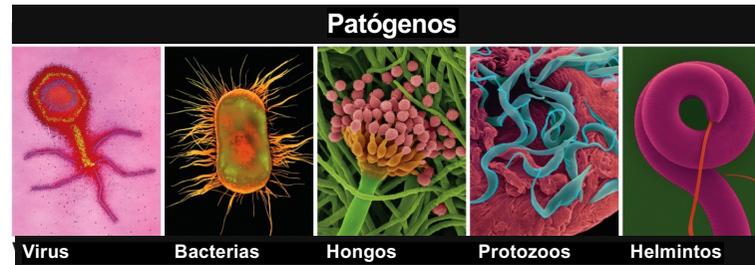
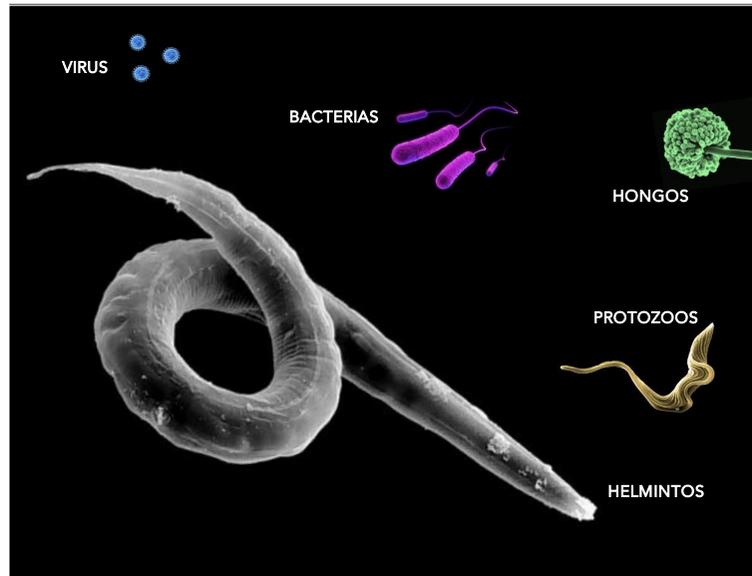


Sistema inmune en acción frente a la infección

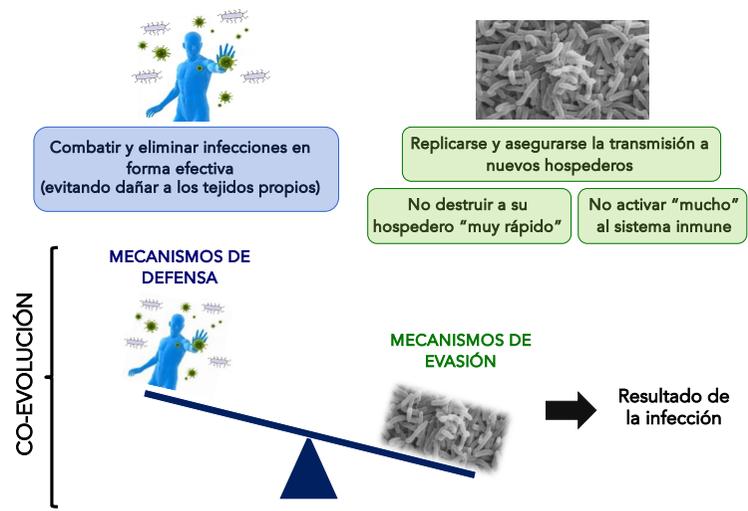


Cecilia Casaravilla
Laboratorio de Inmunología
2023

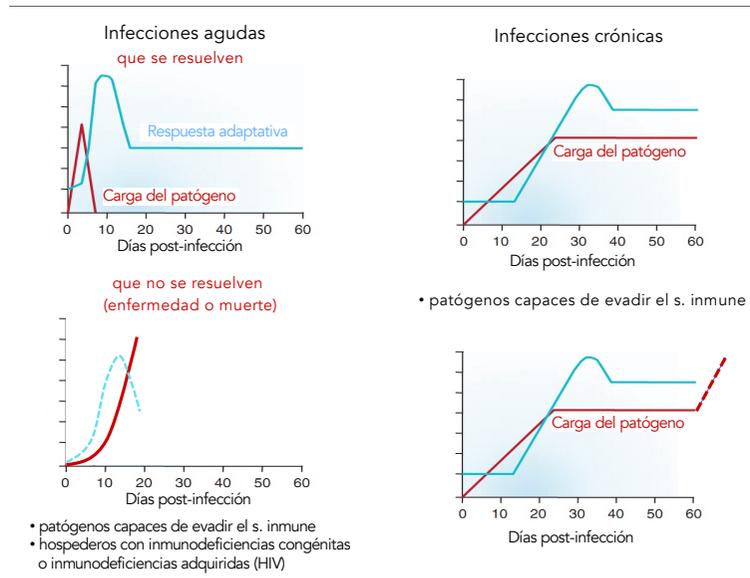


Nuestro organismo se encuentra constantemente expuesto a un gran número de patógenos presentes en el ambiente o transmitidos por otros individuos. Estos patógenos pueden ser muy diversos tanto en tamaño, estructuras presentes, así como en la forma de interacción con sus hospederos. El sistema inmune ha desarrollado diferentes mecanismos de combate y eliminación para lidiar con ellos.

Qué es el éxito?



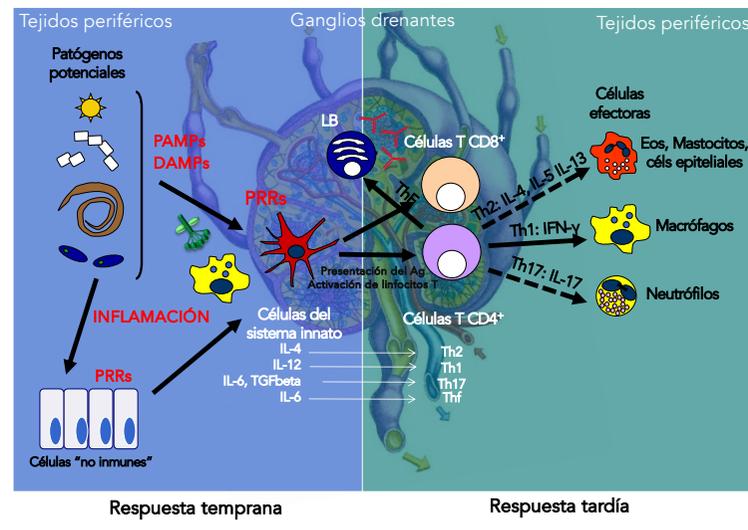
A pesar de vivir en un ambiente densamente poblado de microorganismos potencialmente patógenos solo **nos enfermamos pocas veces** y esto es porque la estrategia de combate a la infección dada es exitosa. Pero existen también muchos ejemplos en lo que el resultado es diferente y los exitosos son los patógenos que muchas veces durante la evolución implementaron mecanismos de evasión de la respuesta inmune. El delicado equilibrio entre los mecanismos de defensa del organismo invadido y los mecanismos de evasión de los patógenos, determina el resultado de la infección.



Que tipos de situaciones encontramos?

- Infecciones agudas que se resuelven rápidamente mediante la acción concertada de la inmunidad innata y la adaptativa. La gran mayoría de las veces.
- Infecciones agudas que no se resuelven por ser altamente patógeno el microorganismo invasor o por deficiencias en el sistema inmune del hospedero
- Infecciones crónicas – no se logra eliminar la infección, se induce una respuesta vigorosa, que contiene la infección pero no la elimina - infección crónica (tuberculosis, toxoplasmosis). Equilibrio en la relación hospedero-patógeno.
- En determinado momento puede romperse el equilibrio (inmunosupresión) y terminar con la enfermedad o muerte del hospedero.

Respuesta inmune a la infección

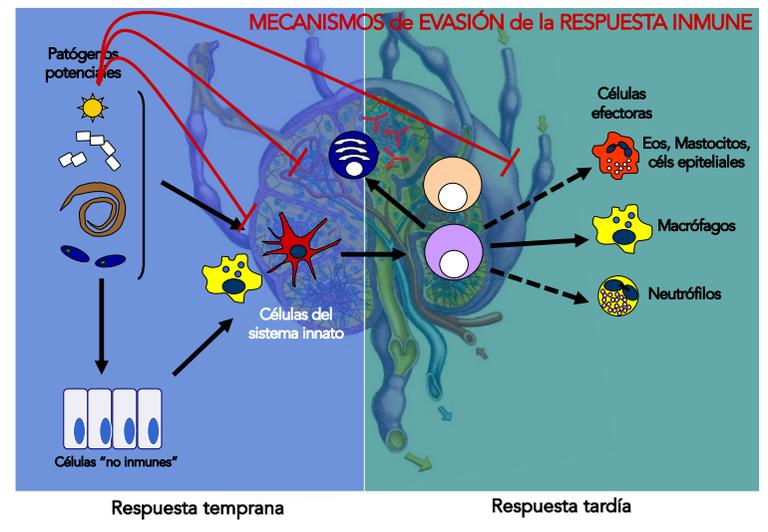


El conjunto de receptores particular involucrados en el reconocimiento de un patógeno por las células dendríticas determinará el fenotipo y patrón de citoquinas que producirán estas células en el ganglio y por tanto, el perfil en el que se diferenciarán los LT CD4 al reconocer al Ag y activarse. Las citoquinas producidas por otras células presentes en el ganglio, como NK y NKT, también contribuirán al perfil adoptado por el LT, pero las células dendríticas son las más determinantes en este sentido.

