminación del patógeno hasta que se active una respuesta adaptativa
- Contribuye a determinar la naturaleza de la respuesta adaptativa subsecuente

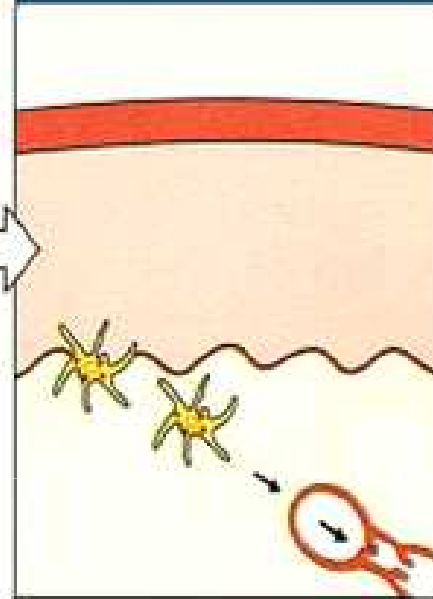
La respuesta innata modela la respuesta adaptativa



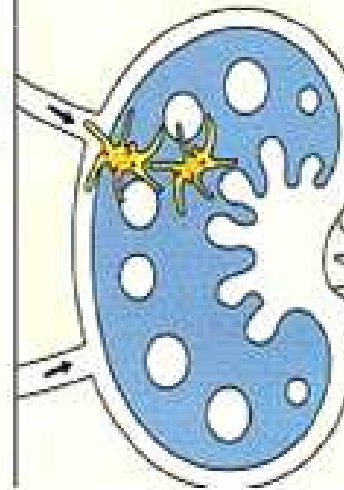
Las CD capturan el antígeno y lo procesan.



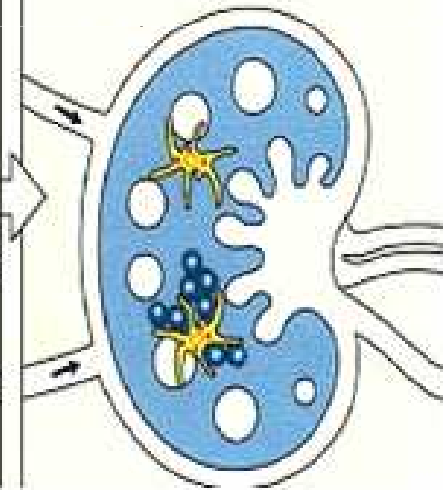
Las CD emigran de la piel por los vasos linfáticos aferentes.



Las CD ingresan al ganglio y completan su maduración.



Las CD maduras estimulan a los linfocitos T.



Sin embargo...

No sólo los microorganismos desencadenan
respuestas inflamatorias



Los mecanismos innatos también pueden desencadenarse en respuesta a situaciones de daño estéril como el daño tisular ocasionado por una cirugía, por la exposición a radiaciones o a agentes químicos o físicos

La muerte celular por necrosis induce la infiltración del tejido por neutrófilos y monocitos



¿Qué mecanismos subyacen a estos acontecimientos?

