

MODULO 2: SISTEMA INMUNE INNATO Y ESPECÍFICO

TEMA 3: CÉLULAS Y RECEPTORES DEL SISTEMA INMUNE INNATO Y ADAPTATIVO O ESPECÍFICO

ÍNDICE:

1. Células del sistema inmune innato y específico
2. Receptores de membrana de células del sistema inmune
3. Características del reconocimiento del sistema inmune
4. Consecuencias de interacción RRP:PAMP

1. CÉLULAS DEL SISTEMA INMUNE INNATO Y ESPECÍFICO

Sistema inmune innato

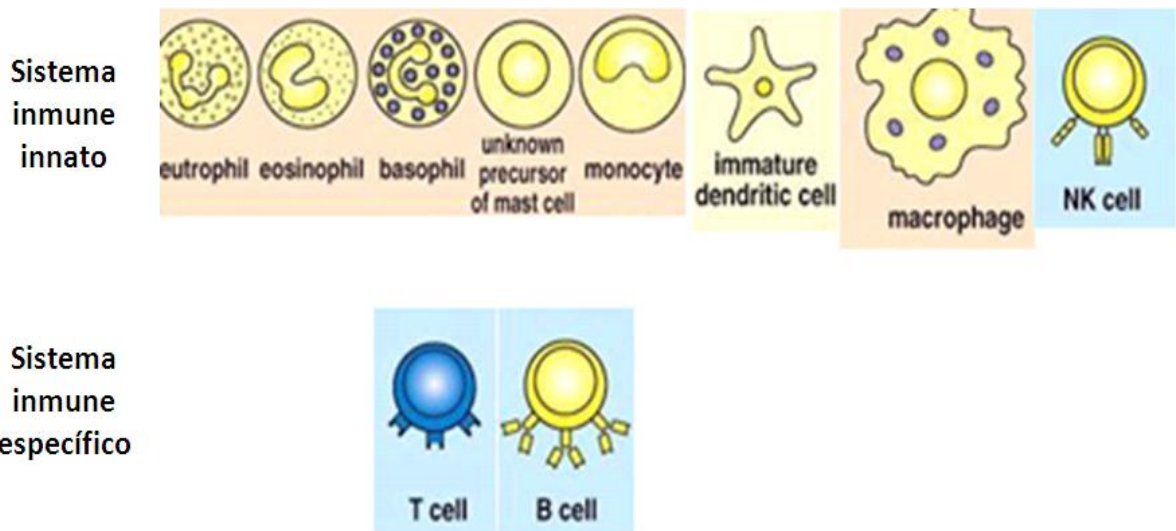
Las células que pertenecen al sistema inmune innato son:

- Células mieloides: Monocitos/macrófagos y granulocitos (neutrófilos, eosinófilos y basófilos)
- Mastocitos
- Células dendríticas
- Células NK (Natural Killer)

Sistema inmune específico

Las células del sistema inmune específico son:

- Linfocitos B
- Linfocitos T



2. RECEPTORES DE MEMBRANA DE CÉLULAS DEL SISTEMA INMUNE

Sistema inmune innato

Prácticamente cualquier células del sistema inmune innato puede interaccionar con un determinado microorganismo utilizando algunos de los receptores de inmunidad innata con los que está dotado

Las células del sistema inmune innato reconocen PAMPs presentes en la superficie de microorganismos mediante varios RRP

- **Receptores celulares:**
Cada célula del sistema inmune innato expresa varios receptores de membrana de distinta secuencia y estructura cuaternaria denominados RRP (Receptores que Reconocen Patógenos)
PMAP (Patrones Moleculares Asociados a Patógenos) Son ligandos presentes en microorganismos con los que interaccionan los RRP Cada uno de los receptores interacciona con Patrones Moleculares Asociados a Patógenos (PMAP). Estos ligandos son comunes a muchos microorganismos
- **Distribución de receptores:**
No tienen distribución clonal.
Un determinado RRP tiene idéntica secuencia en todas las células que lo expresen, sea del mismo tipo celular o no
Están codificados por genes que no sufren reordenamientos, de ahí que no haya variabilidad.
- **Discriminación entre propio y extraño:**
Los PAMPs no se expresan en células del organismo dotados con sistema inmune, por lo que no serán detectadas por las células del sistema inmune innato

Sistema inmune específico

- Cada microorganismo es reconocido por un subgrupo de linfocitos T y B muy pequeño que no son capaces de interaccionar con otros microorganismos
- Los linfocitos B reconocen estructuras de superficie del patógeno o de moléculas solubles como toxinas a través de un único receptor de antígeno. NO reconoce PMAPs
- Los linfocitos T reconocen el antígeno cuando está intracelular en forma de complejos pMHC
- **Receptores celulares**
Cada linfocito B o T expresa un único tipo de molécula de membrana denominada “receptor de Antígeno de linfocito B o T” Como los ligandos para estos receptores son muy variados, se utiliza la palabra antígeno, que es cualquier estructura capaz de ser reconocida por un receptor de antígeno de linfocito T o B
Por ello cuando un linfocito interacciona con un microorganismo se dice que es específico contra él.
El receptor de Antígeno de linfocito B (en humanos inmunoglobulina) está compuesto por cuatro cadenas proteicas (dos pesadas y dos ligeras)
El receptor de antígeno de linfocito T está compuesto por sólo dos cadenas pesadas.
 - **Distribución de receptores**
Se dice que sí tienen distribución clonal, dado que clones de linfocitos expresan receptores de secuencia diferentes y por tanto unen ligandos diferentes.
Esto se debe a que los genes que codifican a los receptores de antígeno de linfocitos T y B sufren reordenamiento para generar diversidad
 - **Discriminación entre lo propio y lo extraño**
Los progenitores de linfocitos T y B que reconocen estructuras propias mueren en un proceso denominado “selección negativa”. Por ello todos los linfocitos T y B no pueden reconocer estructuras propias, en caso contrario hubieran muerto durante su desarrollo