Cuando un linfocito reconoce un antígeno y es activado, se diferenciará en un único perfil. Pero esto no quiere decir que durante el curso de la infección por un determinado patógeno no puedan activarse varios de ellos, por ej Thf y Th1 o Th1, Thf y Th17. De todos modos, siempre uno de los perfiles es el **predominante**, y esto se debe principalmente a que las citoquinas producidas por cierto perfil inhiben la diferenciación hacia otros linajes. La diferenciación a Thf, Th1, etc va a estar caracterizada por la expresión de un factor de transcripción particular que va a estar involucrado en el encendido de los genes típicos del mismo o en el apagado de genes típicos de otros linajes.

Prestan colaboración en periferia y ganglios linfáticos

Respuesta inmune a la infección



Sistema inmune en acción frente a las infecciones:

Infección por bacterias extracelulares
Ej. *Staphylococcus aureus*



Infección por bacterias intracelulares
Ej. *Mycobacterium tuberculosis*



Infección por helmintos parásitos



Infección por virus



Respuesta frente a una bacteria extracelular *Staphylococcus aureus*

– estudio del pus en heridas – *Staphylococcus* ("racimo de uvas", A. Orgston, 1880)



coco Gram+

- microorganismo comensal en humanos (20-30 % de la población portadora - nariz, piel o tubo digestivo)

- cepas con múltiples estrategias de evasión del sistema inmune, potencialmente patógenas → enfermedades de distinta gravedad en piel y mucosas (pneumonia y sepsis entre las más graves)

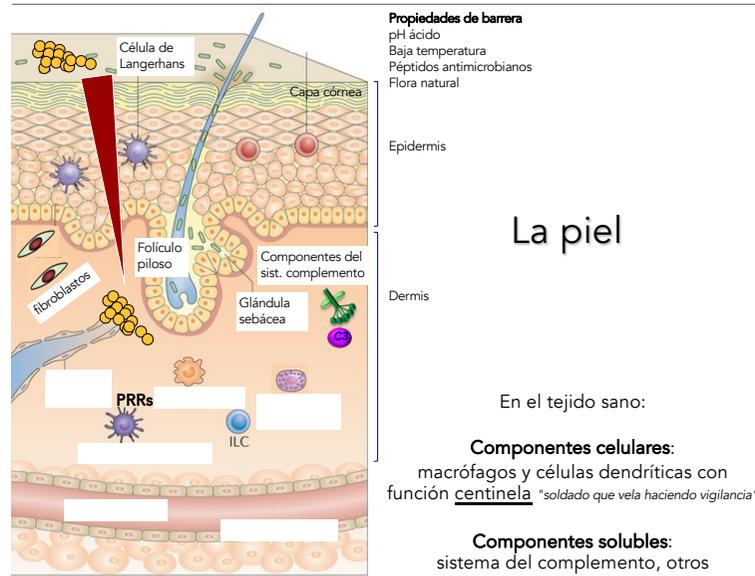
- Infecciones más comunes: PIEL

Ejemplo de una infección que generalmente se resuelve, *S. aureus* en piel
coco gram + - infección extracelular

Es un patógeno de gran importancia médica.

En piel es un microorganismo comensal, no dando sintomatología o señales de infección hasta que por alguna razón logra atravesar las barreras, ya sea utilizando alguno de **sus factores de virulencia, o en general por cortes, picaduras de insecto o quemaduras**. Cuando atraviesa las barreras puede causar un amplio espectro de enfermedades.

La infección en piel es muy común, siendo *S. aureus* la bacteria que causa la gran mayoría de las infecciones en este tejido: desde infecciones superficiales (epidermis) que aparecen como granitos/forúnculos, zonas enrojecidas, que duelen y pueden generar pus, con evolución a la enfermedad conocida como impétigo, en la que se forma como una costra en la piel, hasta infecciones más profundas (dermis) con la consecuente generación de celulitis, foliculitis (si se infecta el folículo piloso), úlceras, etc.



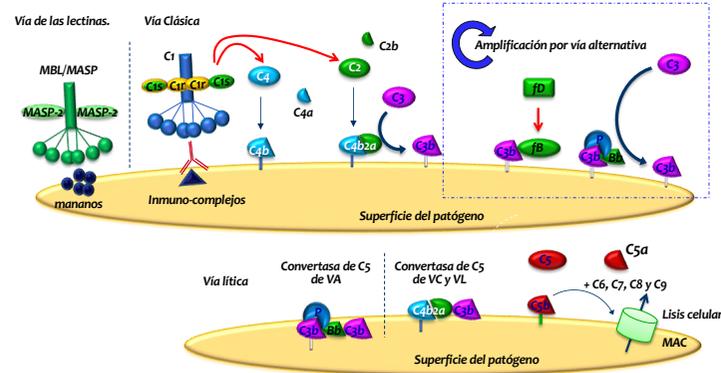
La piel constituye la primera barrera física a la entrada de patógenos del ambiente. Tiene propiedades constitutivas que previenen la colonización y la infección del tejido subyacente: baja temperatura y pH ácido, producción de péptidos antimicrobianos, presencia de la flora natural que compite con los patógenos por los nichos.

La piel esta formada por la epidermis y la dermis, con características bien distintas. Tanto en epidermis como en dermis vamos a encontrar diferentes tipos de células del sistema inmune. En la epidermis encontramos por ejemplo células de Langerhans (macrófagos), mientras que en la dermis encontramos principalmente macrófagos, células dendríticas, y mastocitos. Por lo tanto, la piel esta armada para responder e inducir una respuesta inmune temprana frente a organismos invasores como *S. aureus*. La dermis se encuentra irrigada por vasos sanguíneos y linfáticos.

En ausencia de infección los macrófagos y mastocitos se encuentran en estado de reposo. Las células dendríticas de la dermis se encuentran en estado inmaduro. Este estado implica una alta capacidad endocítica/fagocítica y de procesamiento de los antígenos internalizados pero una baja capacidad de presentación del antígeno, con expresión de bajos niveles de MHC I y II, así como de moléculas co-estimuladoras. Las dendríticas inmaduras están especializadas en sensar el ambiente mediante sus PRR y no en su función presentadora.

Cuando las bacterias atraviesan la piel, sus componentes serán reconocidos por los diferentes PRR presentes en las diferentes células y se inducirá la respuesta correspondiente para eliminar la infección. La piel es un buen ejemplo de cómo, además de las células propias del sistema inmune, las células propias del tejido contribuyen al control y eliminación de los patógenos. Los queratinocitos en la epidermis también son capaces de detectar componentes conservados en los microorganismos mediante sus PRR (particularmente TLR y NLR) e iniciar la respuesta innata produciendo péptidos antimicrobianos (beta defensinas, que interactúan con las membranas de los patógenos e inducen su destrucción) y mediadores inflamatorios (IL-1, IL6, TNF α , quimiocinas como la IL8 en forma similar a macs y DC).

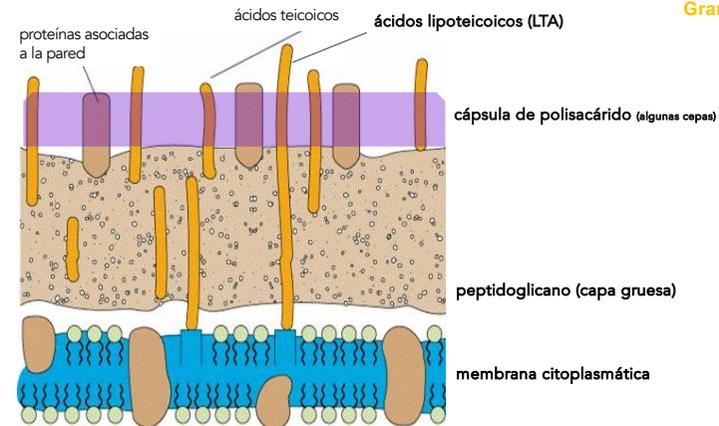
Sistema complemento:



¿Qué funciones cumple el sistema de complemento que contribuyen a la eliminación de los patógenos?

