

**SEMINARIO 6**

**2017**

**Homeostasis y Tolerancia**

# **¿Cómo controlamos los mecanismos efectores propios a la inmunidad innata?**

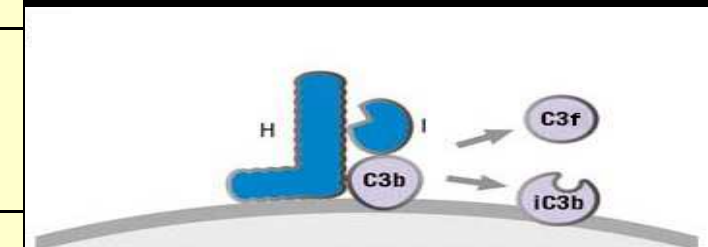
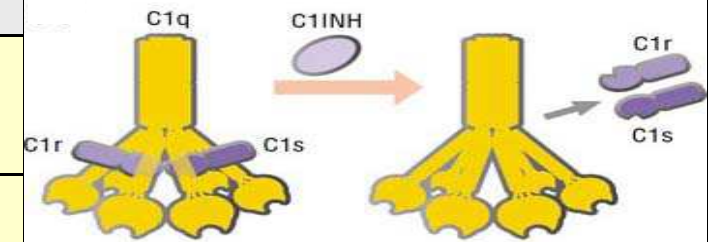
**1- Sistema Complemento**

**2- Neutrófilos**

**3- Macrófagos**

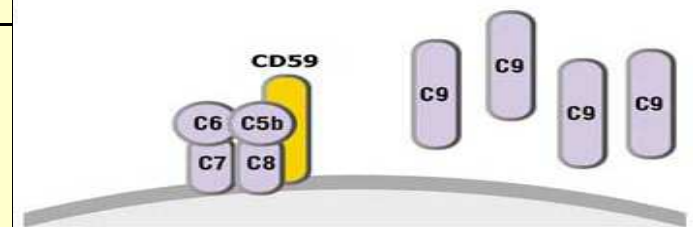
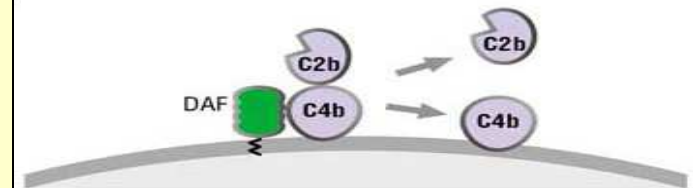
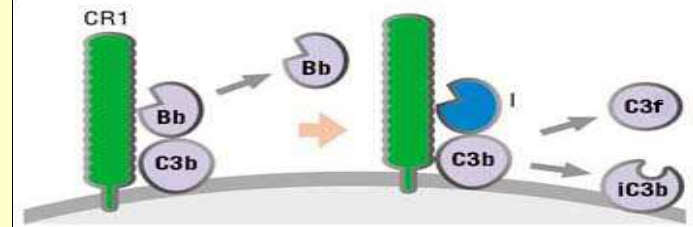
# 1- Inhibidores del sistema Complemento

Componente	Mecanismo de acción
<b>Solubles</b>	
C1 INH	Disocia a C1r y C1s de C1q.
C4BP	Une C4b y bloquea la formación de la C3 convertasa de la vía clásica. Permite la escisión e inactivación de C4b por Factor I.
Factor H	Al unirse a la superficie de microorganismos que expresan ALTO ácido siálico, une C3b, bloqueando la forma formación de la C3 convertasa de la vía alterna. Permite la escisión e inactivación de C3b por el Factor I.
Factor I	Escinde e inactiva a C3b y C4b, previamente unido CR1, MCP o factor H (C3b) o C4BP (C4b).
Inactivador de anafilotoxinas	Escinde residuos arginina terminales de C3a y C5a, generando fragmentos con una actividad tres órdenes de magnitud menores.

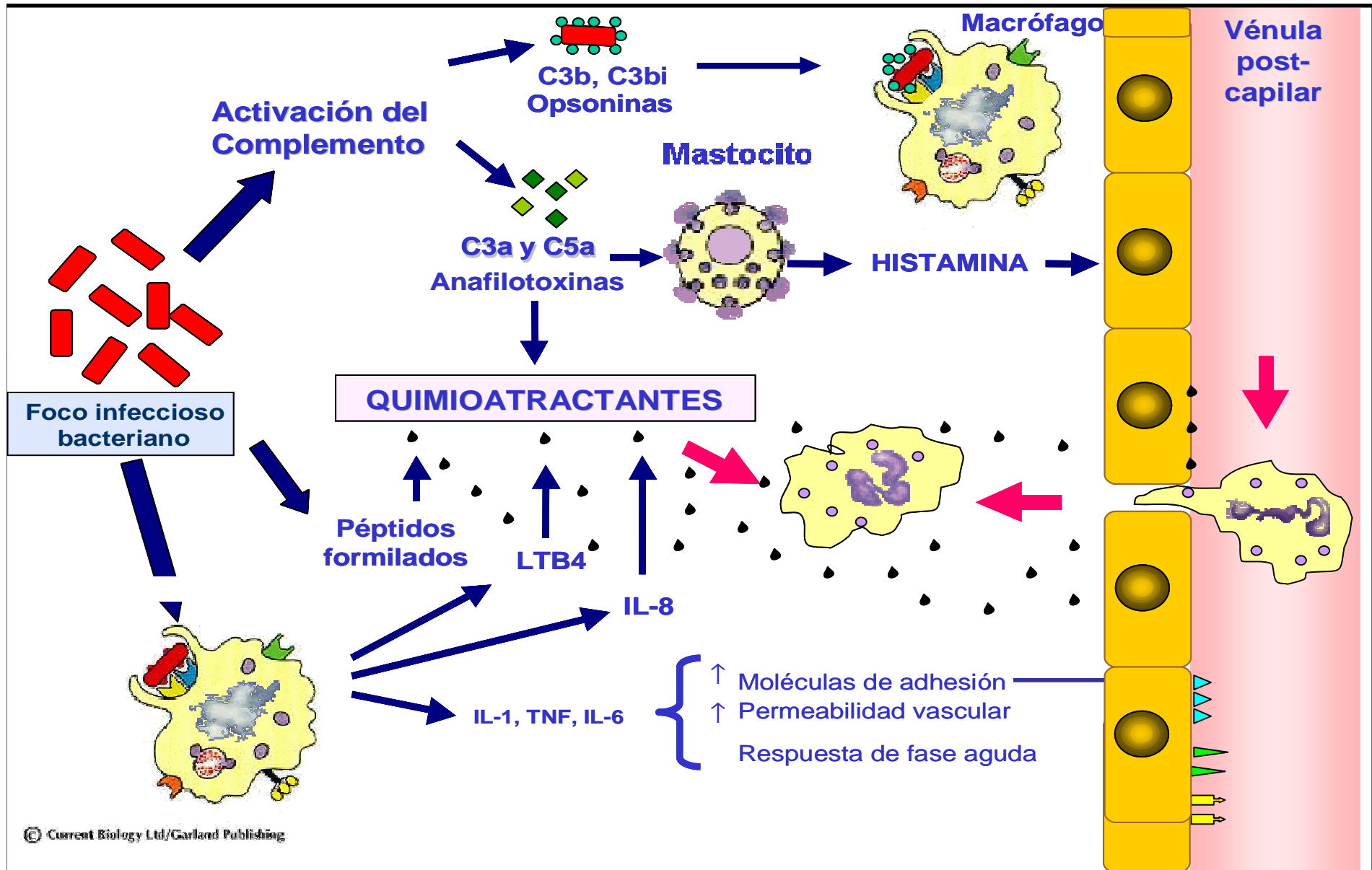


# 1- Inhibidores del sistema Complemento

Componente	Mecanismo de acción
<b>Asociados a membrana</b>	
CR1	Se une a C3b y C4b e inhibe la formación de la C3 convertasa de ambas vías. Acelera la disociación de ambas C3 convertasas. Permite al Factor I inactivar a C3b y C4b.
DAF	Se une a C4b y C3b depositado sobre células propias inhibiendo la interacción de C4b con C2 y la de C3b con el factor B.
MCP	Se une a C4b y C3b depositado sobre células propias y las torna susceptibles de inactivación por el factor I.
CD59	Inhibe el ensamblado del complejo de ataque lítico.



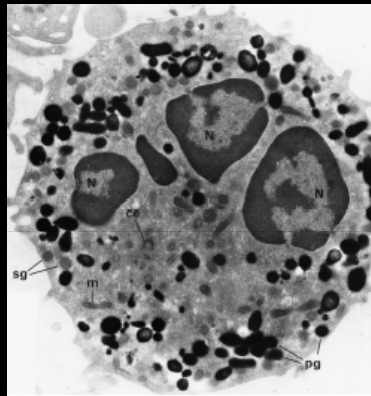
# Respuesta inflamatoria aguda frente a una infección bacteriana



## 2-¿Cómo controlamos la actividad inflamatoria de los neutrófilos?

70.000 millones de neutrófilos son liberados normalmente por día desde la médula ósea a circulación