3. CARACTERÍSTICAS DEL RECONOCIMIENTO DEL SISTEMA INMUNE

Sistema inmune innato

- Una determinada célula del sistema inmune innato reconoce diferentes microorganismos
- Una misma célula expresa varios RRP de secuencia distinta capaces de reconocer cada uno de ellos un PMAP característico presente en microorganismo
- Cada RRP tiene estructura tridimensional distinta a los otros RRP e interacciona con PMAPs específicos
- Los RRP se agrupan en familias en función de la similitud de su estructura terciaria o en función que unan azúcares (familia lectina)
- Un mismo RRP reconoce diferentes microorganismos porque éstos pueden compartir PMAP
- Los RRP suelen tomar su nombre del ligando al que se unen y para el que son específicos
- La secuencia de un determinado RRP es idéntica en todas las células que lo expresen, esto significa que NO tienen distribución clonal
- Tras su contacto con el microorganismo, los RRP transmiten señales al interior de la célula capacitándoles para realizar diferentes funciones que pueden o no solaparse
- Los PMAP son estructuras comunes a diferentes microorganismos
- Los PMAPs son estructuras no presentes en células o moléculas solubles propias
- Los PMAPs no tienen ninguna característica estructural común a todos ellos
- La mayoría de los PMAPs son estructuras no proteicas, de hecho cuando son proteicas el sistema inmune innato suele interactuar con la fracción no proteica
- Hay algunos receptores de inmunidad innata presentes en células del sistema inmune Innato que reconocen moléculas propias modificadas denominadas Oponinas, que son proteínas propias "alteradas" por ser fragmentos o sufrir cambios conformacionales, que marcan a microorganismos como "peligrosos"

Sistema inmune específico

- Cada célula del sistema inmune específico reconoce un único microorganismo, y excepcionalmente puede reconocer dos
- Las células del sistema inmune específico tienen un único receptor capaz de reconocer microorganismos. Este receptor puede unir estructuras muy diferentes, por eso se denomina receptor de antígeno. Siendo un antígeno toda estructura capaz de ser reconocida por un receptor de antígeno
- La secuencia del receptor de antígeno es diferente en cada linfocito. Por eso cada linfocito sólo se une a un determinado antígeno
- Hay dos tipos de receptores del sistema inmune específico:
 - Receptor de linfocitos B o inmunoglobulina de membrana: Tiene una estructura cuaternaria compuesta por cuatro cadenas, dos pesadas y dos ligeras. Este receptor se puede secretar
 - Receptor de linfocitos T: Tiene una estructura cuaternaria compuesta por dos cadenas. No se puede secretar

4. CONSECUENCIAS DE INTERACCIÓN RRP:PAMP

- Fagocitosis (Receptores tipo lectina).
- Aumento capacidad microbicida (TLR, NOD, quimiocinas, citocinas)
- Secreción de Citocinas (TLR, NOD).
- Migración a ganglio linfático (TLR)

TEMA 4: RECEPTORES DE CÉLULAS DEL SISTEMA INMUNE INNATO

ÍNDICE

1. Receptores de estructuras presentes en microorganismos
2. Receptores que reconocen presencia de microorganismos por estar opsonizados (Reconocimiento propio modificado)
3. Receptores de estructuras presentes en la Membrana de células infectadas

1. RECEPTORES DE ESTRUCTURAS PRESENTES EN MICROORGANISMOS

Clasificación:

- Receptores presentes en la membrana celular externa
 - o Receptores tipo lectina
 - o Receptores basurero
- Receptores localizados en membrana citoplasmática o en vesículas
 - o Receptores Toll. En inglés Toll Like Receptors (TLR)
- Receptores localizados en citoplasma
 - o NOD y RIG

Receptores tipo lectina

- Están en la membrana citoplasmática
- Unen Hidratos de carbono para reconocer microorganismos en fase extracelular
- Presentes en la membrana citoplasmática de:

- o Células fagocíticas

Estos receptores son útiles en la fagocitosis

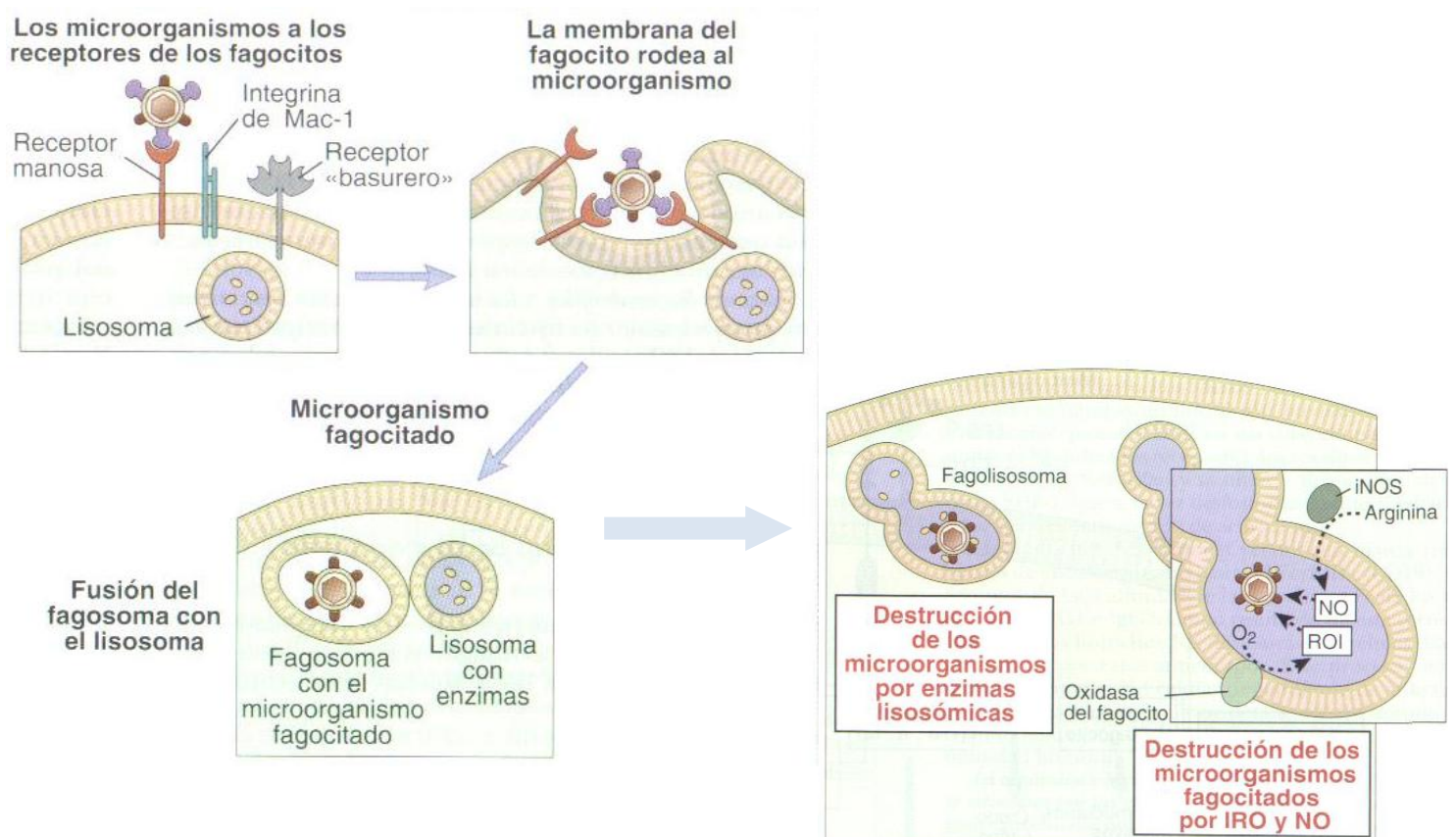
Familia MMR: Estos receptores unen manosas terminales. Patrón molecular (tipo de glicosilación) presente en microorganismos pero NO en células eucariotas.