Los **RRP** no sólo se activan en respuesta a **PAMP**

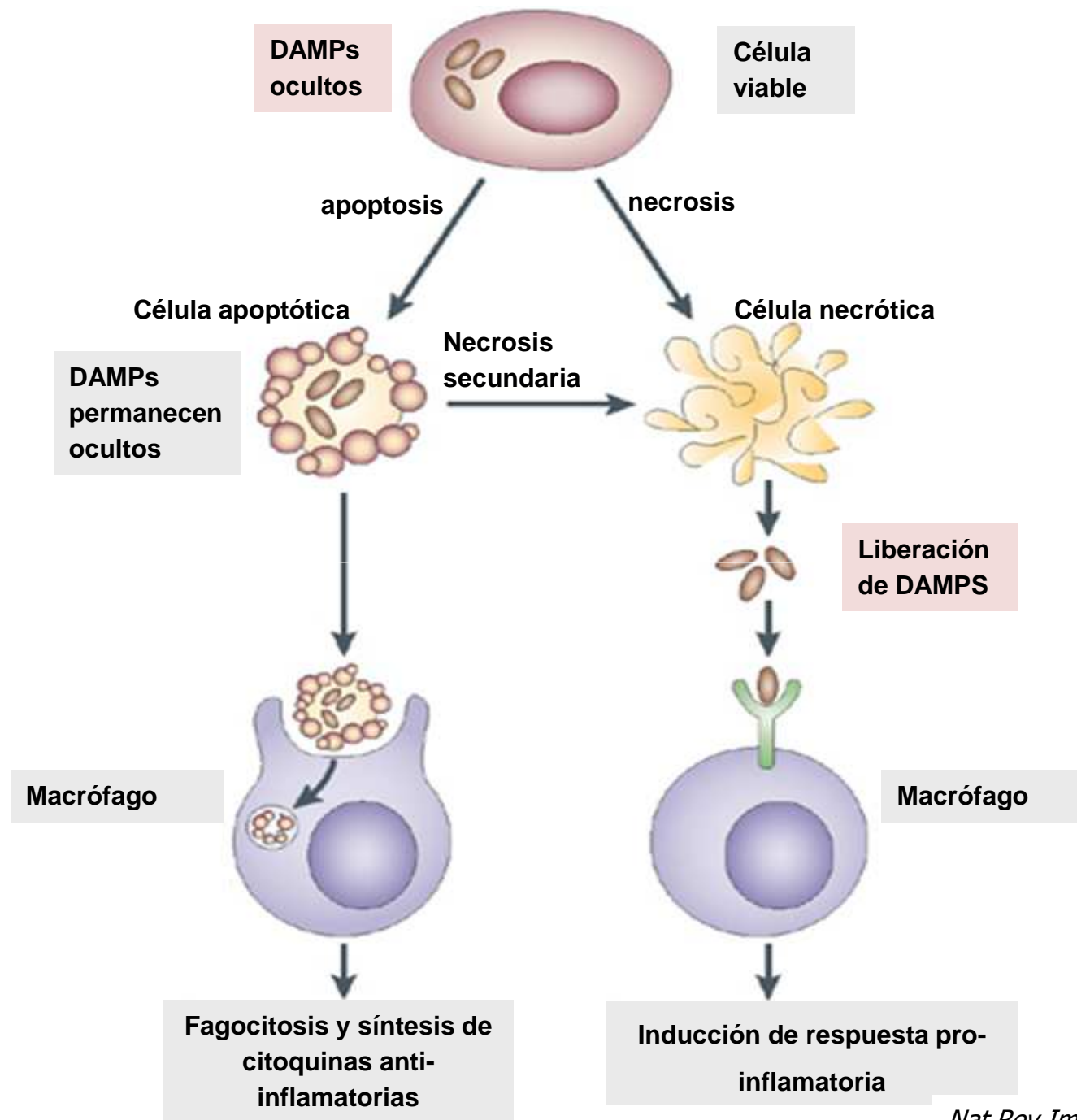
Señales endógenas conocidas como **patrones moleculares asociados al daño** o **DAMP** y algunos agentes físicos y químicos ambientales activan a ciertos RRP induciendo respuestas inflamatorias

DAMPs

- Moléculas que usualmente se encuentran ocultas en el interior de la célula y son liberadas cuando la célula muere por necrosis. En algunos casos, pueden ser moléculas usualmente presentes en mitocondria, que son liberadas al citoplasma a consecuencia de la disrupción mitocondrial (ADNm)
- Moléculas generadas por la fragmentación de componentes de la matriz extracelular como consecuencia de daño tisular

Algunos ejemplos de DAMPs

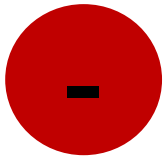
- Cristales de urato monosódico formados a partir de ácido úrico que activan al receptor NLRP3
 - ATP que activa al receptor NLRP3
 - HMGB1 que activa al TLR2, TLR4 y RAGE
-
- moléculas generadas por fragmentación del ácido hialurónico, colágeno, elastina y laminina



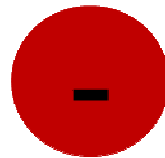
Posibles consecuencias de la activación de una respuesta inflamatoria en situaciones de daño estéril