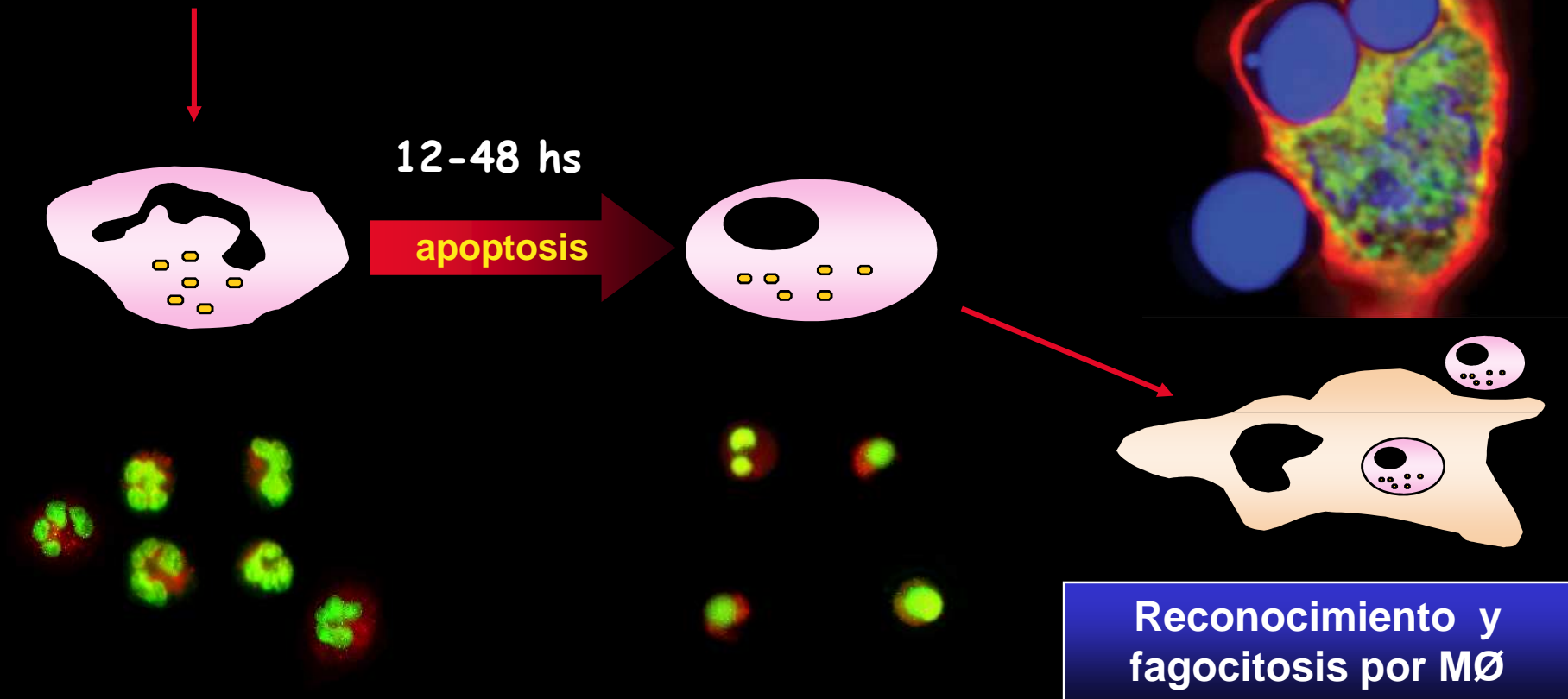
Concentración de neutrófilos en el líquido sinovial de una articulación inflamada puede llegar a los 100 millones/ml



Los neutrófilos no emigran del tejido inflamado.....deben ser removidos a través de mecanismos que minimicen su capacidad de lesionar tejidos propios

Los neutrófilos expresan una notable potencialidad microbicida (1 millón de neutrófilos pueden destruir 150 millones de bacterias/seg), pero expresan también una gran capacidad de lesionar tejidos propios

## Injuria Tisular



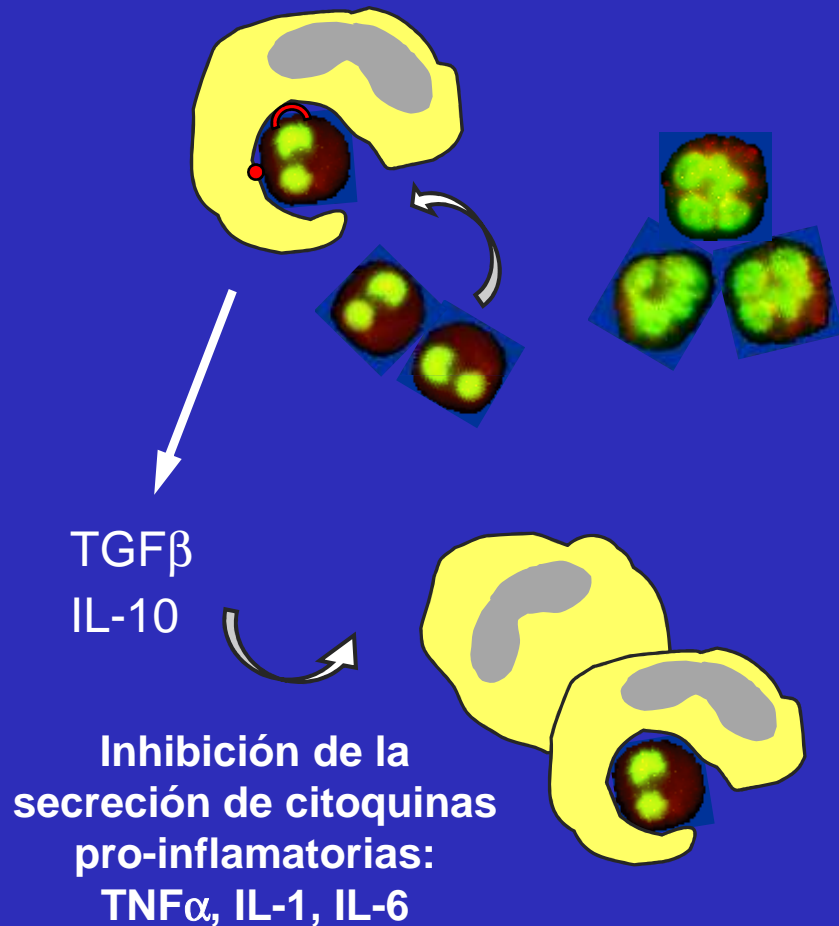
### APOPTOSIS:

1. La membrana citoplasmática permanece intacta por lo que el contenido celular no es liberado.
2. Las células apoptóticas son rápidamente removidas.
3. Es una forma de muerte celular programada genéticamente: el programa es muy flexible

**RESOLUCION DE  
LA INFLAMACIÓN**

# Resolución de la inflamación

Remoción de los neutrófilos y leucocitos apoptóticos por parte de los macrófagos



Defectos en la fagocitosis de células apoptóticas

Necrosis secundaria de las células apoptóticas

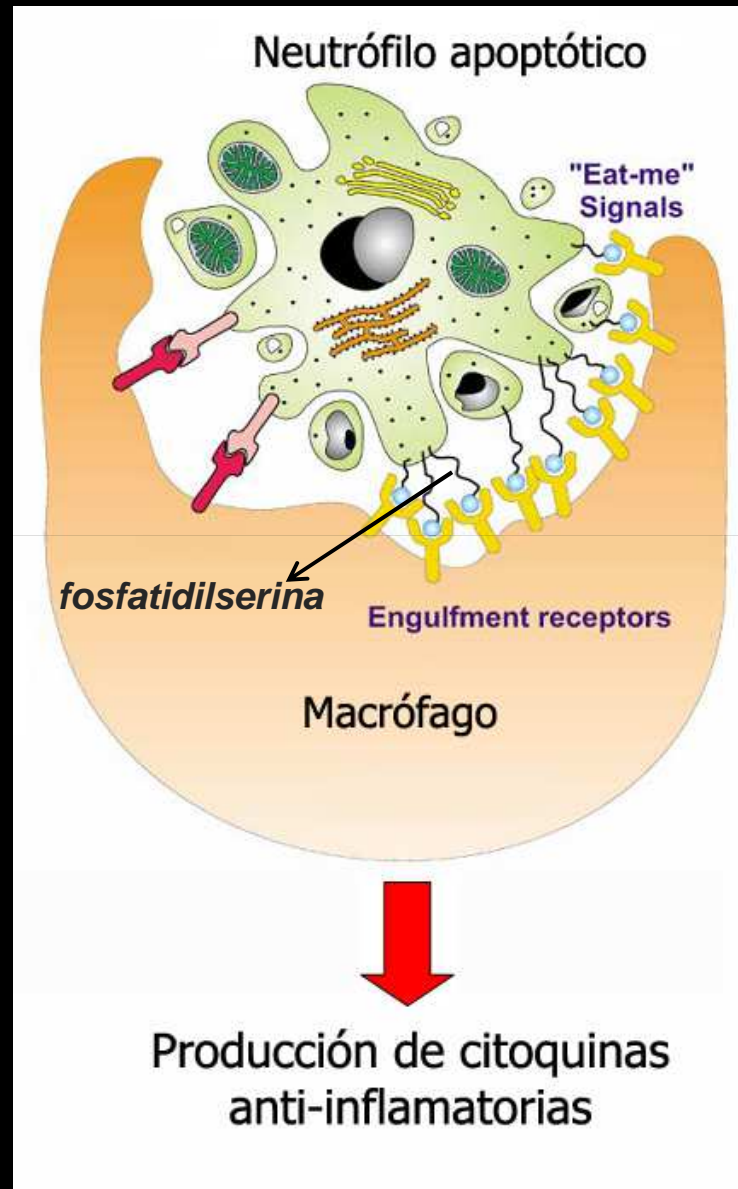
Respuesta inflamatoria

Ej: Desarrollo de lesiones tisulares en LES (J Autoimmun 28:114, 2007)