Un ejemplo es DC-SIGN, importante en infección por VIH

- o Células no fagocíticas.

Intervienen en la extravasación.

Un ejemplo importante son las selectinas



Receptores basurero (scavenger)

- Reconocen estructuras no bien definidas estructuralmente que están presentes en microorganismos y que facilitan la fagocitosis

Receptores TLR

- Reconocen microorganismos fase extracelular.
- Están presentes en células fagocíticas.
- Al reconocer al microorganismo inducen la activación celular de la célula fagocítica
 - o Aumentan la capacidad microbicida al producir mediadores microbicidas. Estos productos microbicidas se suelen dividir en:
 - Inducibles por interacción con microorganismos
 - * Mediadores que dependen del oxígeno (Burst oxidativo)
 - * Generación de óxido nítrico
 - No inducibles. Otros mediadores siempre presentes en macrófagos.
 - o Movimiento a través de organismo.
- Hay 11 TLRs diferentes, todos con la misma estructura secundaria y terciaria pero diferente secuencia (primaria), es decir lo que varía son los genes que los codifican
- Pueden estar en membrana o en vesículas
 - o En membrana reconocen la superficie de microorganismo
 - o En vesículas reconocen elementos internos (CpG DNA, dsRNA, ssRNA) que necesitan exponerse tras la degradación de estructuras de superficie del microorganismo.

Proteínas NOD.

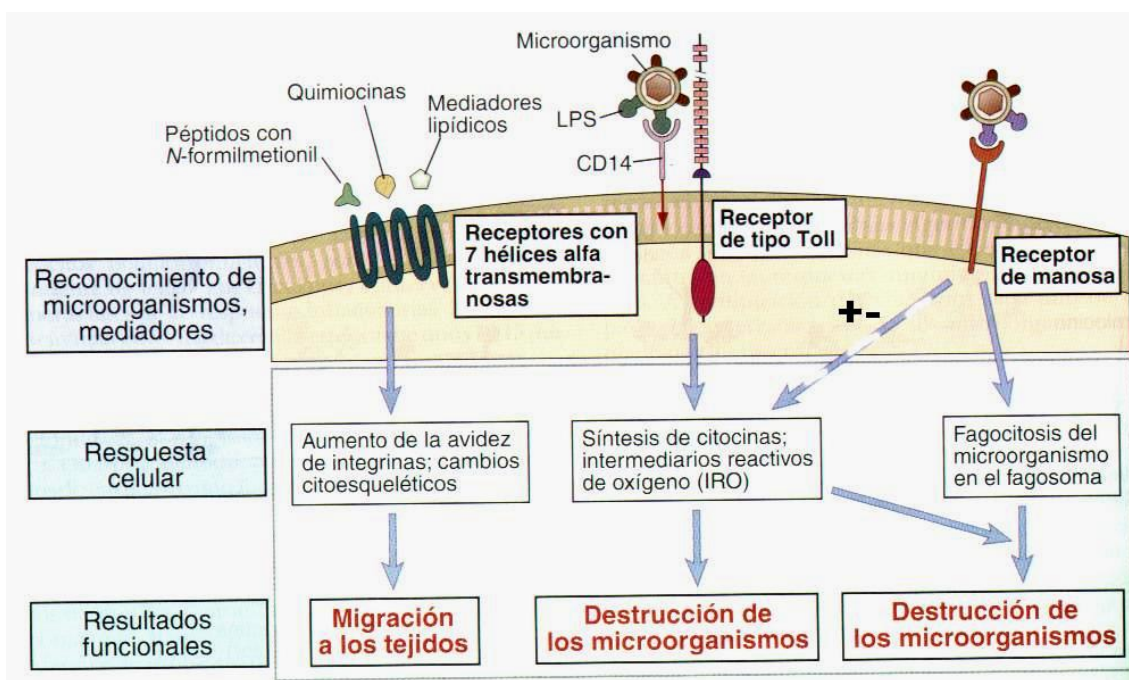
- Se encuentran en citoplasma y son capaces de reconocer componentes bacterianos que se encuentran en citoplasma, por que hayan conseguido escapar de endosomas.
- Activa la célula induciendo secreción de citocinas (hormonas de acción local)

Proteínas RIG.

- Detectan material genético de virus presente en citoplasma
- Son como las proteínas NOD pero reconocen material genético de virus

Cada receptor de inmunidad innata activa preferentemente una ciertas funciones efectoras.