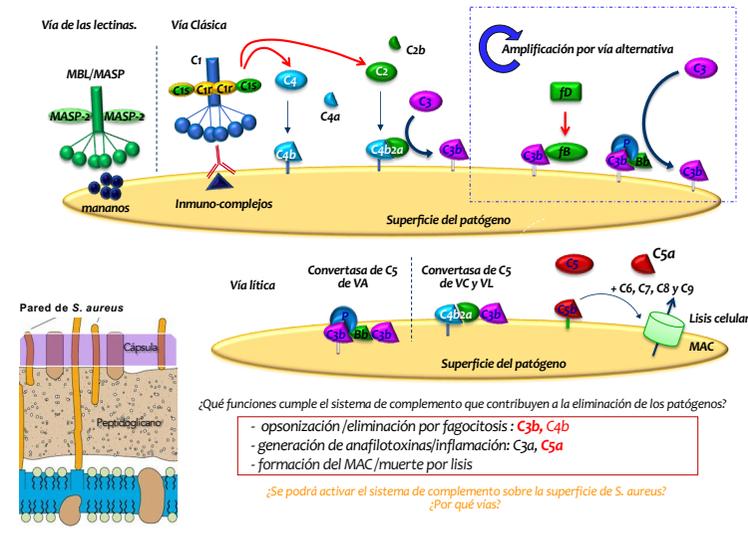
- opsonización /eliminación por fagocitosis : **C3b, C4b**
- generación de anafilotoxinas/inflamación: C3a, **C5a**
- formación del MAC/muerte por lisis

Composición de la pared de *S. aureus*

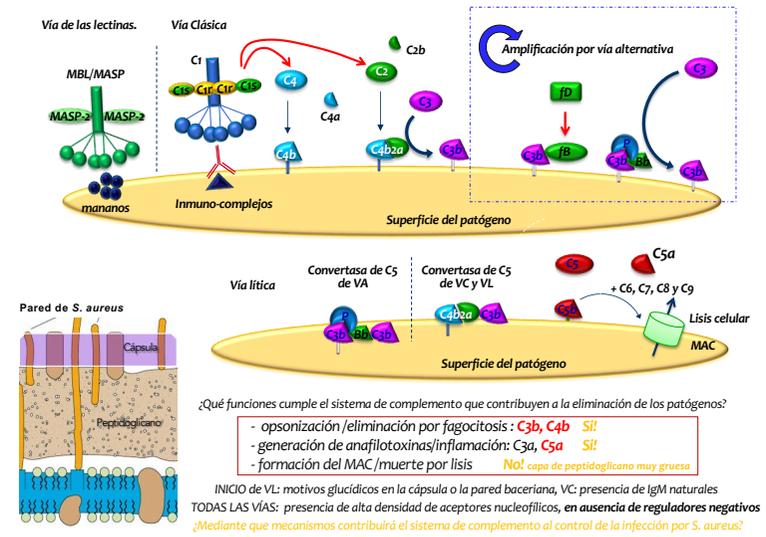


Factores de virulencia: ej. toxinas que forman poros en las membranas celulares (alfa-hemolisina)

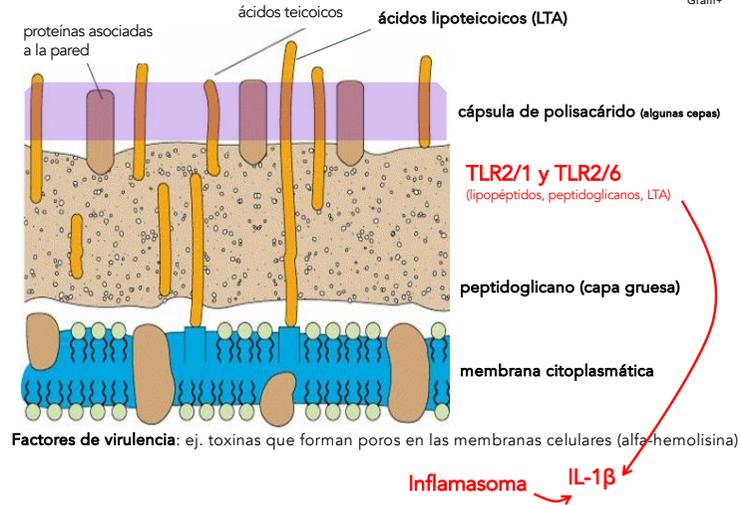
Sistema complemento y *S. aureus*



Sistema complemento y *S. aureus*:



Reconocimiento de *S. aureus* por PRRs



PRR implicados en el reconocimiento:

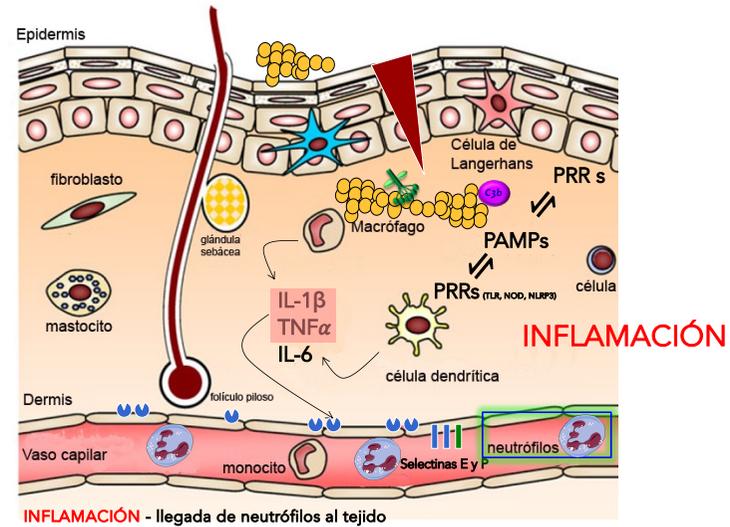
TLR2/1 y 2/6 presentes en DC, macs, neutrófilos y células epiteliales

NOD2 reconoce muramildipeptido, un producto de la descomposición del peptidoglicano que puede entrar al citosol mediante toxinas bacterianas que pueden formar poros en la membrana celular, estas mismas toxinas, como la toxina alfa, también llevan a la activación del inflamasoma NLRP3

Efectos del reconocimiento – TLR y NOD – señalización – activación celular – producción de mediadores inflamatorios

- TLR + Inflamasoma NLRP3 – transcripción de la pro-IL1b (por señales de TLR) y posterior procesamiento de pro-IL1-b por la caspasa-1 que se activa como resultado de la activación del inflamasoma---resultado: secreción de IL-1b en su forma activa, citoquina muy importante por sus propiedades pro-inflamatorias.

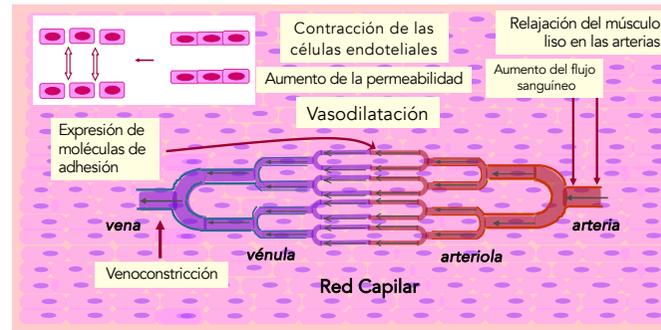
Respuesta innata – inmunidad temprana contra bacterias extracelulares



En el caso de la infección por *S. aureus*, la bacteria logra colonizar la superficie de la piel mediante diferentes factores de virulencia que contrarrestan las propiedades de barrera de la misma. Por ejemplo, algunas cepas presentan factores que inhiben la actividad de péptidos antimicrobianos, como las catelicidinas, otro ejemplo son las **toxinas exfoliantes que rompen las uniones celulares**, etc. Además ocurre invasión en casos de cortes, quemaduras o picaduras de insecto.

Una vez que invaden el tejido, las DC y macrófagos reconocerán a la bacteria mediante sus PRR, particularmente TLR, NLRs y receptores para opsoninas, activándose y produciendo mediadores inflamatorios, como IL1beta y TNFalfa, que actuarán sobre las células endoteliales de los vasos promoviendo la inflamación y el reclutamiento de neutrófilos al sitio de infección. **Los neutrófilos van a ser claves para la eliminación de las bacterias extracelulares.**

Efectos de los mediadores de la inflamación sobre los vasos sanguíneos



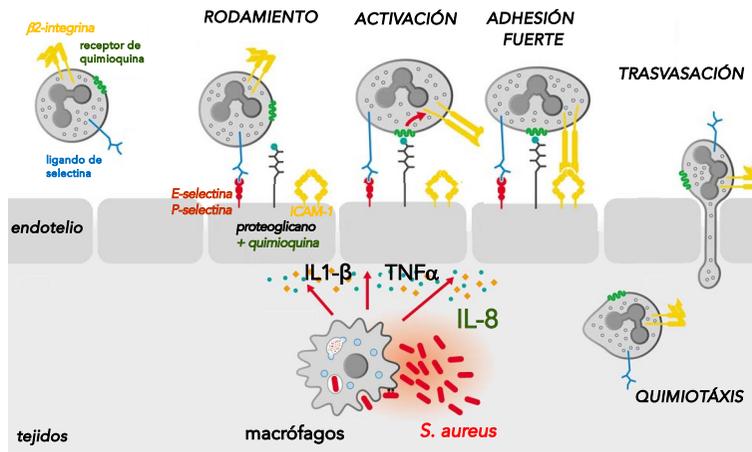
A nivel de los vasos capilares y vénulas post-capilares se pierde la capa de músculo liso que rodea al endotelio de las arterias y arteriolas. Esto permite la extravasación celular a esta altura; la extravasación ocurre sobre todo a nivel de las vénulas post-capilares donde las células sólo encuentran como barrera una monocapa celular.

Los mediadores proinflamatorios contribuyen al aumento del flujo sanguíneo, a la vasodilatación y al aumento de la permeabilidad de los vasos. Estos dos últimos fenómenos se asocian con la contracción de la célula endotelial (observar la figura superior de la izquierda); las células se achican aumentando el espacio entre ellas y permitiendo el aumento del diámetro del vaso.

Los mediadores inflamatorios también contribuyen a la detención de las células sanguíneas en esta zona de la vasculatura porque inducen la expresión de moléculas de adhesión en el endotelio para las cuales los leucocitos de la sangre poseen receptores.