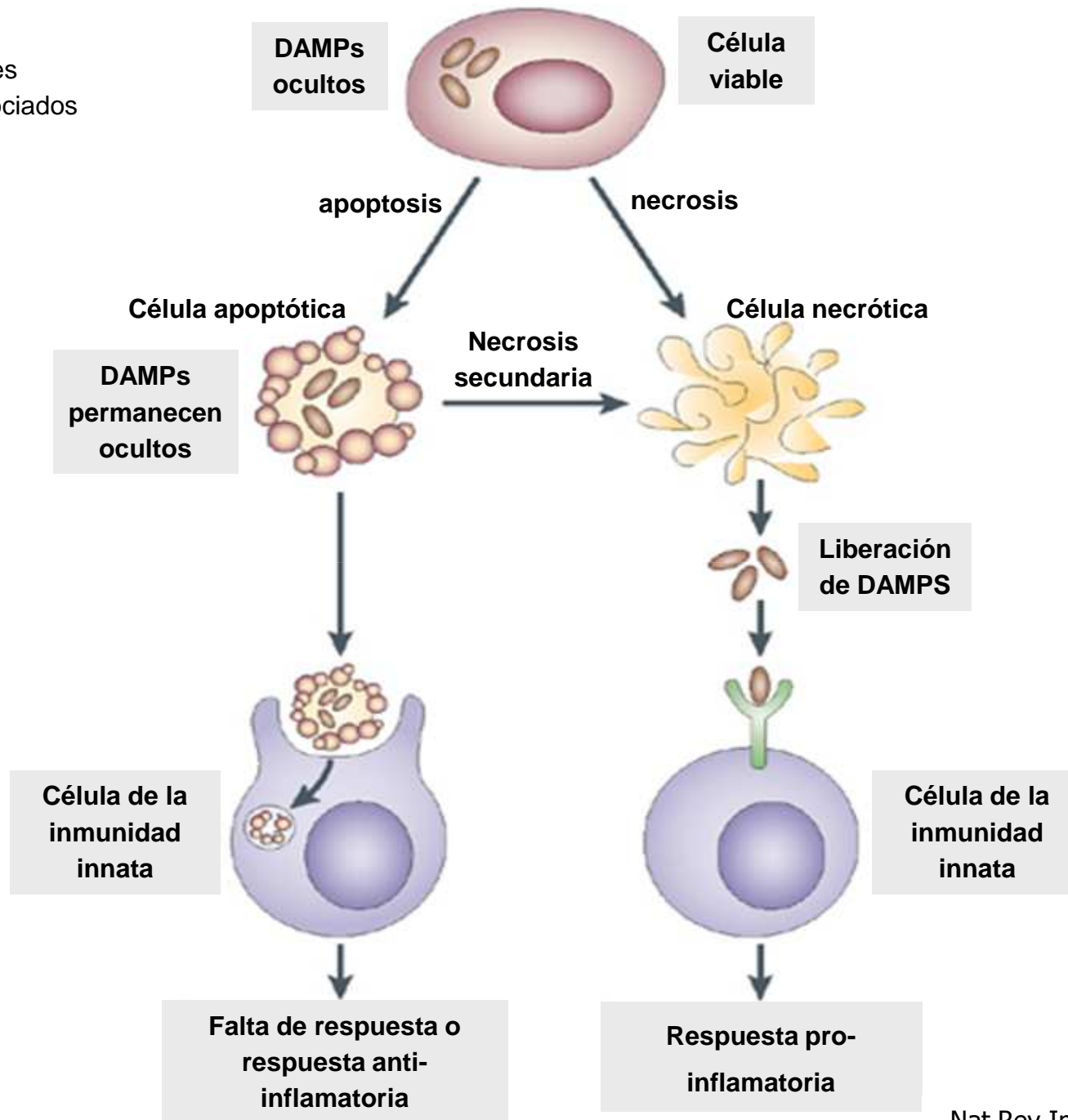
Artritis reumatoideas



## Fosfatidilserina: el principal ligando que permite el reconocimiento de las células apoptóticas por fagocitos

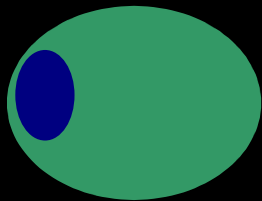
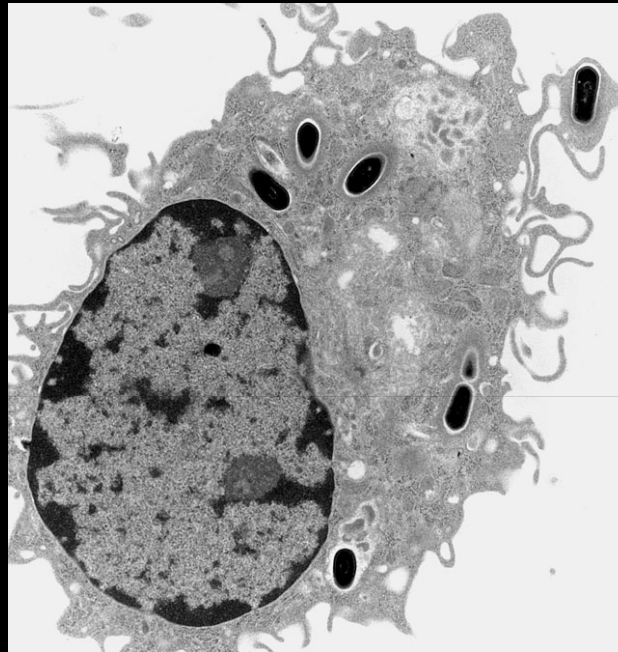


DAMPs: patrones moleculares asociados a daño celular



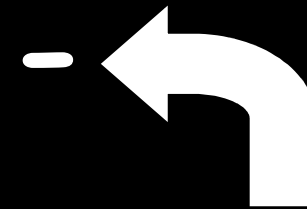
### 3- ¿Cómo se regula la actividad inflamatoria del macrófago?

Macrófago fagocitando bacterias



Células T regulatorias

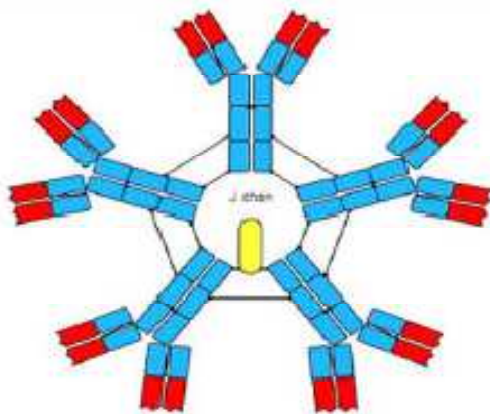
Las células T reg inhiben la producción de citoquinas inflamatorias por el macrófago



Células apoptóticas

La fagocitosis de células apoptóticas redirecciona al macrófago en un perfil anti-inflamatorio

## La IgM natural favorece la normal depuración de las células apoptóticas



IgM natural

Primera línea de defensa en infecciones (bacterias capsulares, virus)

Homeostasis, favoreciendo la depuración de células apoptóticas, restos celulares, antígenos con epitopes oxidados

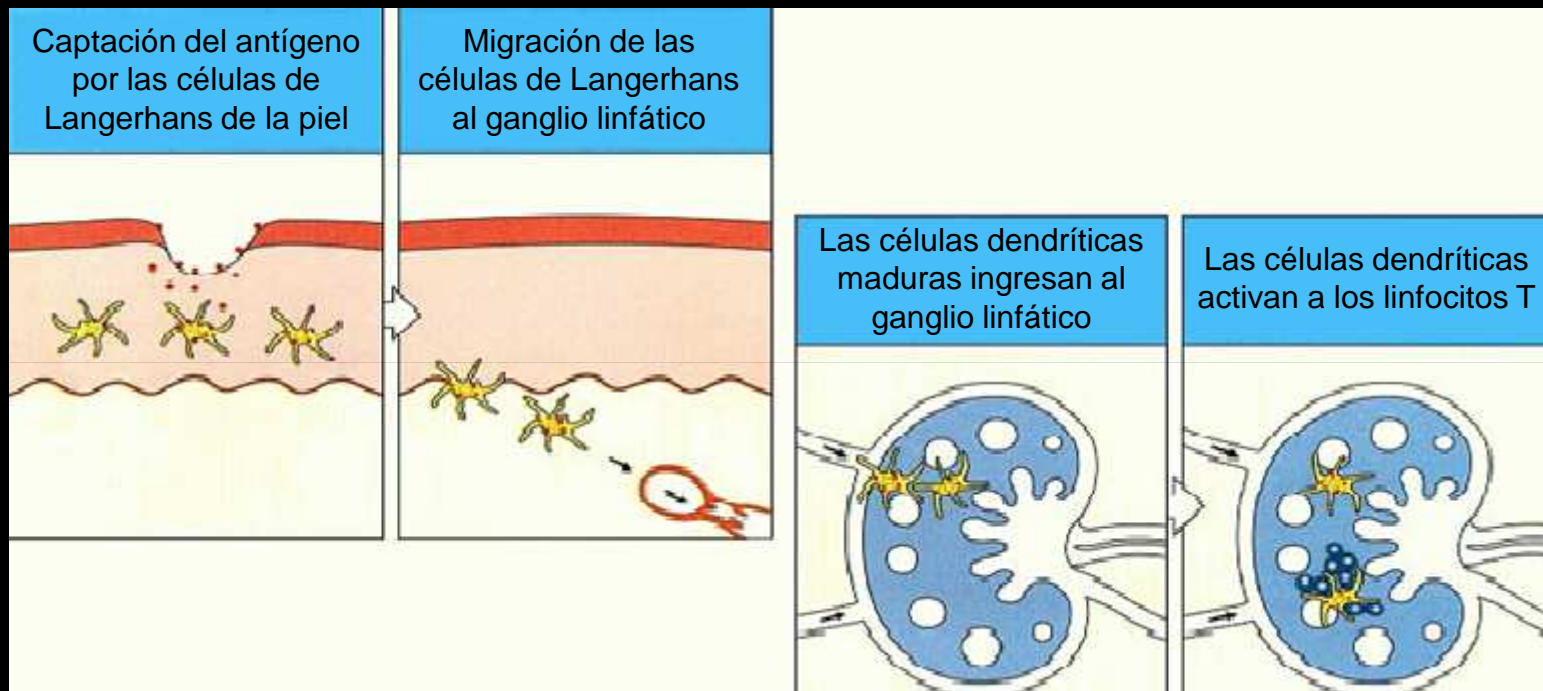
## **No sólo los neutrófilos mueren por apoptosis**

1. Durante la ontogenia T más del 98% de los timocitos mueren por apoptosis
2. Los linfocitos T expandidos luego de su activación mueren por apoptosis.
3. Los linfocitos T y B anérgicos mueren por apoptosis
4. Los linfocitos B que no logran arrancar el antígeno de las células foliculares dendríticas en el centro germinal mueren por apoptosis
5. Las células NK y los linfocitos T CD8+ destruyen células neoplásicas y células infectadas por virus induciendo su apoptosis