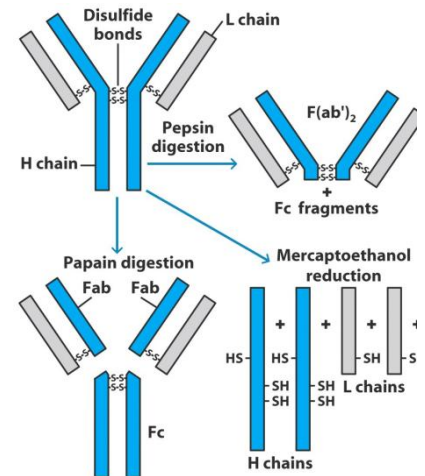
- ✓ Los receptores de quimiocinas estimulan quimiotaxis (migración),
- ✓ Los receptores tipo Toll (TLR) aumentan capacidad microbicida
- ✓ Los tipos lectina favorecen fagocitosis



2. RECEPTORES QUE RECONOCEN PRESENCIA DE MICROORGANISMOS POR ESTAR OPSONIZADOS (RECONOCIMIENTO PROPIO MODIFICADO)

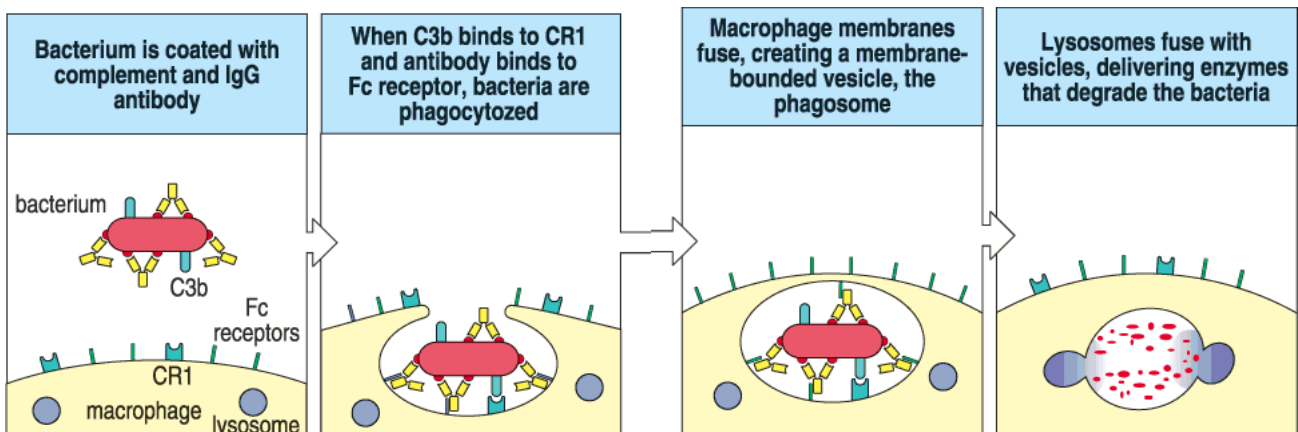
Receptores para anticuerpos que han unido antígeno (opsonizados)

- Reconocen región Fc de Anticuerpos que sufren un cambio conformacional tras contacto con el antígeno
- Esta región Fc está formada por dominos de cadena pesada únicamente
- La región Fc no contacta con el antígeno
- No todos los receptores Fc son capaces de activar el estallido respiratorio, es decir, la producción de mediadores de oxígeno, y por tanto no pueden aumentar la capacidad microbicida. CD64 sí lo hace
- Los receptores Fc isotipo específicos tienen una distribución celular y una función específicas ya que la concentración de cada isotipo de Ig (anticuerpo) no es la misma en todos los tejidos.



Reconocimiento de fragmentos del complemento:

- CR1, CR2, CR3 y CR4 reconocen fragmentos de C3 unidos a microorganismo de manera covalente, implicado la fagocitosis.
- C5aR y C3aR reconocen moléculas solubles C5a y C3a, produciendo:
 - o Un aumento del poder microbicida de las células fagocíticas
 - o La liberación de citocinas
 - o La liberación de factores preformados



- Las funciones de los receptores de complemento se resumen en la siguiente tabla

Receptor	Specificity	Functions
CR1 (CD35)	C3b, C4b iC3b	Promotes C3b and C4b decay Stimulates phagocytosis Erythrocyte transport of immune complexes
CR2 (CD21)	C3d, iC3b, C3dg Epstein-Barr virus	Part of B-cell co-receptor Epstein-Barr virus receptor
CR3 (CD11b/CD18)	iC3b	Stimulates phagocytosis

Receptor	Specificity	Functions
CR4 (gp150,95) (CD11c/CD18)	iC3b	Stimulates phagocytosis
C5a receptor	C5a	Binding of C5a activates G protein
C3a receptor	C3a	Binding of C3a activates G protein

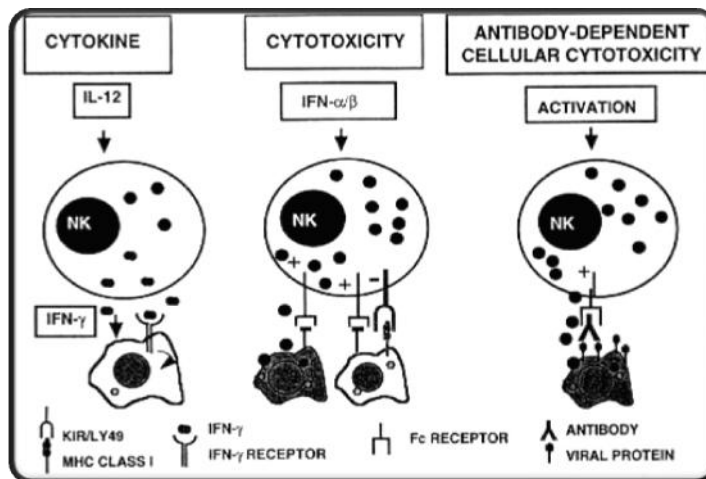
Otras moléculas de membrana que activan células del sistema inmune innato y que no son elementos microbianos:

- Receptor de citocinas. Por ejemplo IFN-gamma o IL-12.
- Factores quimiotácticos: C5a.
- Receptores de opsoninas: Receptores Fc y Receptores de complemento.