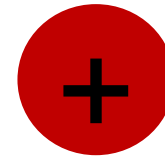
Deterioro de tejidos del huésped



Inducción de una respuesta adaptativa frente a Ags propios

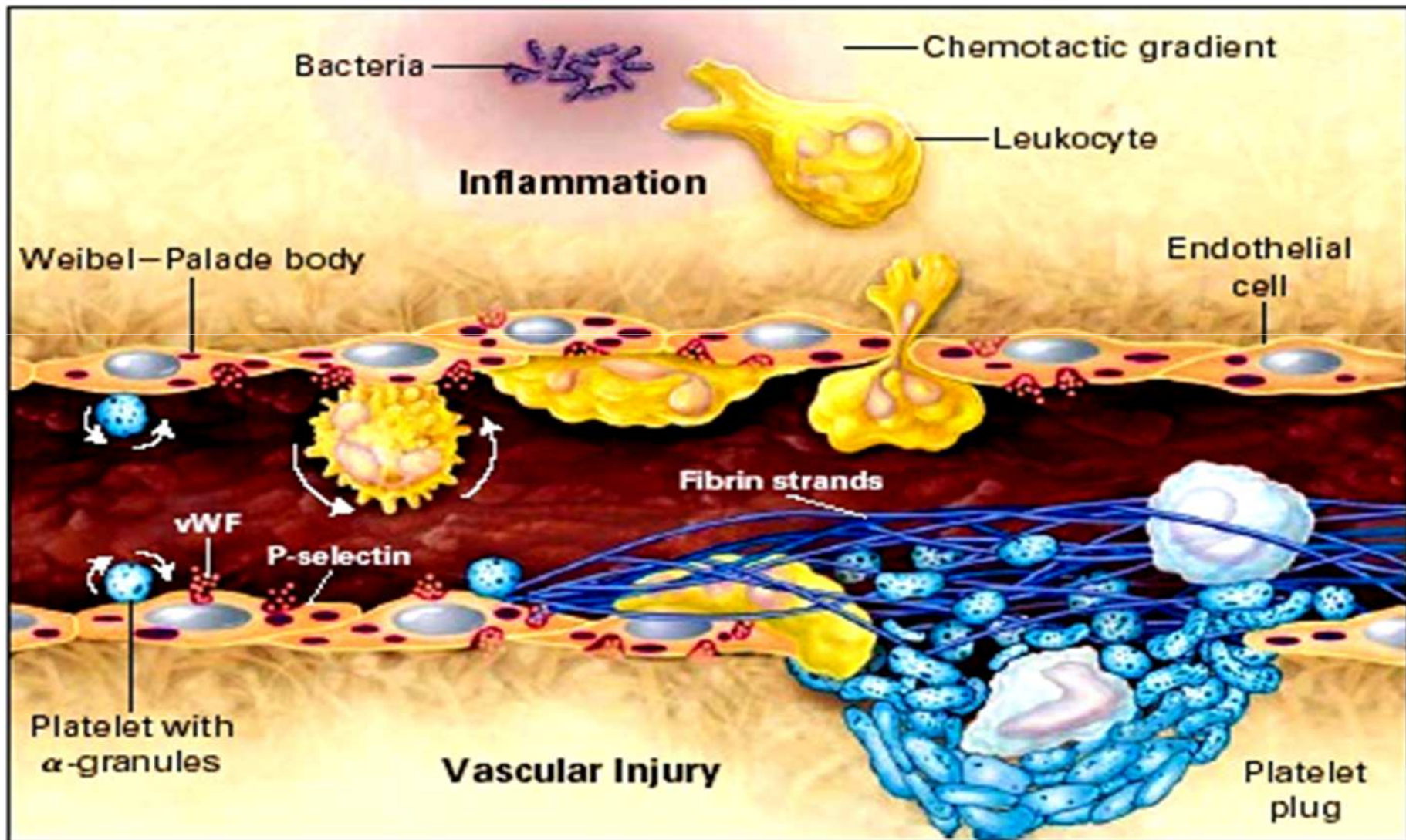


Respuesta requerida para la cicatrización y la restauración de la homeostasis del tejido ¿?



Tráfico leucocitario

¿Cómo acceden las células de la inmunidad innata a los focos de infección?