**Apoptosis: representa la forma usual de muerte celular en los organismos superiores**

# **Homeostasis en la inmunidad adaptativa**

# Activación de linfocitos T

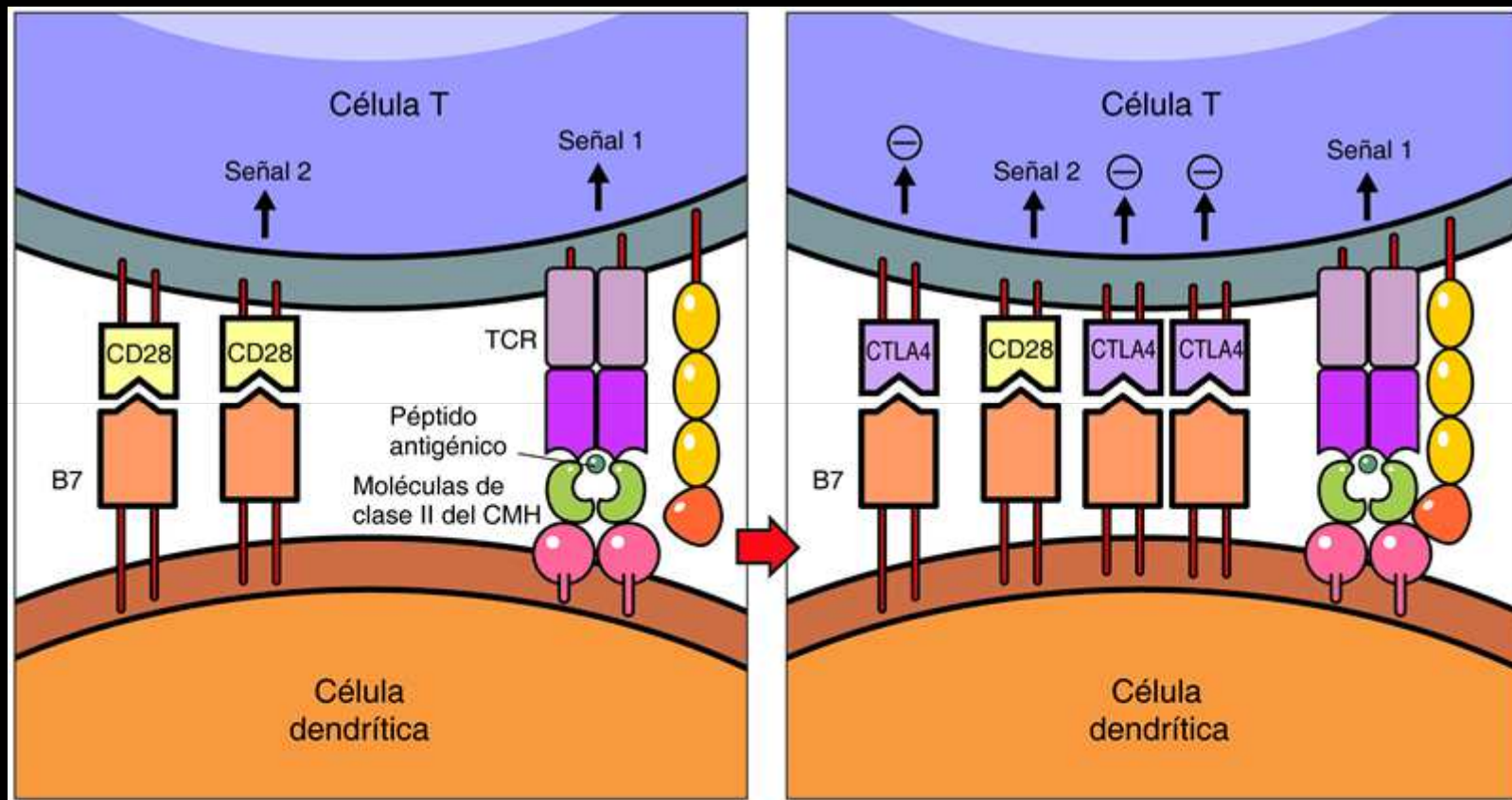


# Visión global de la familia de moléculas co-estimulatorias expresada por las células T

	<b>CD28</b>	<b>CTLA4</b>	<b>PD-1</b>	<b>ICOS</b>
<b>Ligando (CPA)</b>	CD80/CD86	CD80/CD86	PD-1L	ICOS-L
<b>Señal</b>	Estimulatoria	Inhibitoria	Inhibitoria	Estimulatoria
<b>Expresión</b>	Constitutiva	Inducida por activación	Inducida por activación	Inducida por activación

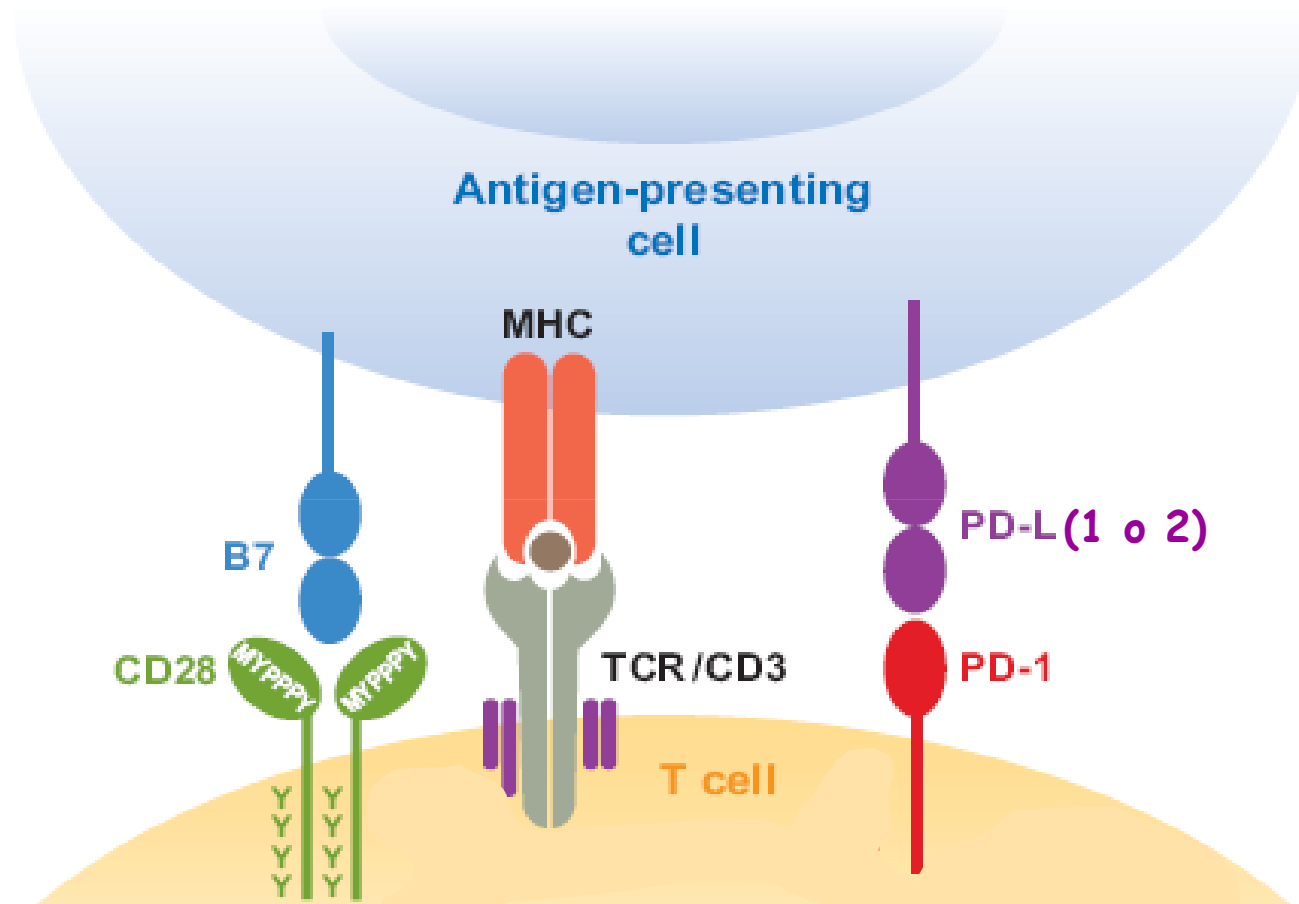


## Inhibición de la activación de linfocitos T por CTLA-4



**Mutaciones en CTLA-4: manifestaciones de autoinmunidad**

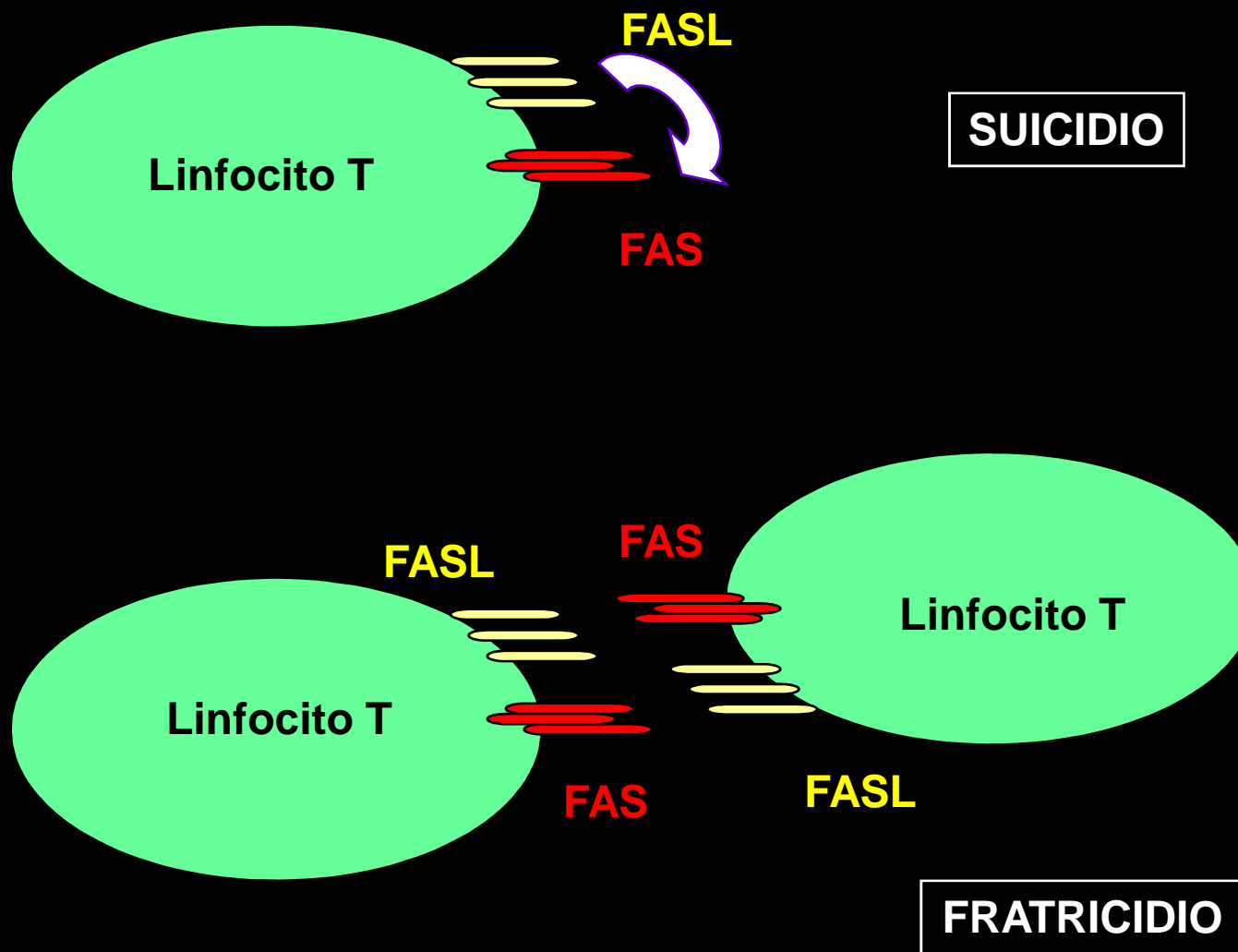
## PD-1: otro miembro de la familia CD28/CTLA4 (moléculas reguladoras de la expansión T)