RECLUTAMIENTO DE LOS Neutrófilos al SITIO DE INFECCIÓN

sangre

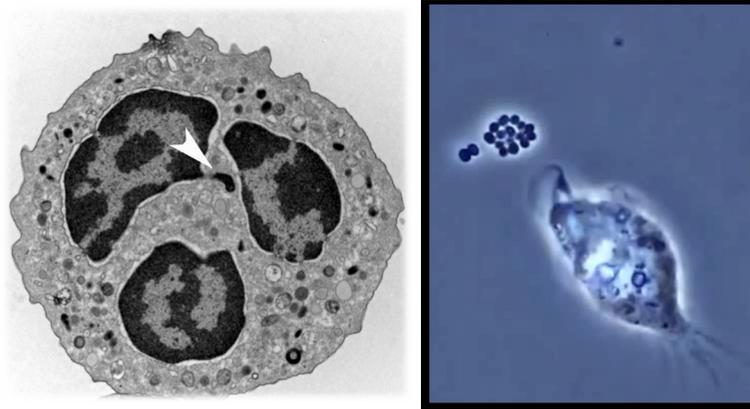


Neutrófilo (N Φ)

- central en la defensa primaria contra la infección por bacterias extracelulares

- núcleo segmentado
- gran cantidad de gránulos

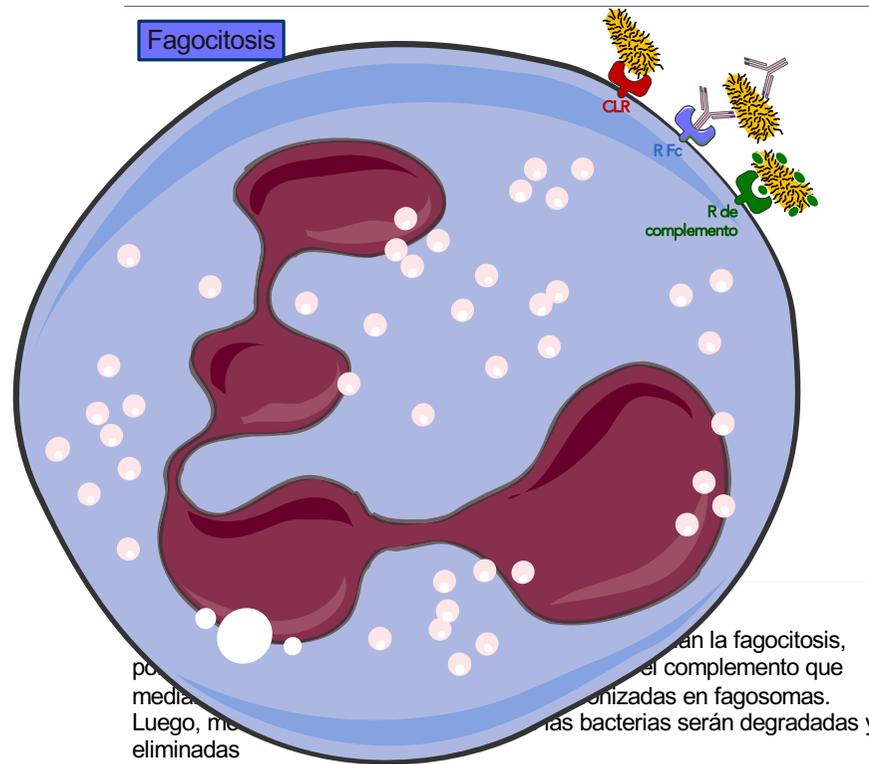
Célula fagocítica muy eficiente
Mecanismos microbicidas muy potentes

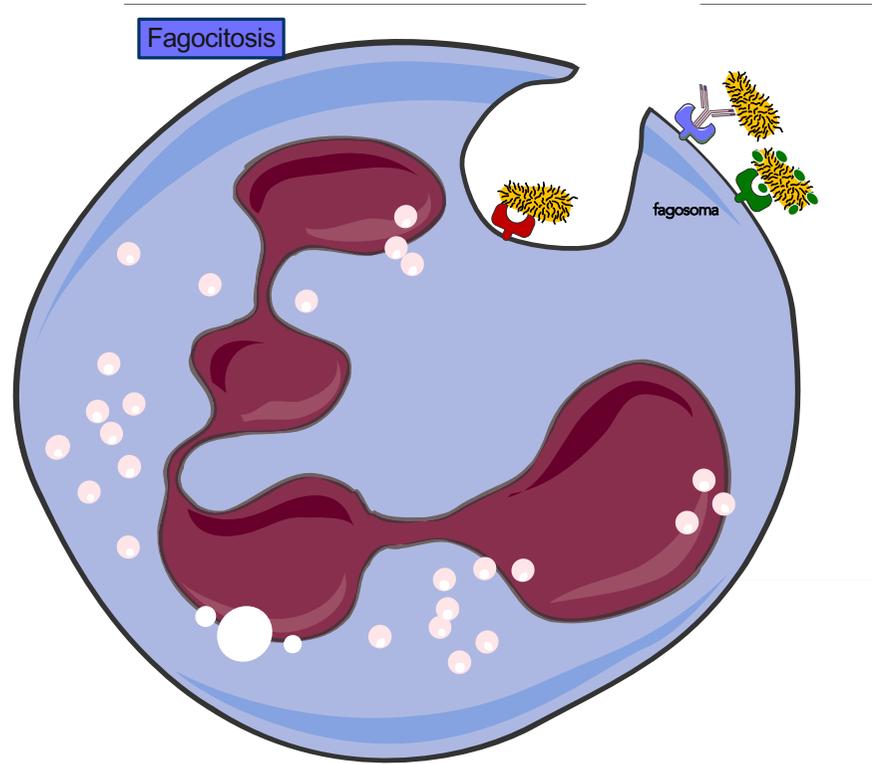


Dos características morfológicas importantes: la forma del núcleo (segmentado en 3-5 lóbulos) y la presencia de gránulos. Los gránulos son vesículas especializadas que contienen una carga específica y generalmente tóxica. Existen diferentes tipos de gránulos con componentes con actividad bactericida o bacteriostática, factores que secuestran nutrientes esenciales para el crecimiento de las bacterias: lactoferrina (secuestra Fe y Cu)

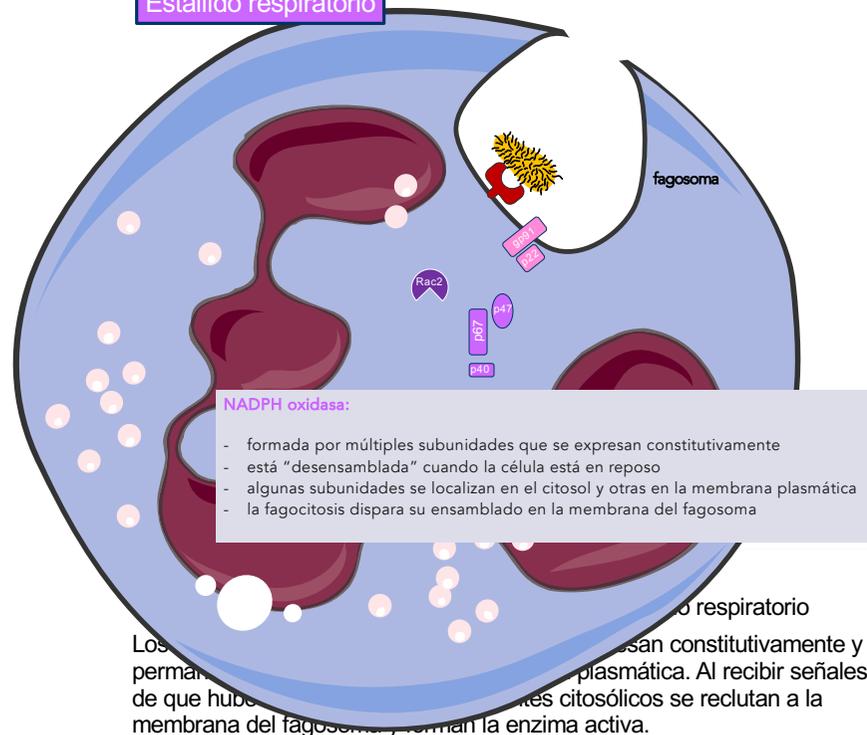
El papel clave de estas células en la infección por *S. aureus* queda evidente por el aumento de la susceptibilidad a este tipo de infecciones en pacientes con enfermedades genéticas o adquiridas en las que el número o función de estas células se ve afectado. Ej neutropenia congénita severa o enfermedad granulomatosa crónica, deficiencias en mieloperoxidasa, etc.

Las infecciones por *S. aureus* se caracterizan por lesiones piogénicas. Microscópicamente, las lesiones van a estar formadas particularmente por neutrófilos muertos.