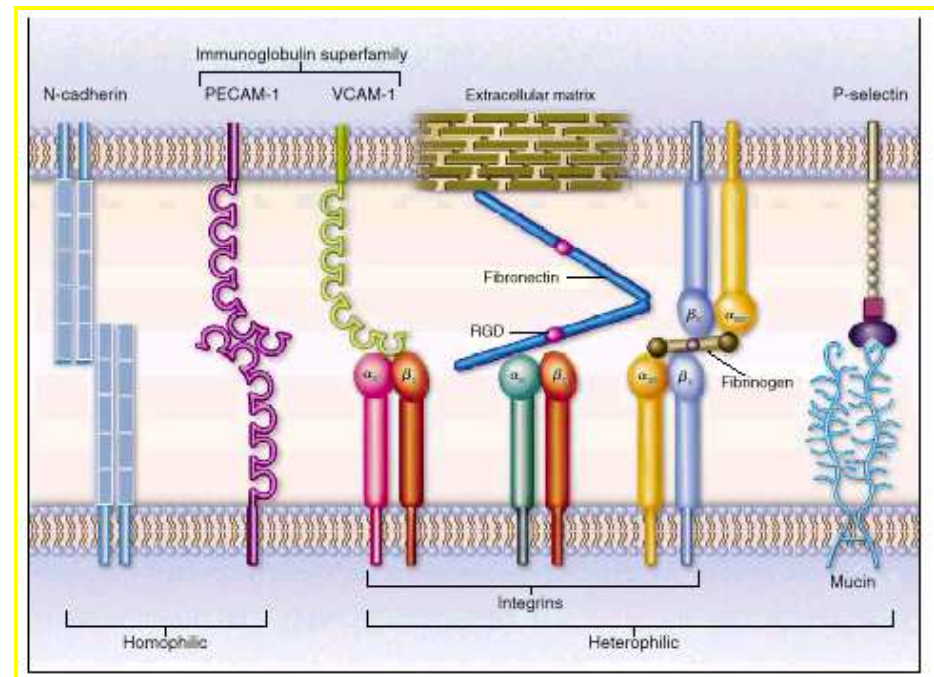


Qué determina la correcta migración de las células del sistema inmune a los tejidos donde deben desempeñar sus funciones?

- Patrón de expresión de moléculas de adhesión
- Patrón de expresión de receptores de quimiocinas y la distribución de dichas quimiocinas

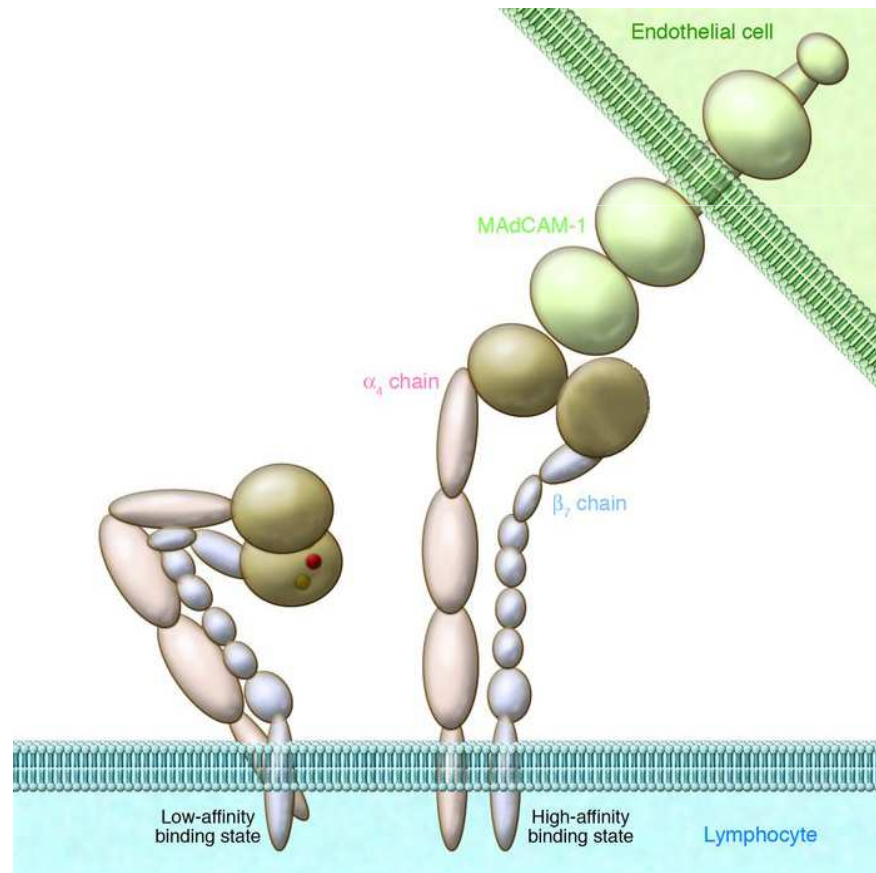
Familias de moléculas de adhesión

- Selectinas
- Sialomucinas
- Integrinas
- Moléculas pertenecientes a la superfamilia de Ig
- Cadherinas