3. RECEPTORES DE ESTRUCTURAS PRESENTES EN LA MEMBRANA DE CÉLULAS INFECTADAS

Las células Natural Killer (NK) reconocen estructuras que no están presentes en el microorganismo sino en la membrana de la célula que está infectada por un microorganismo. Sus funciones son:

- Secretan Interferón-gamma (INF- γ) que es una citocina (hormonas de acción local). El INF- γ es secretado cuando se detecta la presencia de otra citocina denominada IL-12, la cual es secretada por macrófagos que han reconocido microorganismos.
- Mata células infectadas por virus y a veces por bacterias que crecen en citoplasma.
- Mata células recubiertas de anticuerpos (Citotoxicidad mediada por anticuerpos ADCC)



Los receptores presentes en células Natural Killer no utilizan los mismos PRR presentes en células fagocíticas, ya que no son células fagocíticas, por ello utilizan otros receptores de membrana. Sorprendentemente expresan

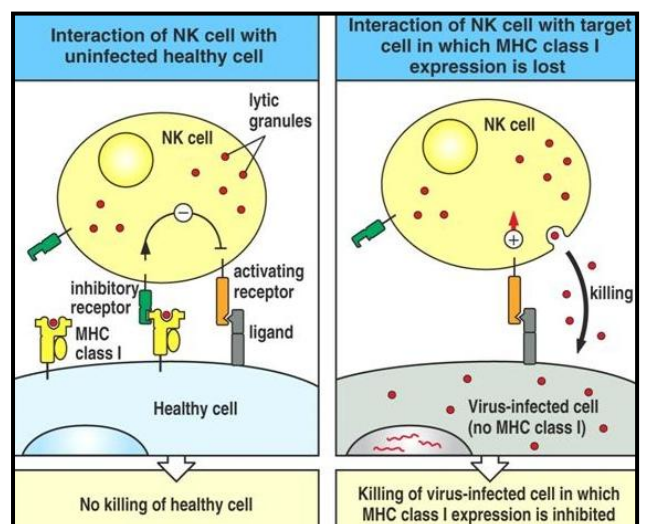
Las células NK no son células fagocíticas y por tanto no utilizan los mismos receptores (PRR) que estas. Las células NK utilizan dos tipos de receptores

- Receptores Activadores.

Reconocen ligandos en la célula diana. La consecuencia de esta interacción es favorecer la función de las células NK.

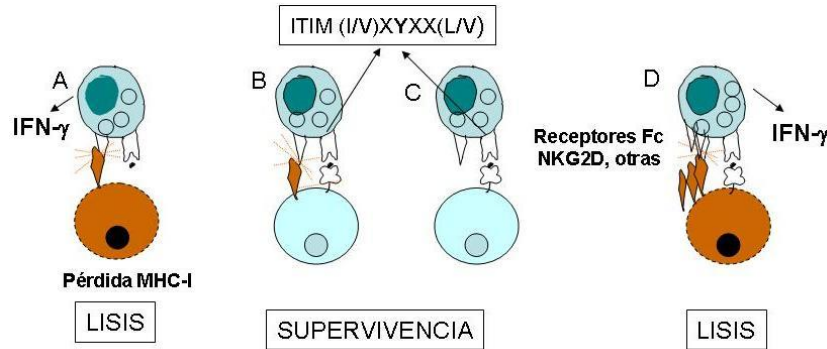
Se desconocen en gran medida los ligandos de receptores activadores, aunque se han descrito que pueden ser glicoproteínas virales presentes en la membrana de células infectadas con virus con membrana.

Algunas infecciones virales provocan la pérdida de molécula MHC-I. Ello impide su interacción con moléculas inhibitoras de lisis, favoreciendo la lisis de las células infectadas

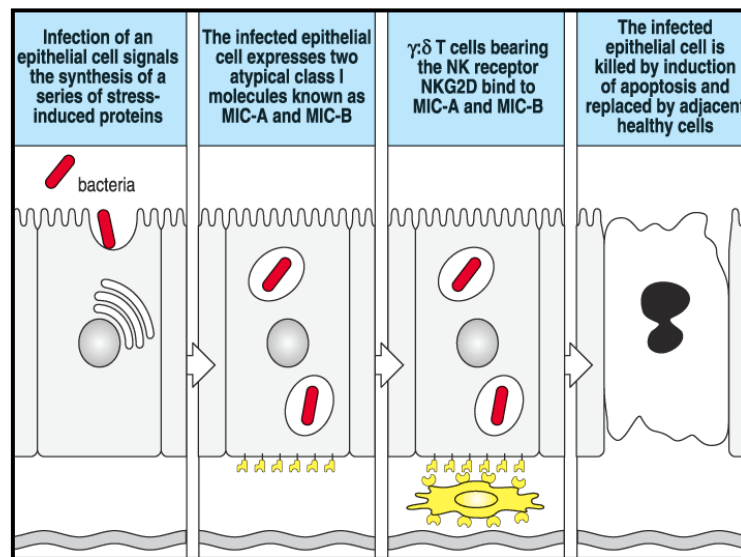


- **Receptores inhibidores.** Reconocen ligandos en la célula diana. La consecuencia de esta interacción es inhibir la función de las células NK impidiendo que realice su función. La mayor parte de los receptores inhibidores unen moléculas MHC-I. Esta unión es degenerada (unen múltiples alelos)

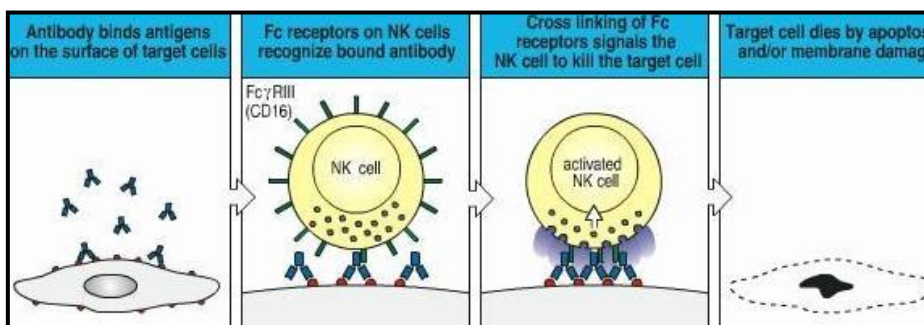
Para matar una célula, las células NK tienen que recibir señales activadoras y carecer de señales inhibitorias. Las señales activadoras pueden en ocasiones ser tan intensas que aún mata célula diana con la que forma conjugados aún en presencia de señales inhibitorias.



Ligandos reconocidos por receptores de células NK se pueden inducir tras la infección en células epiteliales que antes no lo expresaba. Se denominan moléculas de estrés, de activación o inducibles.