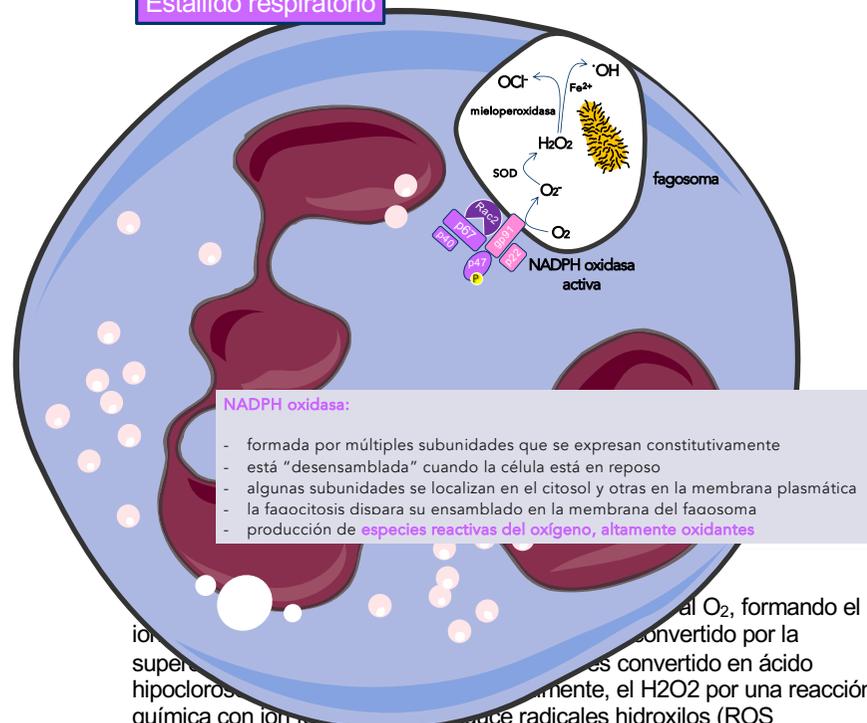




Estallido respiratorio



Estallido respiratorio



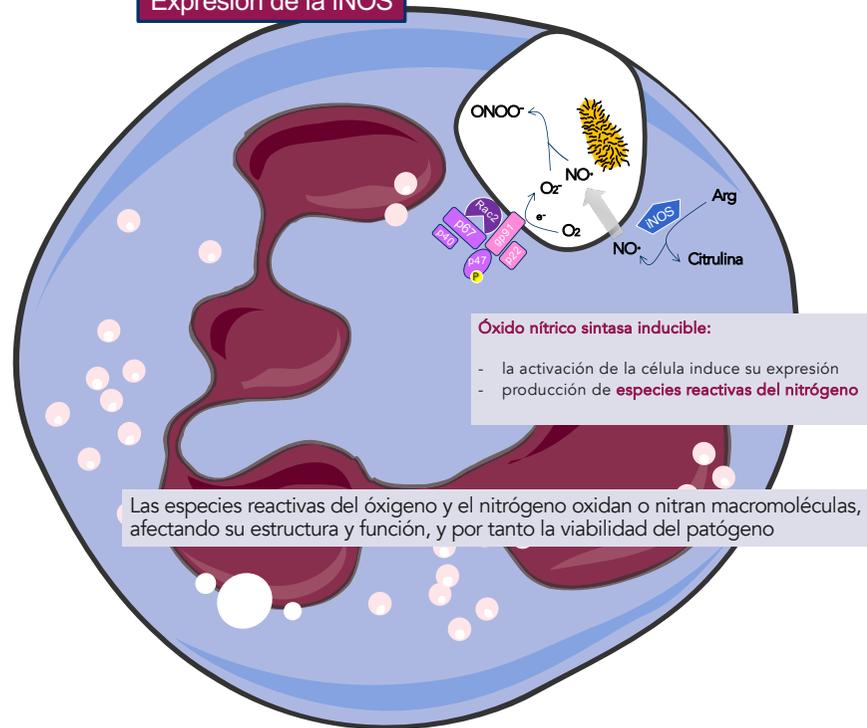
NADPH oxidasa:

- formada por múltiples subunidades que se expresan constitutivamente
- está "desensamblada" cuando la célula está en reposo
- algunas subunidades se localizan en el citosol y otras en la membrana plasmática
- la fagocitosis dispara su ensamblado en la membrana del fagosoma
- producción de **especies reactivas del oxígeno, altamente oxidantes**

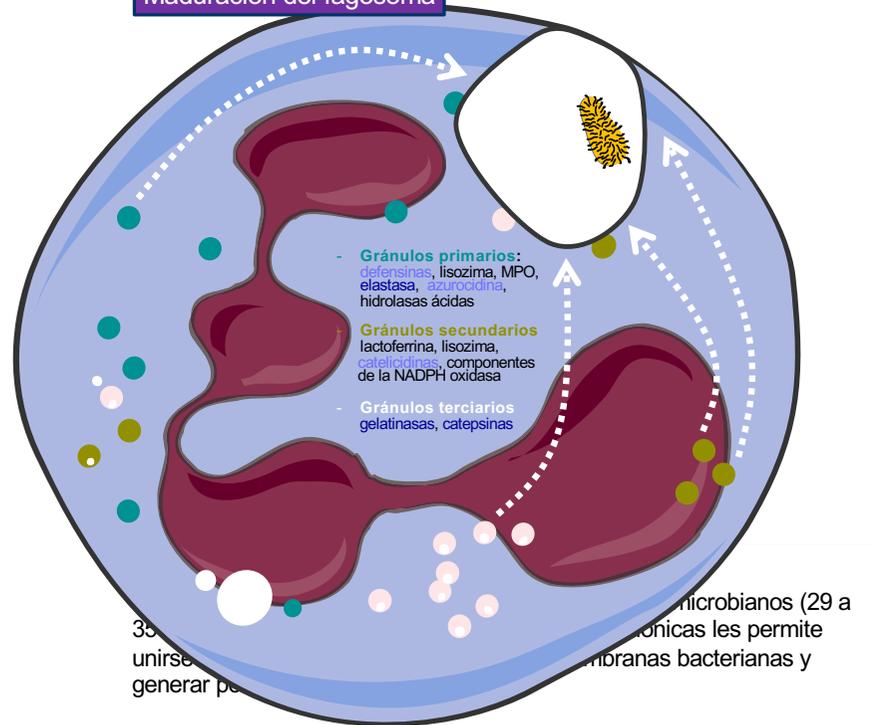
ión de O_2 , formando el $O_2^{\cdot -}$. Este $O_2^{\cdot -}$ es convertido por la superóxido dismutasa (SOD) en H_2O_2 , que es convertido en ácido hipocloroso ($HOCl$) por la mieloperoxidasa (MPO) en presencia de iones de hierro (Fe^{2+}). Finalmente, el H_2O_2 por una reacción química con iones de hierro (Fe^{2+}) produce radicales hidroxilos (ROS secundarios). Todos estos ROS dañan directamente a la bacteria al oxidar sus componentes, que pierden estructura y funcionalidad.

Fusión con los gránulos que vuelcan su contenido tóxico en el fagolisosoma- actividad bacteriostática o bactericida

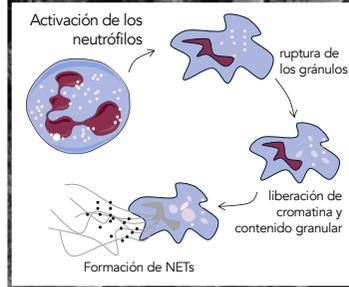
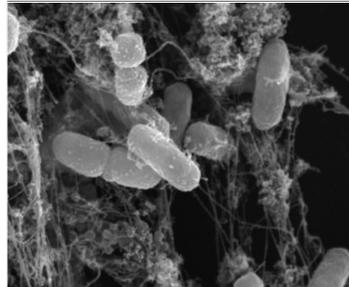
Expresión de la iNOS



Maduración del fagosoma

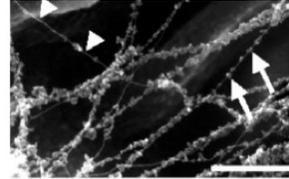


Elastasa y catepsinas – proteasas
Lisozima – degradación del peptidoglicano



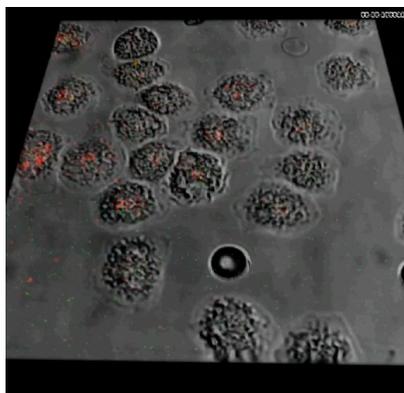
NETs: trampas extracelulares

Cromatina (filamentos) + proteínas de los gránulos (dominios globulares)



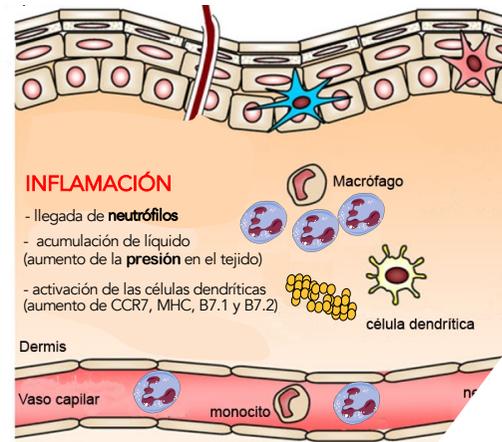
- las bacterias se adhieren a las NETs mediante interacciones electrostáticas
- acción microbicida en alta concentración sobre las bacterias "atrapadas"

Función antimicrobiana
Prevención de la diseminación



Video de neutrófilos sufriendo NETosis (microscopio confocal): las células se estimularon con PMA y se grabaron por 2 h 30'. Cromatina marcada en rojo, elastasa en verde