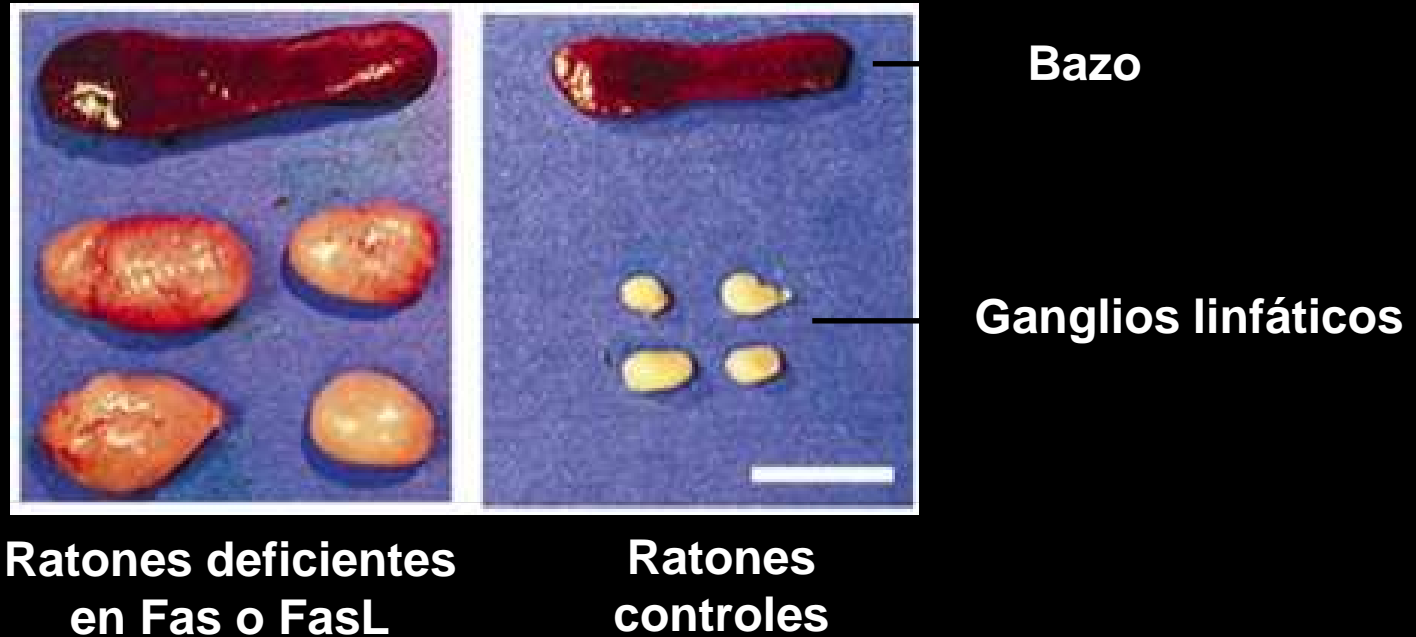
Annu. Rev. Immunol. 2008. 26:677-704

**Mutaciones en PD-1: manifestaciones de autoinmunidad**

# APOPTOSIS INDUCIDA POR ACTIVACION



**¿Qué observamos cuando la expresión o funcionalidad de Fas o FasL se halla comprometida?**

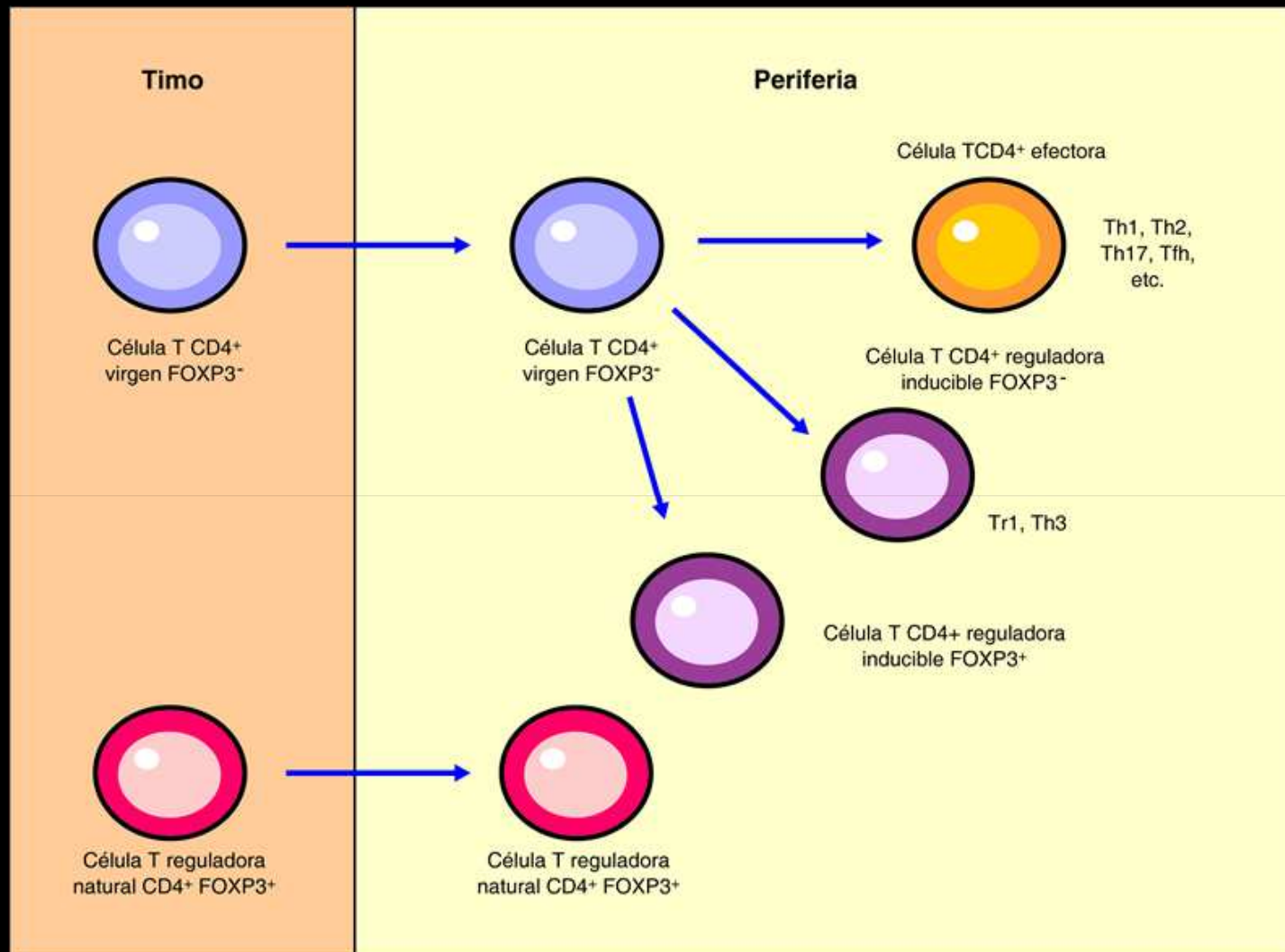


**En el humano: síndrome linfoproliferativo autoinmune (ALPS)**

Esplenomegalia y linfadenopatías

Trombocitopenia, neutropenia y anemia

# Células T regulatorias

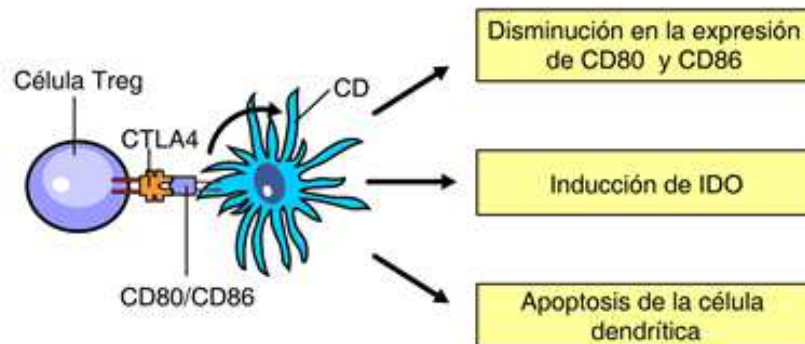


**Control de linfocitos autorreactivos en la periferia**

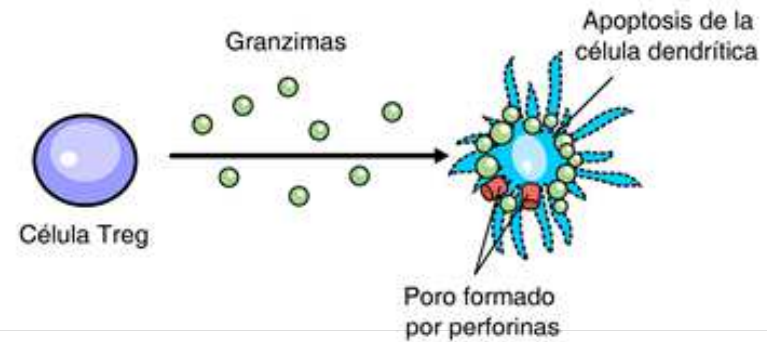
**Control de la respuesta inmune anti-infecciosa**