Los virus con membrana expresan en la membrana de las células infectadas proteínas virales que pueden ser reconocidos por linfocitos B/Ac solubles. Las células NK expresan receptores para el fragmento Fc de IgG y pueden así matar la célula infectada por los virus aún cuando la infección viral no haya inhibido la expresión de MHC-I.



RECEPTORES QUE RECONOCEN PATÓGENOS	FAGOCITOSIS	AUMENTO PODER MICROBICIDA	SECRECIÓN DE CITOCINAS	MOVILIZACIÓN A GANGLIO LINFÁTICO
RECEPTORES TIPO LECTINA	+++	+/-	+/-	+/-
TLR EN MEMBRANA	+/-	+++	+++	+++
TLR EN VESÍCULAS	-	+++	+++	+++
NOD	-	+++	+++	+++

RECEPTORES QUE RECONOCEN OPSONINAS	FAGOCITOSIS	AUMENTO PODER MICROBICIDA	SECRECIÓN DE CITOCINAS	MOVILIZACIÓN A GANGLIO LINFÁTICO
RECEPTORES PARA C3b	+ /+++	+/-	+/-	+/-
RECEPTORES Fc	+++	+++	+++	+++

RECEPTORES RECONOCEN ESTRUCTURAS NO MICROBIANAS	FAGOCITOSIS	AUMENTO PODER MICROBICIDA	SECRECIÓN DE CITOCINAS	MOVILIZACIÓN A GANGLIO LINFÁTICO
FACTORES QUIMIOTÁCTICOS	- pueden colaborar con receptores	+++	+++	+++
INTERLEUCINAS	-	+++ (IFN-gamma)	+++	+++

TEMA 5: RECEPTORES DE CÉLULAS DEL SISTEMA INMUNE ESPECÍFICO

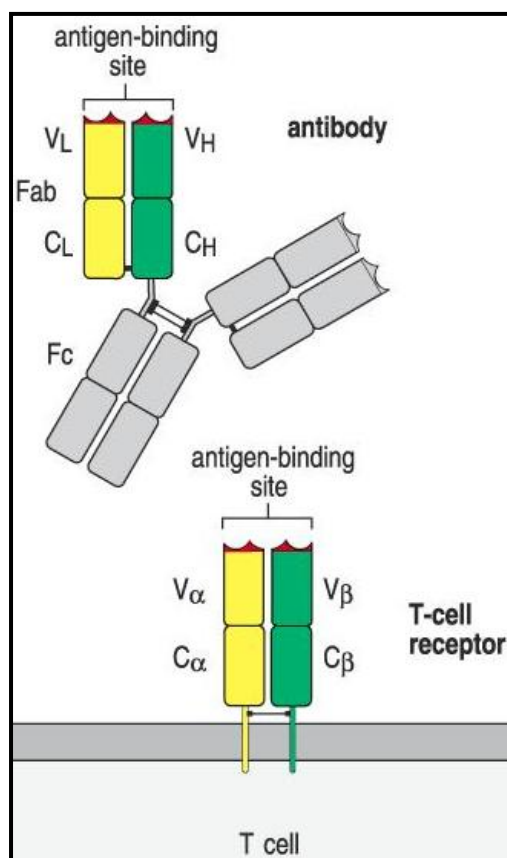
ÍNDICE

1. Características del receptor de antígeno de linfocitos T y B
2. Generación de diversidad en la secuencia variable
3. Especificidad antigénica
4. Reconocimiento de antígenos por linfocitos T y B

1. CARACTERÍSTICAS DE RECEPTORES DE ANTÍGENO DE LINFOCITOS T Y B

El receptor de antígeno de linfocito B

- El receptor de antígeno de linfocito B está formado cuatro cadenas polipeptídicas iguales dos a dos (con un eje de simetría). Dos cadenas pesadas que son más largas y pueden atravesar la membrana del linfocito. Las otras dos son las cadenas ligeras, tienen menor tamaño, quedan unidas a las cadenas pesadas por puentes disulfuro.
- A esta estructura compuesta por dos cadenas pesadas y dos ligeras se las denomina inmunoglobulina (Ig). Cuando las cadenas pesadas están ancladas a la membrana del linfocito B se le denomina inmunoglobulina de membrana, en caso contrario inmunoglobulinas solubles o anticuerpos
- Cuando el linfocito B contacta con su antígeno es capaz de secretar la inmunoglobulina de membrana, denominándose cuando es soluble Anticuerpo o inmunoglobulina soluble
- Este receptor está compuesto por uno o varios dominios constantes y solo un dominio variable. Estos dominios tienen un plegamiento tridimensional especial que se denomina “dominio tipo inmunoglobulina”
- El receptor de antígeno de linfocito B tiene diferente secuencia en diferentes linfocitos B y por ello es capaz de unir diferentes antígenos. Esta variabilidad (diferencias en secuencia) NO está distribuida uniformemente a lo largo de la cadena pesada y ligera, sino que se limita al dominio variable, de las cadenas polipeptídicas del receptor de antígeno

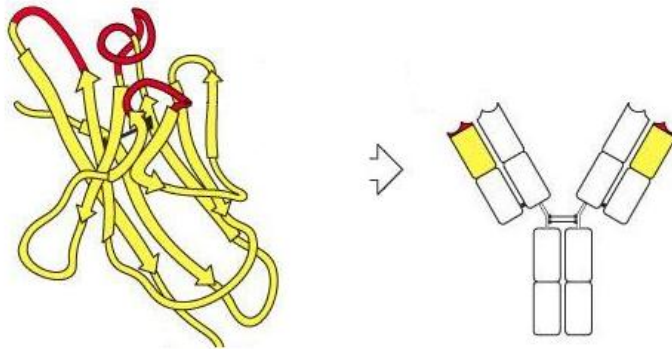


El receptor de antígeno de linfocito T

- El receptor de antígeno de linfocito T está formado dos cadenas polipeptídicas denominadas cadenas alfa y beta. Estas cadenas NO son iguales entre sí y ambas atraviesan la membrana citoplasmática.
- El receptor de antígeno de linfocito T no se secreta.
- Están formado por uno o varios dominios constantes (C) y un solo dominio variable (V) al igual que los receptores de linfocitos B
- Al igual que los receptores de linfocitos B, en los receptores de linfocitos T también hay variabilidad debido a los cambios en las regiones hipervariables del dominio variable.