Las integrinas exhiben distinta afinidad por sus ligandos dependiendo de su estado de activación

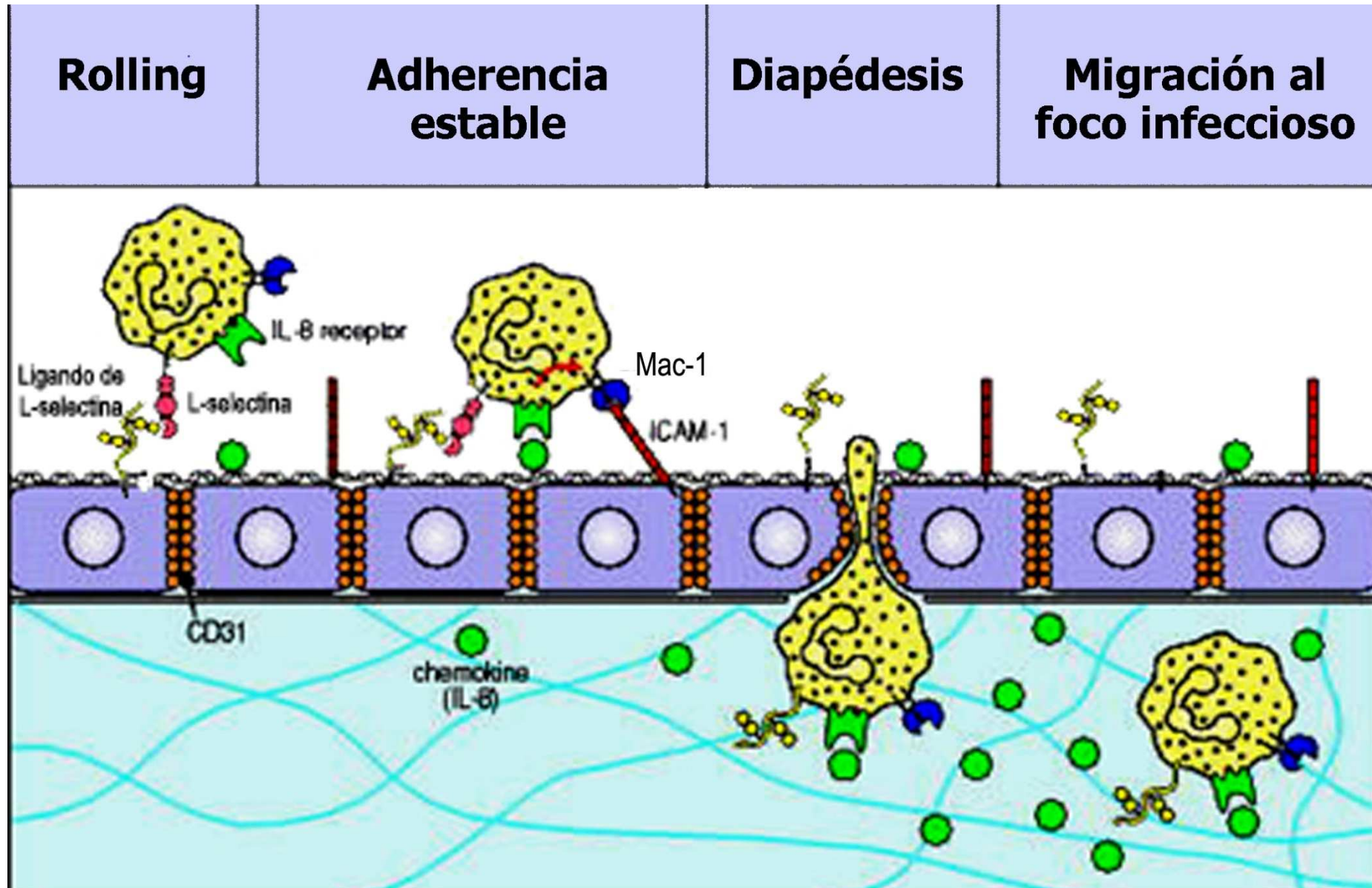
La afinidad aumenta por cambios conformacionales que ocurren en respuesta a señales percibidas por la célula que la expresa, por ejemplo aquellas impartidas por quimiocinas.