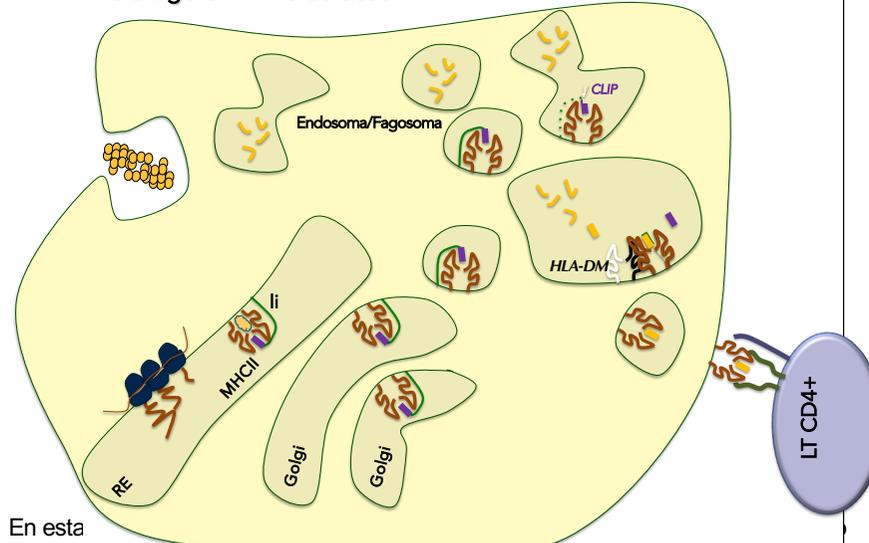
Inducción de la respuesta adaptativa



Por otro lado las DC ejercerán su papel de APC (célula presentadora de antígeno). Sufren cambios drásticos en su fenotipo:

- aumentan CCR7, que las dirige hacia los órganos linfoides que drenan la piel (en respuesta a las quimioquinas CCL19 y CCL21 producidas en la zona T del ganglio)
- disminuyen su capacidad endo/fagocítica
- aumentan expresión de MHC y moléculas co-estimuladoras (B7.1 y B7.2)
- producen determinado panel de citoquinas condicionado por el tipo de patógeno que encontraron, en este caso *S. aureus*, afectando el perfil de diferenciación de los LT hacia Th17 y Th1, especializados en eliminar este tipo de infección

Vía exógena – MHC de clase II



En esta vía, los antígenos extracelulares e internalizados en vesículas (endosomas, fagosomas) por células dendríticas y macrófagos (endocitosis, fagocitosis mediante diferentes receptores) y LB (endocitosis mediante BCR) para ser reconocidos por LT CD4+. Esta vía es tanto necesaria para la activación de los LT CD4 por las DC como para el disparo de su función efectora, con diferentes consecuencias según con qué célula colaboran (macrófagos y linfocitos B típicamente).

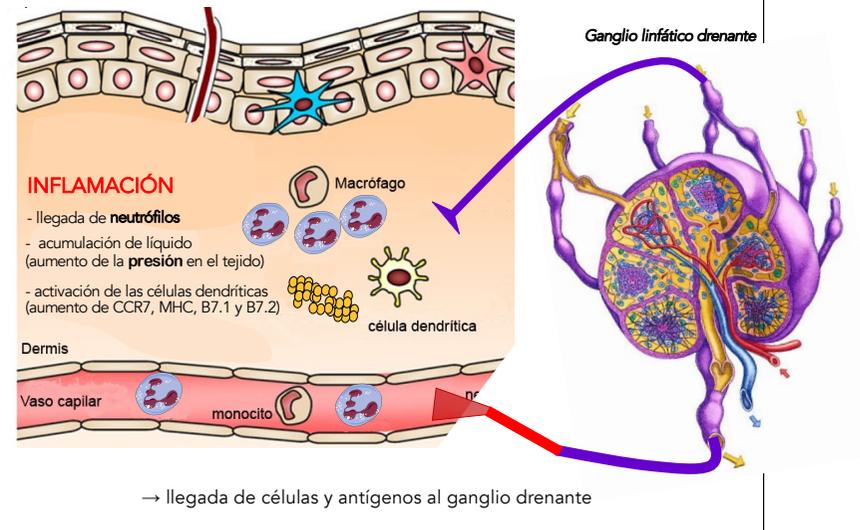
Al ser internalizados (PRRs, BCR) los componentes de los patógenos quedan en endosomas/fagosomas que luego van fusionándose con otras vesículas, en el proceso que se conoce como maduración del endosoma/fagosoma. Las proteínas son degradadas en los endosomas/fagosomas tardíos, generándose péptidos para cargar en la hendidura del MHCII. La degradación es un proceso activo mediado por proteasas que se activan a pH ácido (catepsinas).

Por su parte, las cadenas alfa y beta del MHCII se sintetizan coordinadamente en el RE, se asocian con ayuda de chaperonas, y se transportan a los endosomas asociadas a una glicoproteína llamada **cadena invariante que estabiliza la molécula**.

La cadena li, forma un trímero y con cada monómero ocupa una hendidura de

MHCII (con una región de li conocida como CLIP). Solo cuando el complejo de 9 cadenas está formado es que el MHCII sale del RE y es dirigido a los endosomas. Li evita la unión de péptidos durante el trayecto por el RE, golgi, vesículas exocíticas, hasta llegar a los endosomas tardíos. La presencia de Li retiene al MHCII en dichos endosomas.

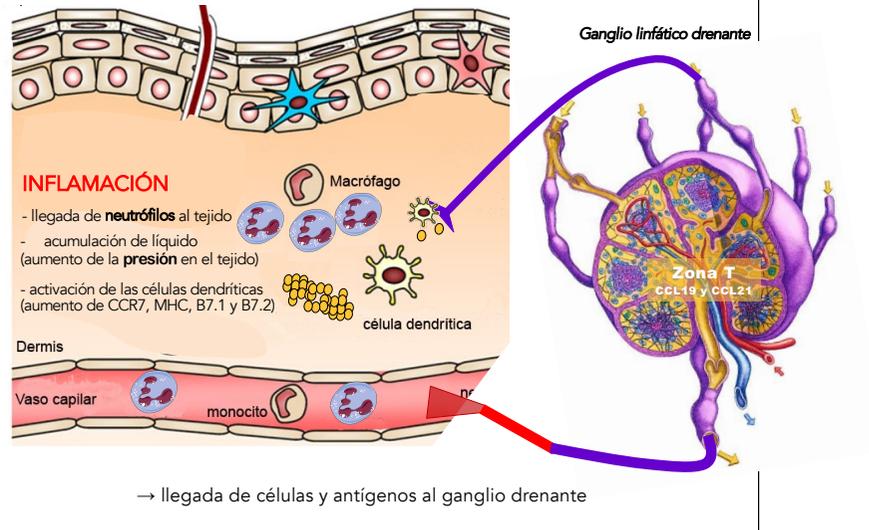
Inducción de la respuesta adaptativa



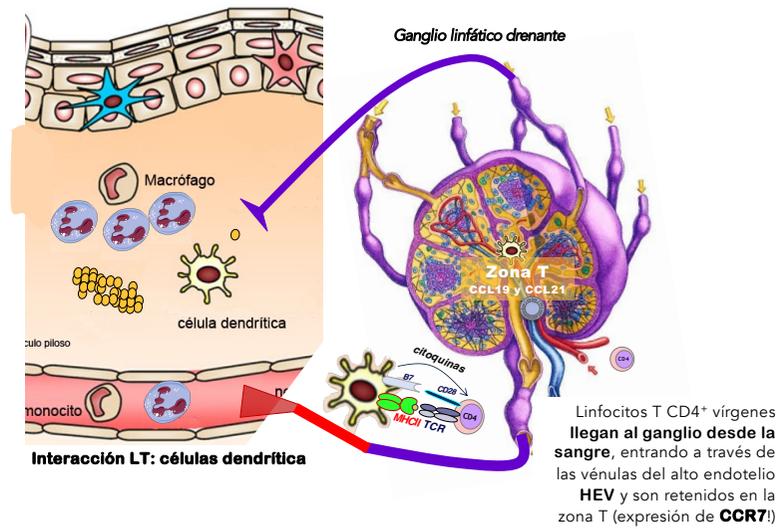
Por otro lado las DC ejercerán su papel de APC (célula presentadora de antígeno). Sufren cambios drásticos en su fenotipo:

- aumentan CCR7, que las dirige hacia los órganos linfoides que drenan la piel (en respuesta a las quimioquinas CCL19 y CCL21 producidas en la zona T del ganglio)
- disminuyen su capacidad endo/fagocítica
- aumentan expresión de MHC y moléculas co-estimuladoras (B7.1 y B7.2)
- producen determinado panel de citoquinas condicionado por el tipo de patógeno que encontraron, en este caso *S. aureus*, afectando el perfil de diferenciación de los LT hacia Th17 y Th1, especializados en eliminar este tipo de infección