# Mecanismos de acción de las células Treg

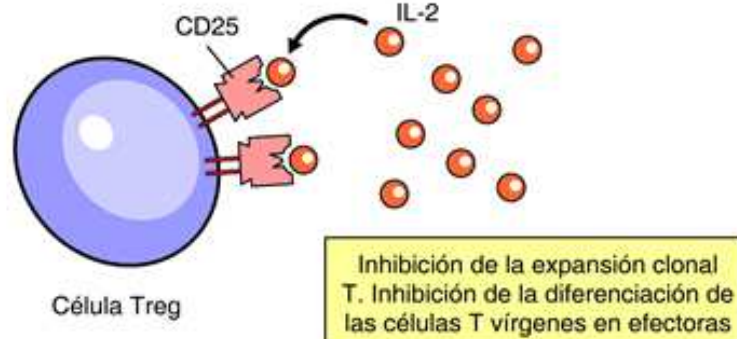
A. Interacción CTLA4-CD80/CD86



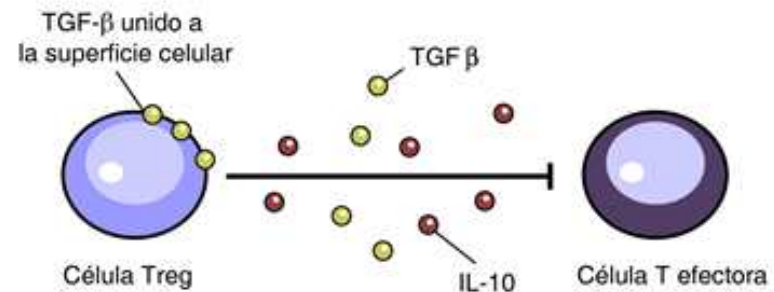
B. Efecto citotóxico sobre las células dendríticas



C. Consumo de IL-2



D. Producción de citocinas inhibitorias (TGF- $\beta$ ) e IL-10

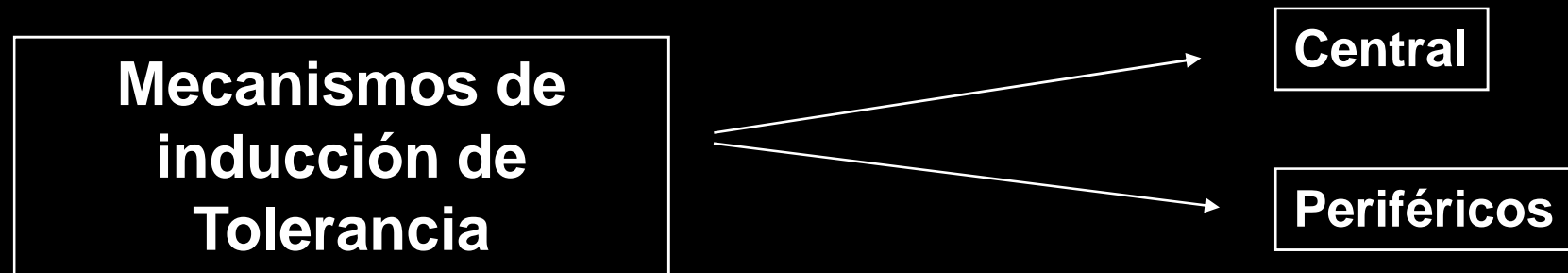


# Supresión “bystander” por células T regulatorias

- Para ejercer su efecto supresor las Tregs deben ser activadas a través de su TCR.
- Sin embargo, una vez activadas, el efecto supresor puede ejercerse sobre T efectoras con especificidades hacia Ags diferentes.

# TOLERANCIA

(FALTA DE REACTIVIDAD FRENTE A COMPONENTES PROPIOS)





# INDUCCIÓN DE TOLERANCIA CENTRAL

## Linfocitos T

Precursores T

Rearreglo genes TCR

CD8 TCR CD3 CD4

Timocitos DP expresando el TCR

Muerte por apoptosis de las células que no interactúan con las MHC del individuo.

### Selección positiva:

Sobreviven las células cuyos TCRs reconocen en forma apropiada a las MHC del individuo.

Si se reconoce MHC de clase I se diferenciará a TCD8+. Si se reconoce MHC de clase II se diferenciará a TCD4+.

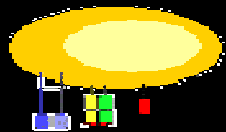
### Selección negativa:

Muerte por apoptosis de los timocitos que reciben señales de mucha intensidad a través del TCR. La célula muere ya que es considerada peligrosa.

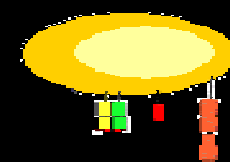
A diferencia de lo que se creía anteriormente, las células del microambiente tímico son capaces de presentar NUMEROSAS PROTEÍNAS PROPIAS, incluso aquellas que comúnmente se expresan en otros tejidos.

Emigran del timo linfocitos T SP autorestrictos y autotolerantes

Sin embargo, no todos los linfocitos T autoreactivos son eliminados en el timo dado que no todas las proteínas propias pueden ser expresadas por las células del microambiente tímico responsables de la selección negativa.

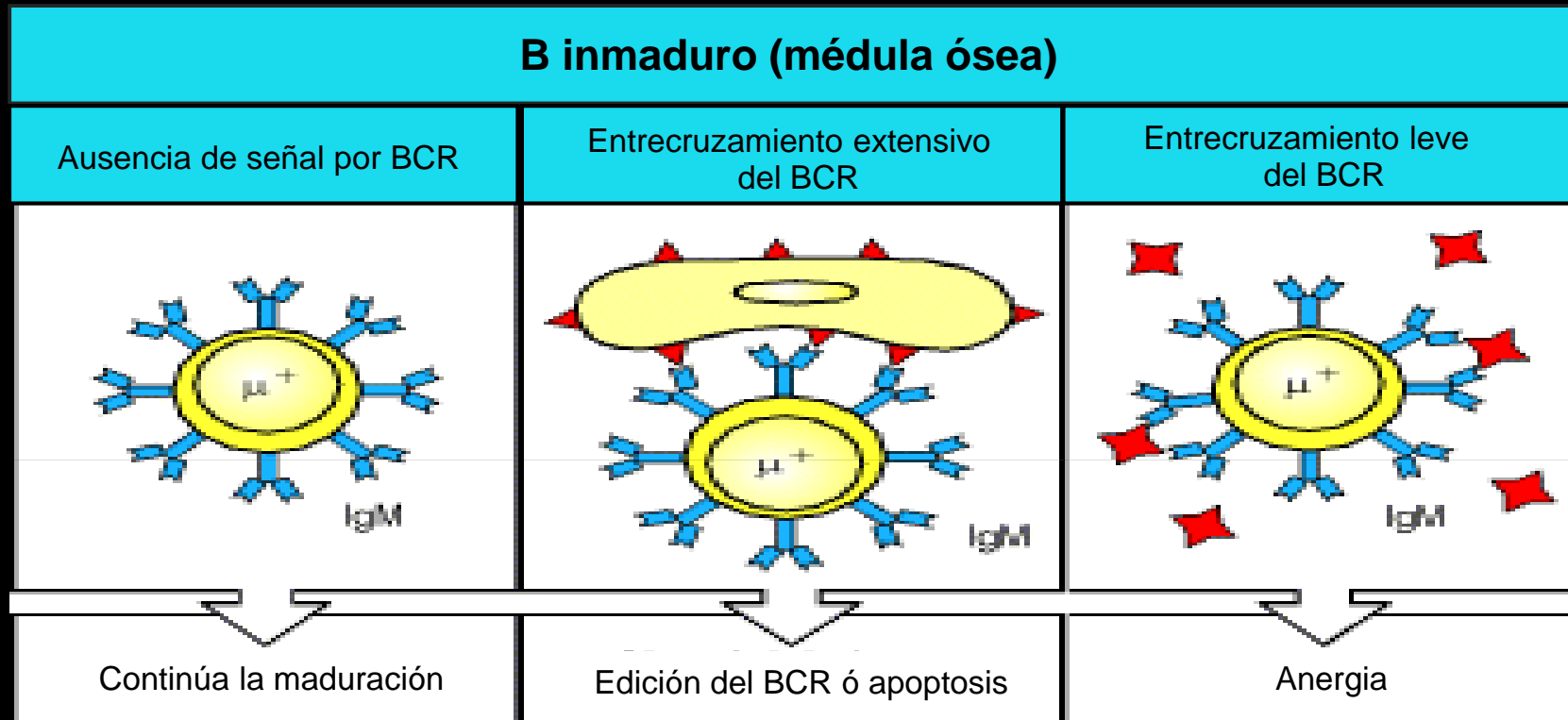


Linfocito T CD8+



Linfocito T CD4+

## INDUCCIÓN DE TOLERANCIA CENTRAL EN LINFOCITOS B (médula ósea)



Sin embargo, no todos los linfocitos B autoreactivos son controlados en el estadio B inmaduro dado que no todas las proteínas propias alcanzan la médula ósea para participar en la inducción de tolerancia central B.

**En el bazo, los linfocitos B Tr1 sufren apoptosis si reconocen antígenos propios**

En ausencia de procesos infecciosos y/o señales estimulatorias en tejidos periféricos una fracción de las células dendríticas migra a los ganglios linfáticos:

**CÉLULAS DENDRÍTICAS TOLEROGÉNICAS**



Inducen anergia clonal T

Inducen la diferenciación de células T en un perfil regulatorio (Treg)

# ¿Qué factores contribuyen a que, habiendo linfocitos autorreactivos en periferia, no suelen desencadenarse respuestas autoinmunes?