Domino tipo inmunoglobulina.

Todos los dominios del receptor de antígeno de linfocito T o de linfocito B pliegan de una forma idéntica, dos láminas beta unidas por lazos sin una estructura secundaria fija. Esta estructura se representa en la imagen de la izquierda aunque generalmente su representación se simplifica como en la imagen de la derecha



Dominio variable y regiones hipervariables.

La variabilidad en la secuencia de los receptores en de los linfocitos B y T es lo que les permite interactuar con diferentes antígenos.

Dicha variabilidad tiene lugar en un exón en concreto, el que codifica el dominio variable.

Más concretamente esta variabilidad se trata de una serie de cambios en los aminoácidos localizados en regiones sin estructura secundaria definida, que forma bucles y a los que se denominan regiones Hipervariables (HV) o CDR Estas están dentro del dominio variable.

En cada dominio variable hay 3 o 4 regiones hipervariables. Ello también ocurre en las cadenas que forman el receptor de antígeno de linfocito T.

2. GENERACIÓN DE DIVERSIDAD EN LA SECUENCIA VARIABLE

Generación de diversidad del Receptor de antígeno de linfocitos B y T

El número de secuencias diferentes de los dominios variables de cadena pesada y ligera de linfocito B es de varios millones, mientras que el número de genes es de tan sólo unas decenas de miles. Por tanto la diversidad no se debe a que haya muchos genes de cadena pesada y ligera, sino a la creación de un neoexón a partir de segmentos génicos que codifica el dominio variable.

– Creación de un exón de dominio variable.

En el DNA de las células somáticas NO existe un exón que codifique el dominio variable de los receptores de antígeno. Por ello hay que crearlo mediante el reordenamiento del DNA de las regiones que codifican los genes del receptor de antígeno. Los segmentos genéticos separados por intrones se deben poner en contacto cabeza con cola.

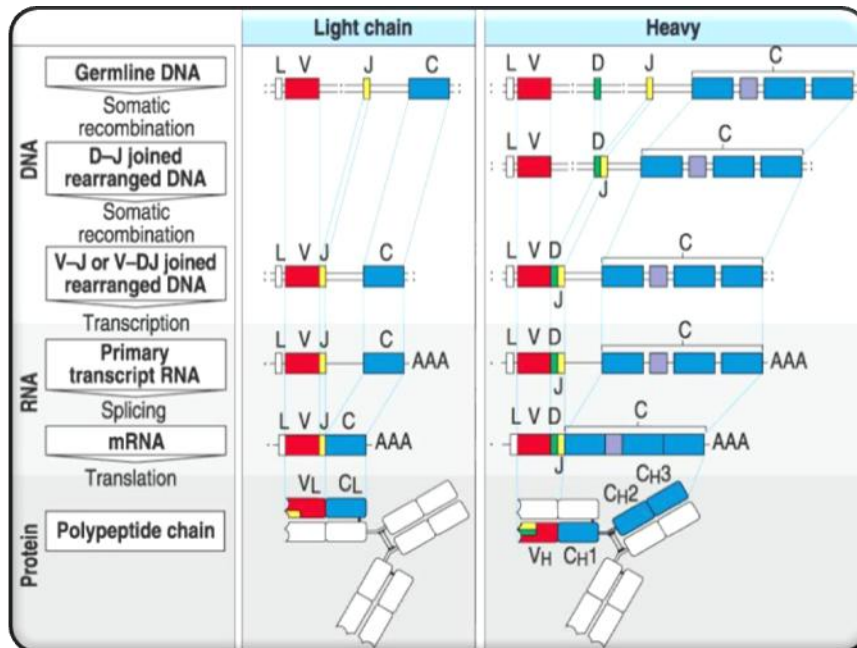
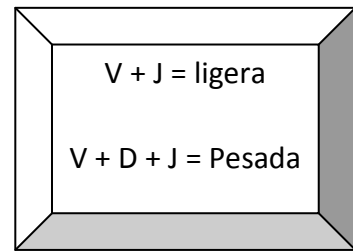
El dominio variable está constituido por un segmento V, un segmento D (si existe) y un segmento J. (hay excepciones que serán tratadas posteriormente).

- Los segmentos V: Son capaces de codificar unos 70 aminoácidos. Hay múltiples regiones V en el genoma de diferente secuencia localizados en grupos.
- Segmentos J: Codifican unos 6-10 aminoácidos. Hay varios segmentos J agrupados.
- Segmentos D: Sólo presentes en cadena pesada de inmunoglobulinas y en cadena beta del receptor de antígeno de linfocitos T.

Hay que recordar que en células eucariotas el ADN de un gen está constituido por exones e intrones. La ARN polimerasa copia un ARN-primario con exones e intrones que luego es procesado a RNAm con eliminación de intrones.

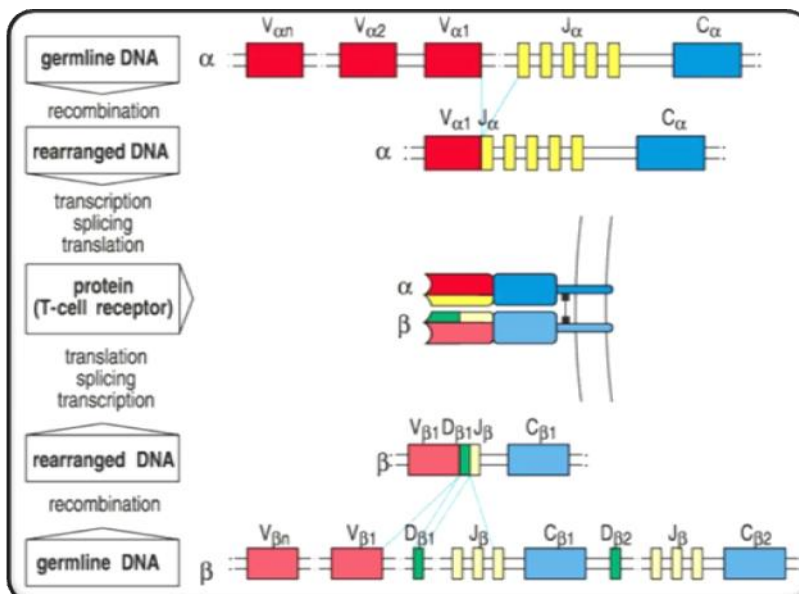
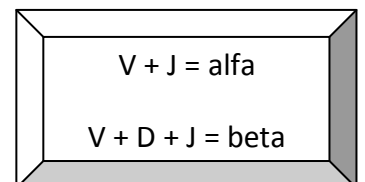
Reordenamiento del receptor de antígeno de linfocitos B

El fin es crear un exón que codifique el dominio aminoterminal uniendo un segmento V con un segmento J (cadena ligera) o un segmento V con un D y un J en el caso de la cadena pesada del receptor de antígeno. Una vez reordenado se sintetiza la cadena pesada y ligera donde participan otros exones que no necesitan reordenamiento ya que son exones convencionales y que se denominan constantes. Finalmente se unen dos cadenas pesadas a dos ligeras, formando la inmunoglobulina de membrana de linfocitos B.