Inducción de la respuesta adaptativa



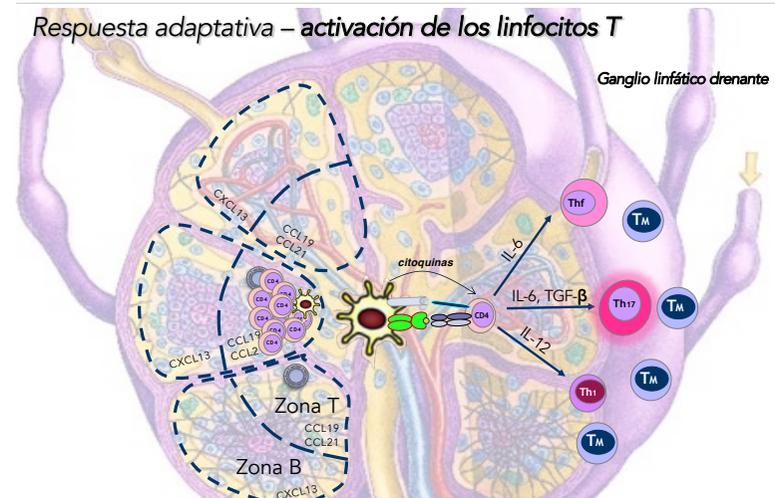
Respuesta adaptativa – presentación del antígeno a los linfocitos T



Pero además ahora las DC ejercerán su papel de APC. Sufren cambios drásticos en su fenotipo:

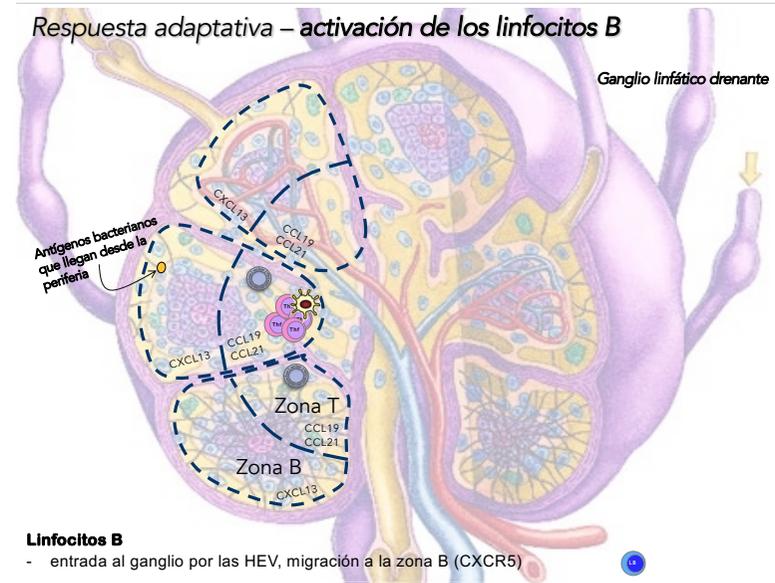
- aumentan CCR7, que las dirige hacia los OL que drenan la piel (en respuesta a CCL19 y CCL21)
- Disminuyen su capacidad endo/fagocítica, restringiendo el perfil de Ag que van a presentar a los LT a aquellos que encontraron en el tejido (periferia)
- Aumentan expresión de MHC y moléculas co-estimuladoras
- Producen determinado panel de citoquinas condicionado por el tipo de patógeno que encontraron, en este caso Sp, afectando el perfil de diferenciación de los LT hacia Th1/Th17, especializados en eliminar este tipo de infección

Respuesta adaptativa – activación de los linfocitos T



1. **PROLIFERACIÓN** – con producción de IL-2 y la cadena α de su R – efecto autócrino
2. **DIFERENCIACIÓN** – 1. células efectoras **Thf** que actúan en el ganglio, y **Th17** y Th1 que migran y actúan en el sitio de infección y

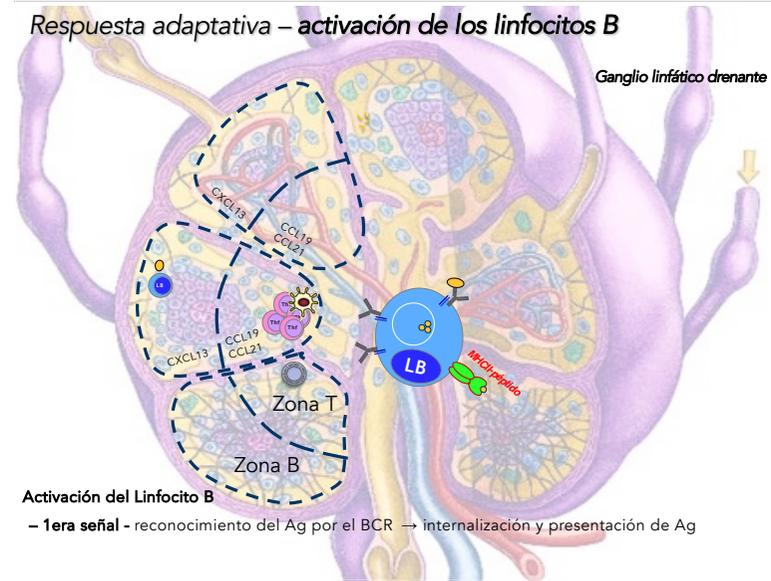
Respuesta adaptativa – activación de los linfocitos B



Linfocitos B

- entrada al ganglio por las HEV, migración a la zona B (CXCR5)

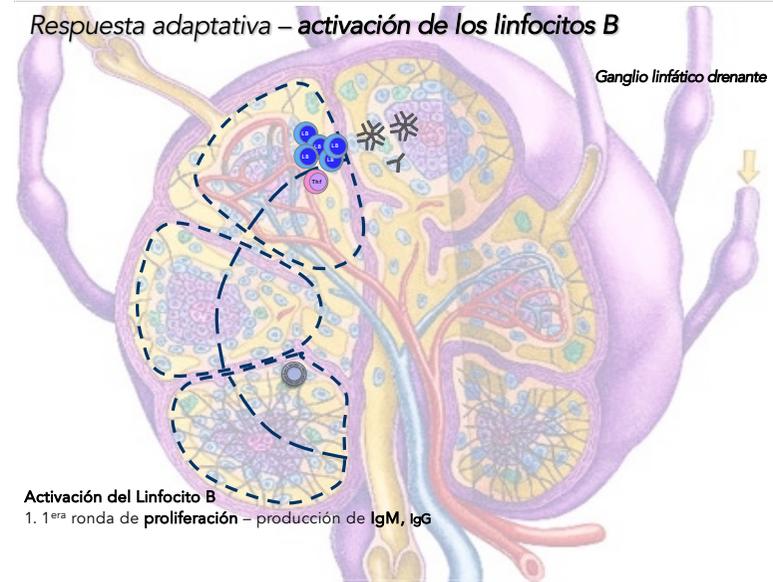
Respuesta adaptativa – activación de los linfocitos B



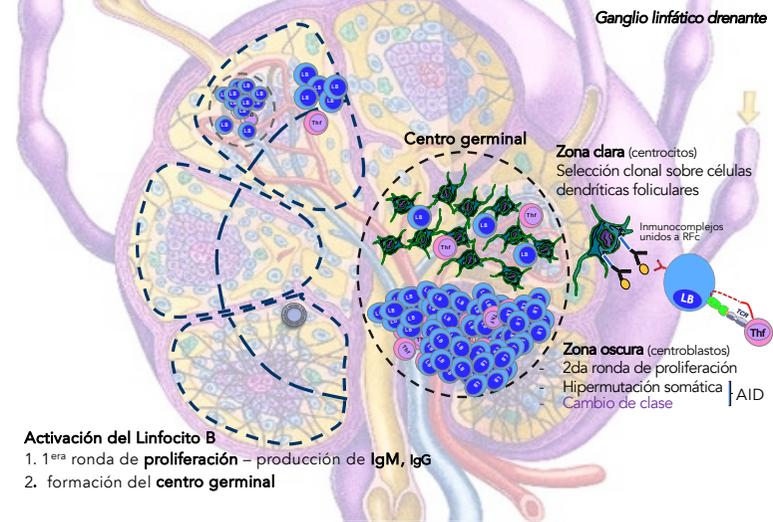
Activación del Linfocito B

– 1era señal - reconocimiento del Ag por el BCR → internalización y presentación de Ag

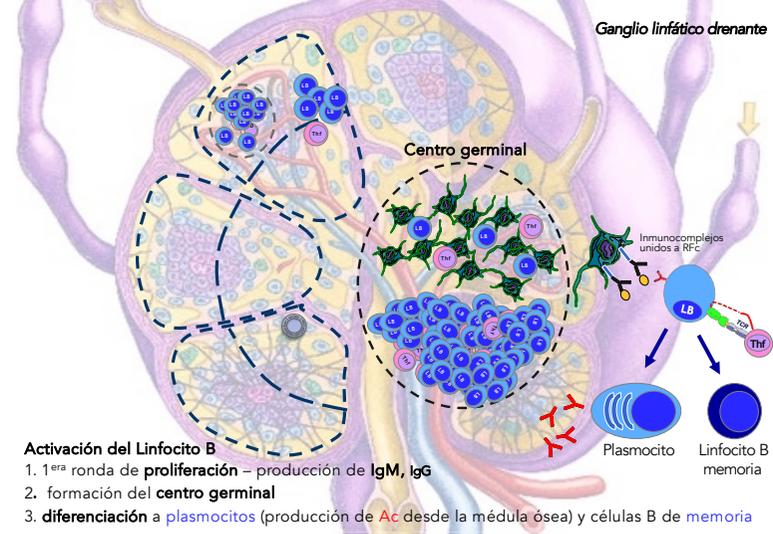
Respuesta adaptativa – activación de los linfocitos B