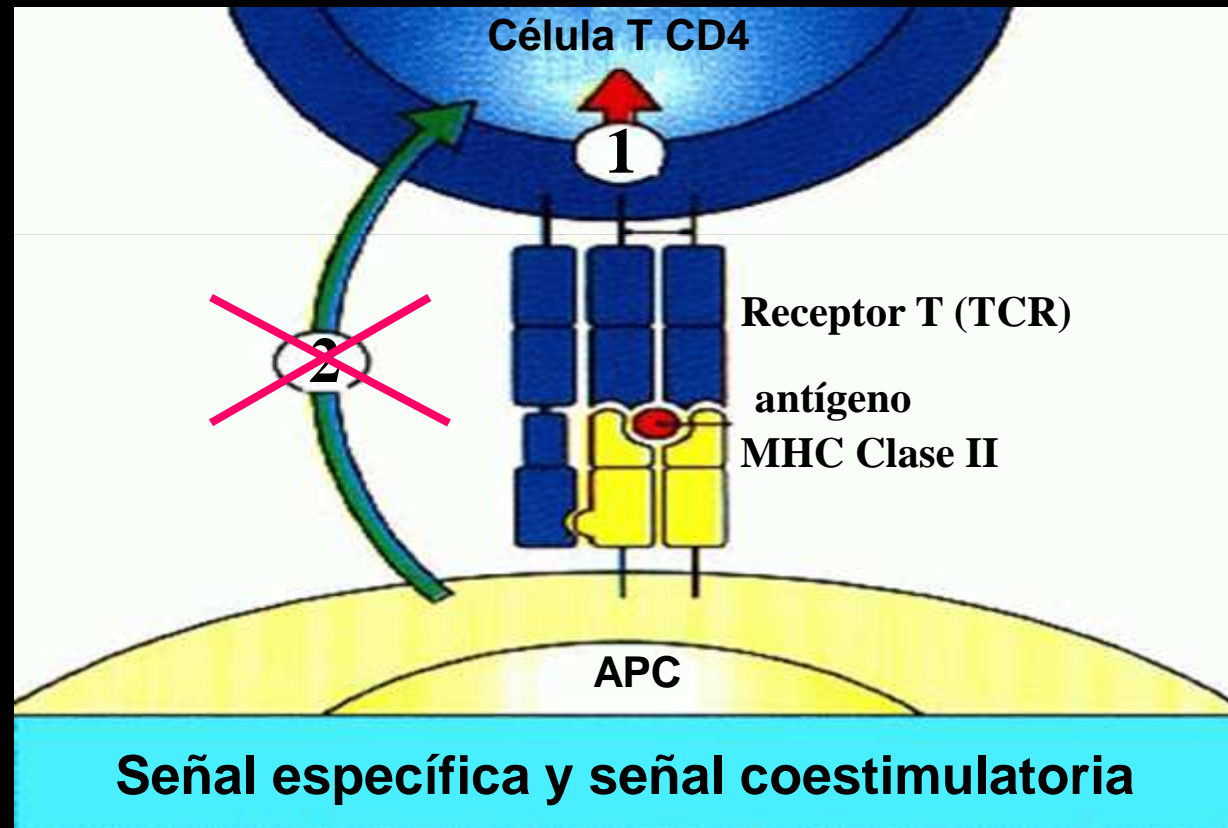
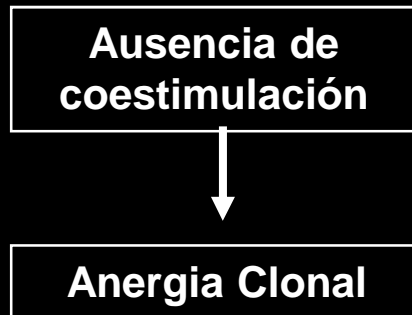
## Diferentes mecanismos explican el silenciamiento de clones autorreactivos en la periferia:

1. Los linfocitos vírgenes autorreactivos no encuentran en periferia las condiciones necesarias para activarse:
  - a) ausencia de segunda señal de activación (co-estimulación, colaboración T)
  - b) densidad inadecuada de complejos péptido propio-MHC (ignorancia clonal).
2. Las respuestas se encuentran inhibidas por linfocitos Treg.
3. Existen sitios inmunológicamente privilegiados (ojos, testículos, ovarios, cerebro):
  - microambiente anti-inflamatorio e inmunosupresor
  - inducción de tolerancia periférica
  - antígenos secuestrados

**1.a) Los linfocitos T vírgenes autorreactivos no encuentran en periferia la condiciones necesarias para activarse:**

**ausencia de segunda señal de activación (co-estimulación)**

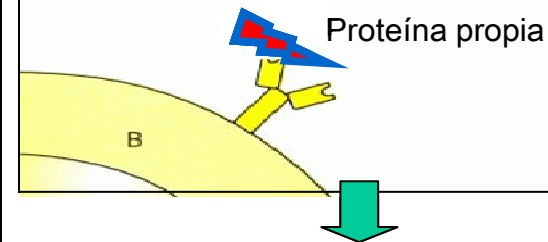
## **TOLERANCIA PERIFERICA T**



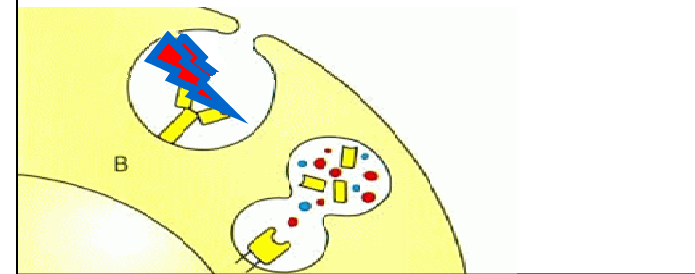
**1.a) Los linfocitos B vírgenes autorreactivos no encuentran en periferia las condiciones necesarias para activarse:  
ausencia de colaboración T**

## **TOLERANCIA PERIFERICA B**

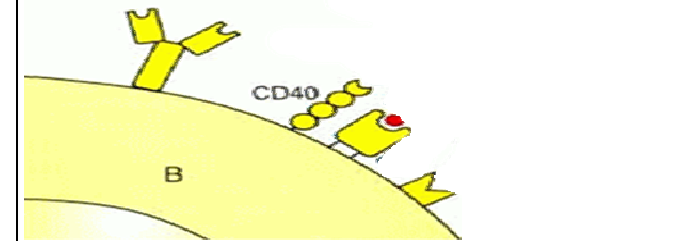
El linfocito B autoreactivo reconoce un epítopo de una proteína propia



La proteína es internalizada y degradada



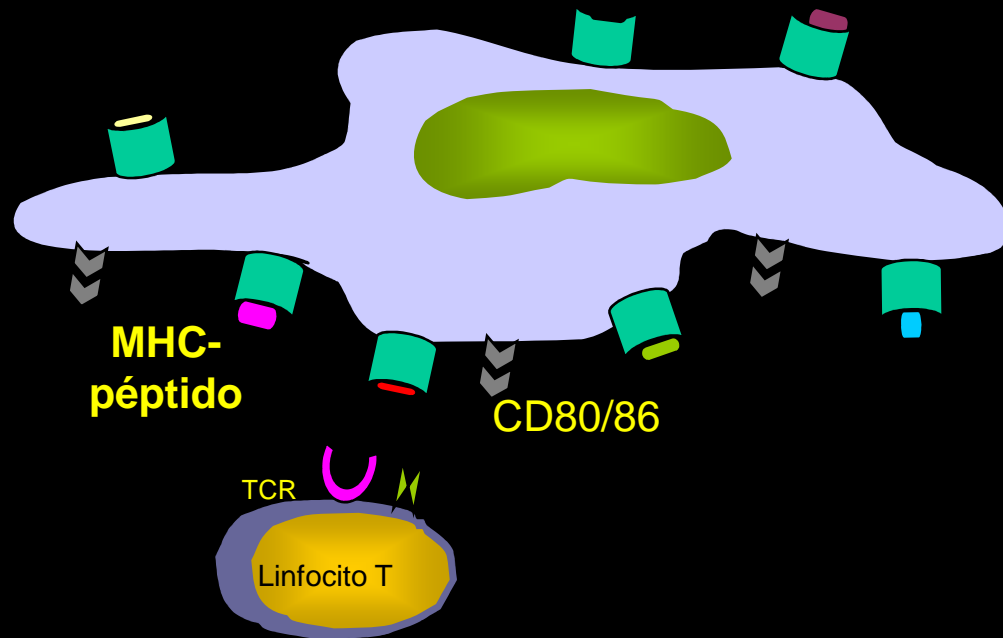
Los péptidos se presentan pero el linfocito B no encuentra la colaboración T.



1.b) Los linfocitos vírgenes autoreactivos no encuentran en periferia las condiciones necesarias para activarse:

→ densidad inadecuada de complejos péptido propio-MHC.

### TOLERANCIA PERIFERICA T



Para activarse, las células T requieren un umbral mínimo de moléculas del CMH presentando el péptido antigénico que son capaces de reconocer

### 3. Sitios inmunológicamente privilegiados (SIP)

**Cerebro**

**Ojos**

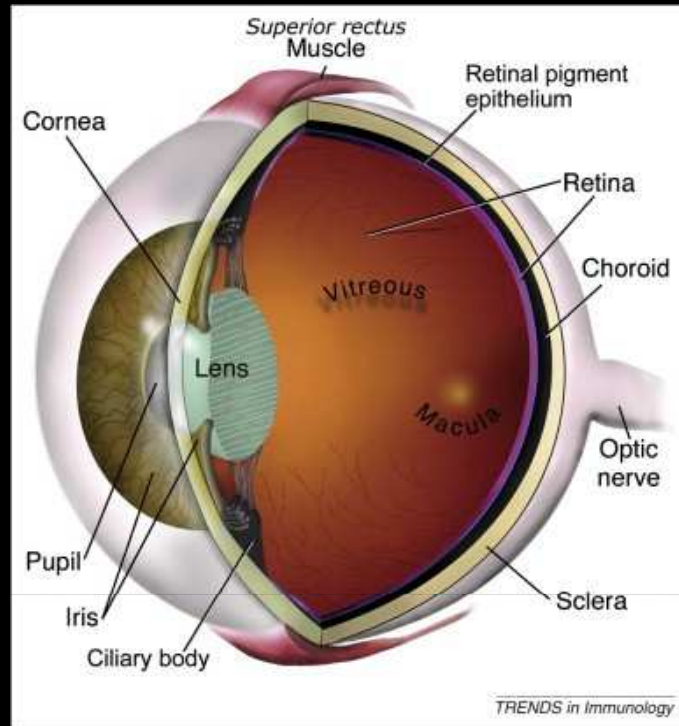
**Testículos**

**Ovario**

**Interfase Materno Fetal**



### 3. Sitios inmunológicamente privilegiados



Antígenos inoculados en la cámara anterior, en el humor vitreo o en el espacio sub-retinal inducen tolerancia sistémica. Por otra parte, los transplantes de córnea “no-histocompatibles” son aceptados por el 60-70% de los pacientes.

#### 1. microambiente anti-inflamatorio e inmunosupresor:

- altas concentraciones de  $\text{TGF}\beta$ , inhibidores de complemento y VIP, en humor vitreo y acuoso.
- alta expresión local de FAS-L y PDL-1 en células epiteliales del iris, cuerpos ciliares y endotelio de la cornea.

#### 2. inducción de tolerancia periférica a ciertos antígenos oculares por generación de linfocitos Treg que inhiben la respuesta inmune.