Quimioattractantes

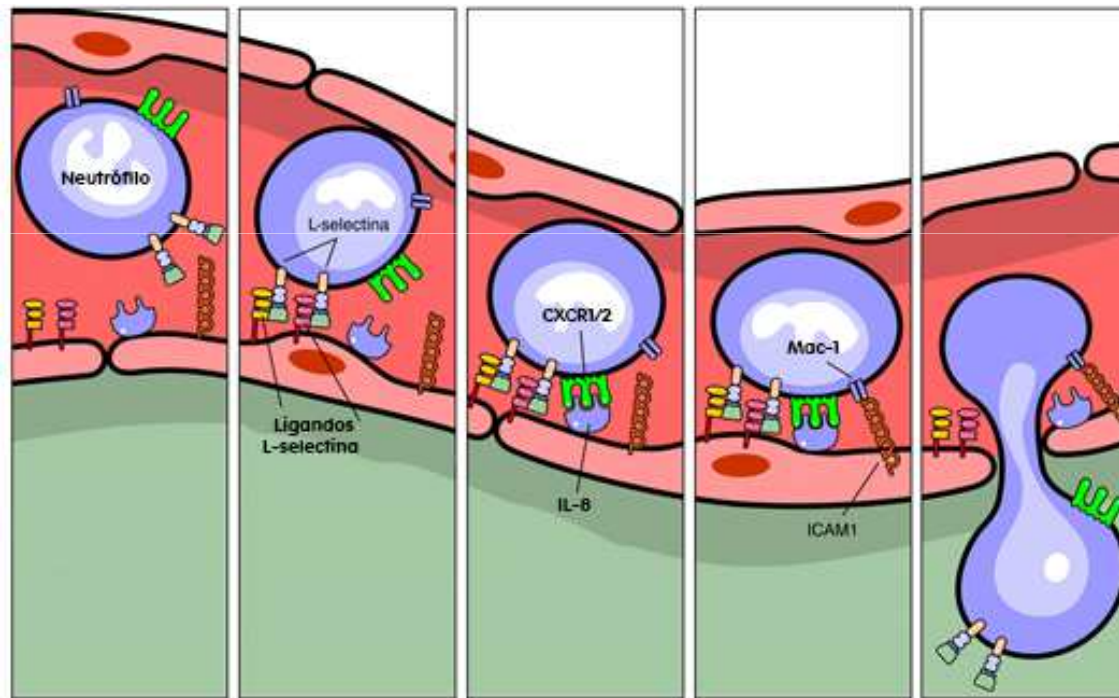
- Quimiocinas (IL-8, CCL19, CCL21, etc)
- Quimioattractantes lipídicos (LTB4)
- Péptidos formilados bacterianos
- Componentes del complemento activado (C3a, C5a)

Cascada de adhesión leucocitaria



Cascada de extravasación leucocitaria

- 1** Rolling
- 2** Adherencia estable
- 3** Diapédesis



Moléculas de adhesión implicadas en la extravasación de neutrófilos

	Neutrófilo	Endotelio
Rolling	L-selectina	PSGL-1
	PSGL-1	P-selectina
	PSGL-1	E-selectina
Adherencia estable y diápédesis	Mac-1	ICAM-1
	LFA-1	ICAM-1 y 2
	VLA-4 ($\alpha 4\beta 1$)	VCAM-1
	PECAM-1	PECAM-1

Deficiencias de Adhesión Leucocitarias

LAD-1: defectos en la cadena $\beta 2$ de las integrinas

- defectiva migración de neutrófilos a piel inflamada y peritoneo.
- Neutrofilia.
- Infecciones bacterianas recurrentes.

LAD-2: defectos en un transportador de fucosa que causa la ausencia de sialyl-Lewis X sobre las sialomucinas (ligandos de selectinas)

- Rolling defectivo. Deficiencia muy rara.

La respuesta innata cumple un rol relevante en:

- Limitar la proliferación de la mayoría de los microorganismos con los que nos enfrentamos cotidianamente
- Eliminar infecciones ocasionadas por microorganismos patógenos para evitar su diseminación
- Contener infecciones por patógenos hasta que se desarrolle una respuesta adaptativa