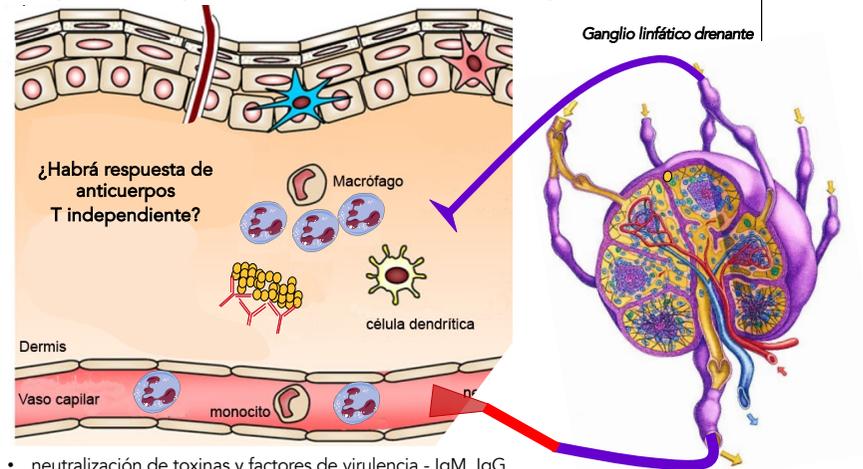
Respuesta adaptativa – activación de los linfocitos B



Respuesta adaptativa – activación de los linfocitos B

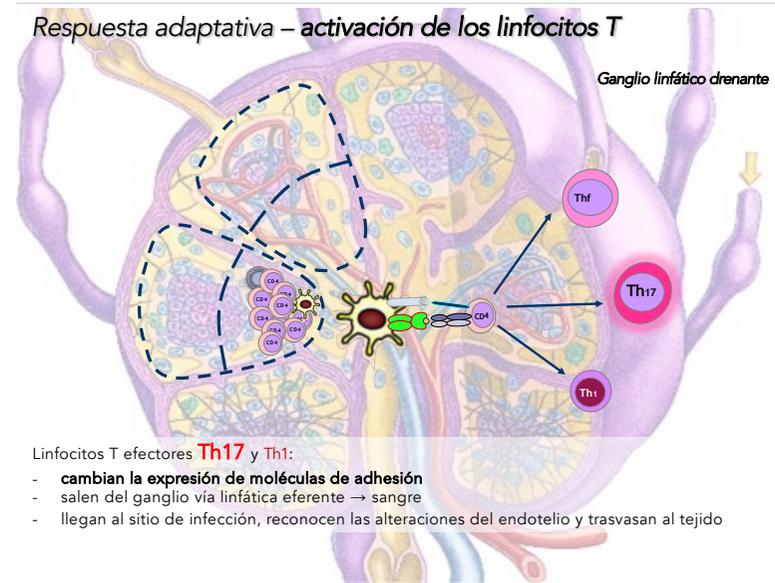


Respuesta adaptativa – función de los Anticuerpos



- neutralización de toxinas y factores de virulencia - IgM, IgG
- **opsonización** de bacterias – eliminación por fagocitosis - IgG1 e IgG3
- activación de la vía clásica del compl. – IgM, IgG3, IgG1 (opsonización, inflamación, **MAC**)

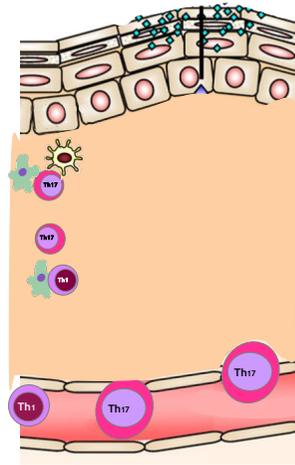
Respuesta adaptativa – activación de los linfocitos T



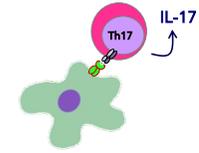
Linfocitos T efectores **Th17** y **Th1**:

- cambian la expresión de moléculas de adhesión
- salen del ganglio vía linfática eferente → sangre
- llegan al sitio de infección, reconocen las alteraciones del endotelio y trasvasan al tejido

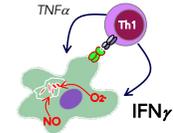
Los linfocitos Th17 y Th1 que llegan al tejido infectado necesitan señales para disparar su función efectora: **reconocimiento del complejo MHCII-péptido específico en células presentes en el tejido**

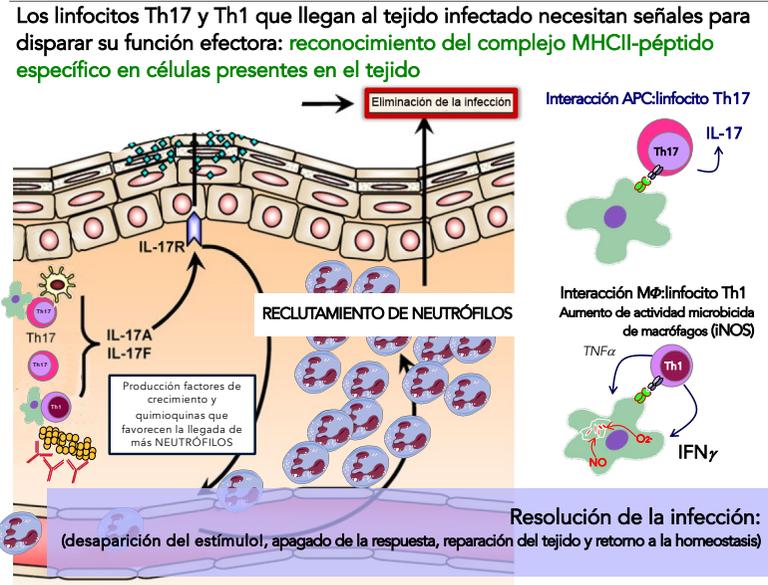


Interacción APC:linfocito Th17



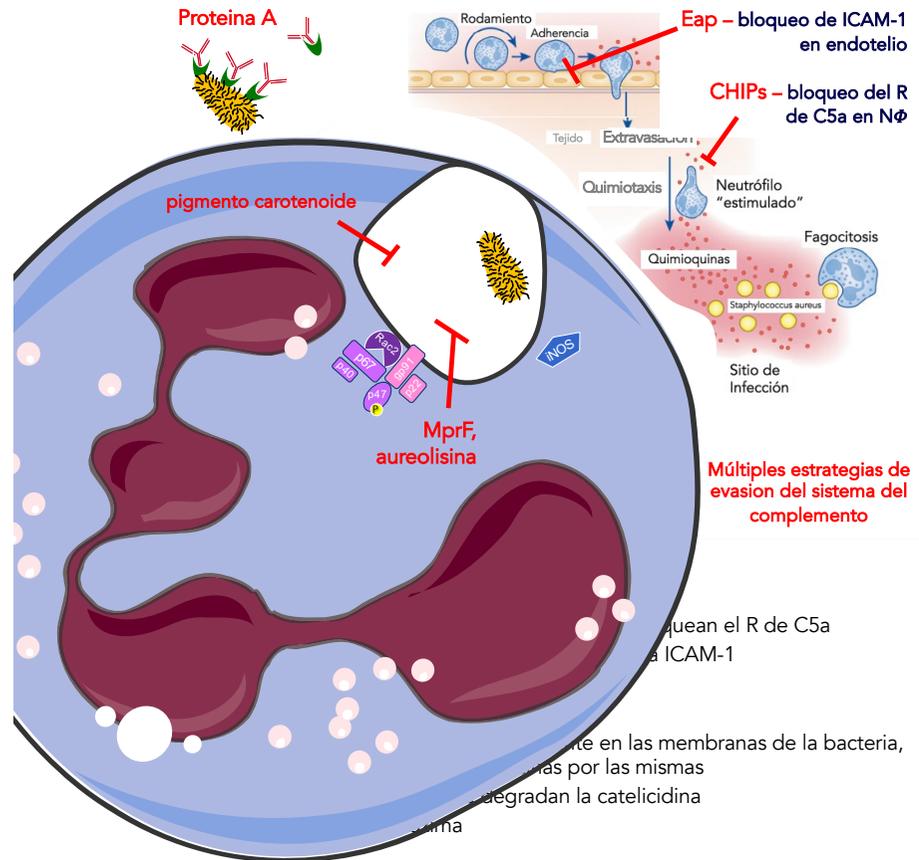
Interacción Mφ:linfocito Th1
Aumento de actividad microbicida de macrófagos (iNOS)





La IL17 induce la producción de quimioquinas como las CXCL1 y CXCL2 e IL8, que reclutan macs. Ratones deficientes en IL17 no pueden combatir eficientemente la infección.

S. aureus – múltiples mecanismos de evasión



Evasión de las ROS

- pigmento carotenoide – potente actividad anti-oxidante
- superóxido dismutasas – degradan el superóxido

Proteína A

Evita el reconocimiento de los Anticuerpos por los receptores Fc, tanto expresada en forma soluble como en la superficie de la bacteria

Daño a las células

- toxina citolítica o α -toxina – forma poros al ensamblarse sobre las células del hospedero – lisis
- leucotoxinas

En resumen...