#### 3. antígenos secuestrados (retina, cristalino y porción central de la cornea)

**Mecanismos de inducción de Tolerancia**

**Central**

**Periféricos**

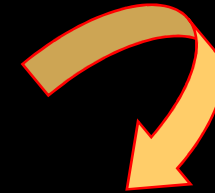
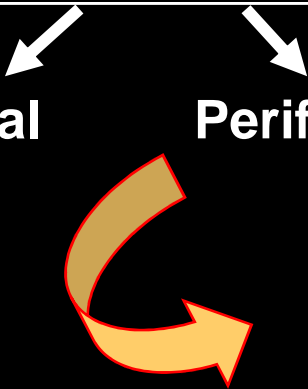
**Regulación homeostática**

**Ruptura de la Tolerancia y/o alteración de mecanismos homeostáticos**

**Reconocimiento de antígenos propios**

**Autoinmunidad**

**Incidencia global: 3% de la población**



# **Enfermedades autoinmunes**

## **Órgano-específicas**

**Diabetes tipo I**

**Esclerosis múltiple**

**Tiroiditis autoinmune**

**Psoriasis**

**Otras**

## **Sistémicas**

**Lupus eritematosos  
sistémico (LES)**

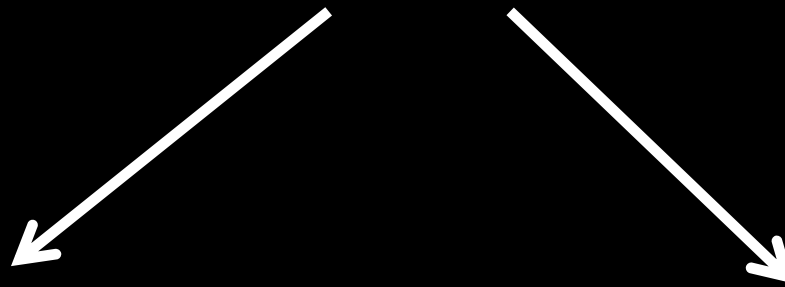
**Artritis reumatoidea**

**Otras**

## Enfermedades autoinmunes asociadas a defectos en un único gen

Gen mutado	Patología	Mecanismo
<b>AIRE</b> “Autoimmune regulator”: proteína que actúa como regulador transcripcional, permitiendo la expresión ectópica de centenares o miles de proteínas presentes en tejidos periféricos en células del epitelio tímico	<b>APS-1</b> Síndrome autoinmune poliendócrino Candidiasis mucocutánea, hipoparatiroidismo, insuficiencia adrenal, tiroiditis autoinmune, diabetes tipo I	Baja o nula expresión de numerosas proteínas de tejidos periféricos en el epitelio tímico lo que conduce a una selección negativa defectuosa de células T autorreactivas
<b>CTLA-4</b>	Diferentes manifestaciones de autoinmunidad	Falla en el control de la activación de clones T autorreactivos
<b>PD-1</b>	Idem	Idem
<b>FOXP3</b>	IPEX, poliendocrinopatía y enteropatía ligada al X	Falla en la producción de células T regulatorias
<b>FAS, FASL</b>	<b>ALPS</b> Síndrome linfoproliferativo autoinmune	Falla en el control de la expansión clonal T

# **La mayoría de las enfermedades autoinmunes son de naturaleza multifactorial**



**Un conjunto de genes**

**Factores ambientales**  
**(infecciones, tratamientos**  
**con drogas, stress,**  
**tabaquismo, etc)**

# Factores de riesgo en autoinmunidad:

## moléculas del CMH de clase II

Patología	Correlación con CMH clase II
Artritis reumatoidea	90% de los pacientes con AR severa expresan HLA-DR4.1, HLA-DR4.4, o HLA-DR1. Alta capacidad de presentar el epitope del colágeno II (aa 261-273).
Diabetes de tipo I	Fuerte asociación con HLA-DQ2 y HLA-DQ8. Alta capacidad para presentar epitopes de insulina.
Enfermedad celíaca	Los pacientes expresan HLA-DQ2 o HLA-DQ8. Alta capacidad para presentar epitopes presentes en el gluten.
Esclerosis múltiple	Fuerte asociación con HLA-DR2a, HLA-DR2b y HLA-DQ6.2. Alta capacidad para presentar péptidos provenientes de la mielina.

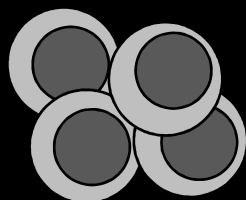
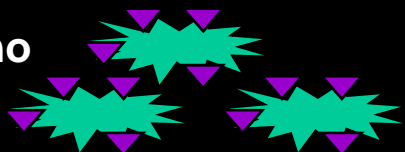
# Factores de riesgo en autoinmunidad:

## factores ambientales

### Infecciones

#### 1. Mimetismo Molecular

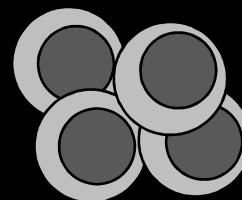
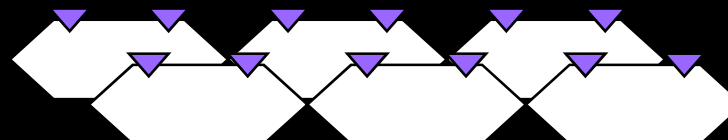
patógeno



Clones T que reconocen Ag  
específicos del patógeno

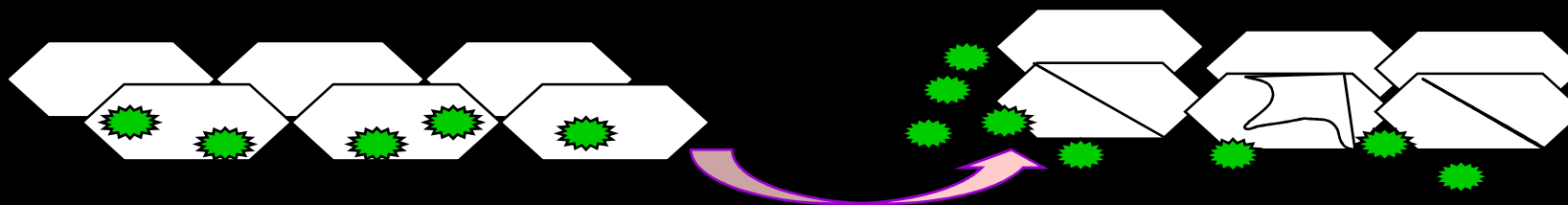
Ej: *Streptococcus*  $\beta$  hemolítico grupo A y fiebre reumática

Células del huésped



Clones T que cross-  
reaccionan con Ag del  
huésped

#### 2. “spreading” de epitopes



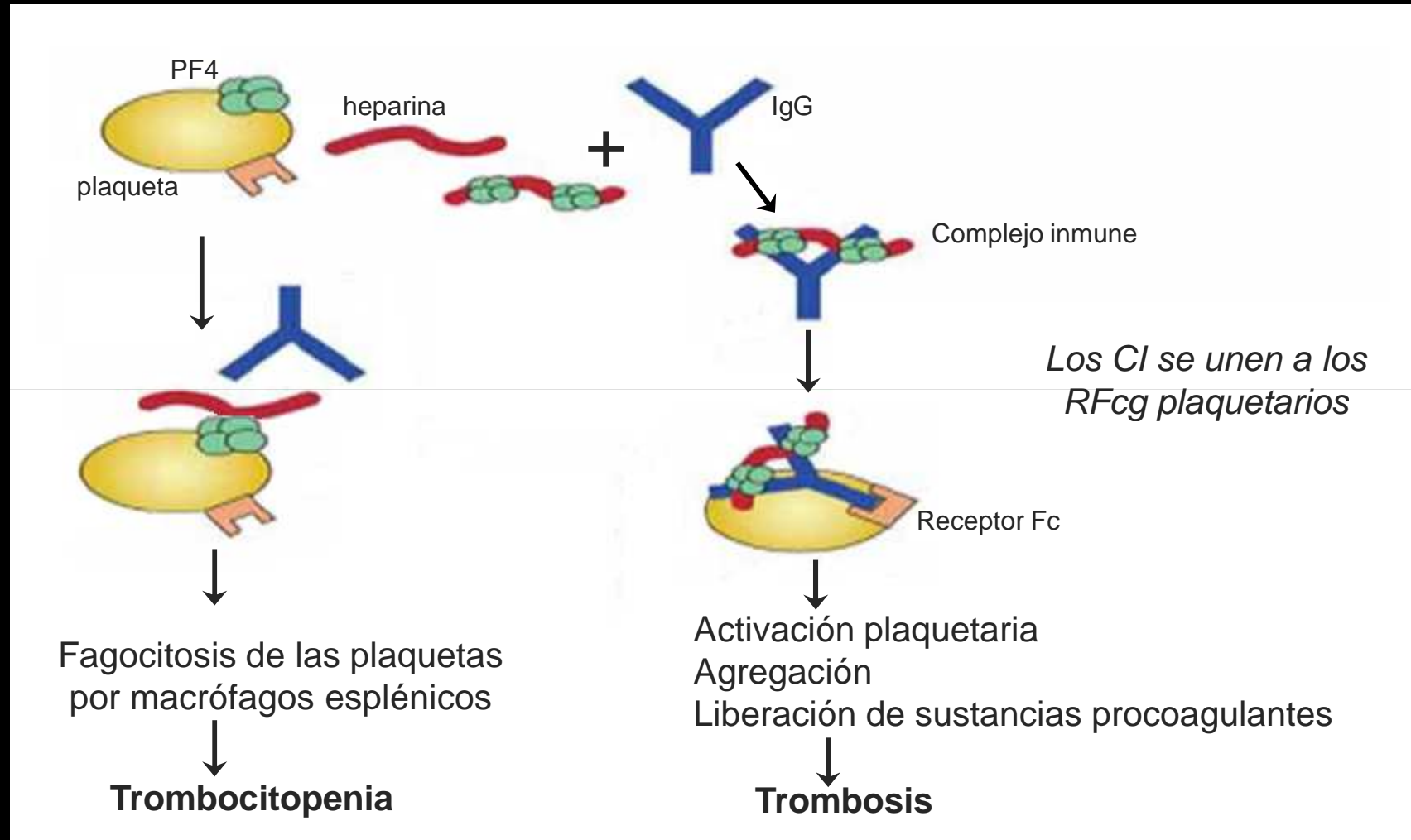
Daño tisular.....exposición de antígenos propios.....respuesta inmune  
hacia estos antígenos

## **Otros mecanismos a través de los cuales las infecciones podrían promover procesos autoinmunes**

- \* Generar gradientes de quimiocinas que atraigan clones autorreactivos al sitio de infección**
- \* Aumentar la densidad de moléculas coestimulatorias en las CPA: activar clones autorreactivos**
- \* Aumentar la presencia de citoquinas proinflamatorias en el sitio de infección: potenciar la actividad de los clones autorreactivos**



# Factores de riesgo en autoinmunidad: factores asociados a tratamientos: neo-antígenos



La heparina se une a PF4 formando un complejo que expone epitopes antigénicos nuevos que inducen la producción de autoanticuerpos IgG.