Reordenamiento del receptor de antígeno de linfocito T

Se tiene que crear los exones que codifiquen los dominios aminoterminales uniendo un segmento V con un segmento J (cadena alfa) o un segmento V con un D y un J en el caso de la cadena beta del receptor de antígeno. Así se generan linfocitos con distinta secuencia en su receptor de antígeno, con distinta afinidad antigénica capaz de reconocer diferentes ligandos



Como la creación del exón del dominio variable se hace uniendo al azar un único segmento V con un único segmento J (y a veces con un único segmento D) de entre los varios segmentos V, D y J disponibles, se genera una gran diversidad de secuencias de los dominios variables de los receptores de antígeno de linfocitos T y B y por ello una gran capacidad de unir diferentes microorganismos. Además hay otros mecanismos que generan diversidad

La región cromosómica que codifica la cadena pesada de inmunoglobulina es muy compleja, y hay información para diferentes dominios constantes de cadena pesada que forman los denominados isotipos de inmunoglobulinas

3. ESPECIFICIDAD ANTIGÉNICA

La interacción con el antígeno es no covalente en ambos casos (Linfocitos B y T).

- En la unión al antígeno intervienen ambos dominios variables el de cadena ligera (VL) y el de cadena pesada (VH)
- Ello aumenta la diversidad total ya que inmunoglobulinas con mismo dominio variable de cadena pesada pero distinto dominio variable de cadena ligera tienen diferente especificidad antigénica y a la inversa

Especificidad Antigénica.

Experimentalmente se ha comprobado que sólo 1 de cada 50.000 linfocitos B o T es capaz de contactar con un determinado microorganismo con afinidad suficiente para cumplir funciones efectoras. Cuando interacciona con afinidad superior a este umbral se considera que el linfocito es específico para ese antígeno. Es muy poco probable que un determinado linfocito T o B contacte con su antígeno específico. Los anticuerpos son capaces de distinguir cambios muy sutiles, que alteran de forma dramática la constante de afinidad. Por ello a esta inmunidad se le denomina específica.

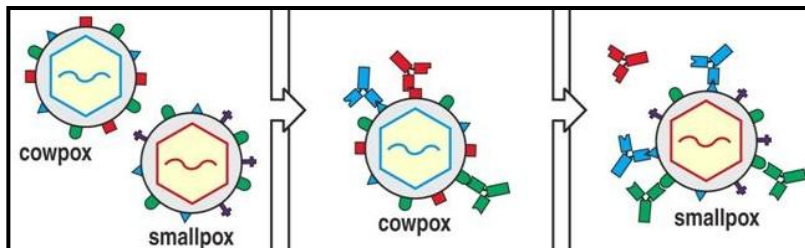
La constante de afinidad debe ser como mínimo de 10^{-4} Molar para que se considere que un linfocito T es específico frente a un antígeno y superior a 10^{-5} M para que un linfocito B/Ac sea específico para un determinado antígeno. El amplio rango de afinidades de los anticuerpos frente a sus antígenos específicos tiene que ver con mutaciones somáticas. Si su afinidad es inferior a este umbral, el receptor de antígeno se considera no específico frente a ese antígeno y no tiene relevancia fisiológica.

En el equilibrio $Ag + Ac \leftrightarrow AgAc$, constantes de afinidad inferiores a 10^{-5} M hacen que in vivo la mayor parte del Ag y el Ac estén libres, no formando complejos AgAc (denominados inmunocomplejos cuando el Ac es soluble) que son los que tienen relevancia fisiológica.

A veces anticuerpos pueden unirse a dos virus diferentes pero relacionados, generando autoinmunidad. Este fenómeno se denomina reacción cruzada. Sólo rara vez hay reactividad cruzada entre moléculas no relacionadas.

La reacción cruzada también se puede dar en linfocitos T

Este fenómeno permitió generar una vacuna frente a la viruela capaz de erradicar de la faz de la tierra esta terrible enfermedad



En este caso algunos anticuerpos que se unen al virus de viruela que infecta vacas (cowpox) también se unen al virus de la viruela humana (smallpox).

4. RECONOCIMIENTO DE ANTÍGENOS POR LINFOCITOS T Y B

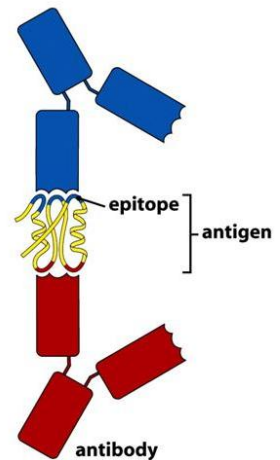
La interacción entre el receptor de antígeno de linfocito T o B con el antígeno no es covalente

Reconocimiento antígeno por parte de linfocitos B

Linfocitos B/Ac reconocen estructuras íntegras, no procesadas y localizadas en superficie de microorganismo (como PRR de sistema inmune innato)

Por ello el Receptor de Antígeno de Linfocito B (Inmunoglobulina de membrana) tiene las siguientes características:

- La inmunoglobulina de membrana/Ac se puede unir a cualquier estructura molecular (azúcares, lípidos, A. nucleicos o proteínas).
- Los enlaces no covalentes entre las regiones variables y el antígeno se hacen en zonas (epítomos) que dependen del plegamiento del antígeno (determinantes conformacionales).
- La estructura de las inmunoglobulinas permite el contacto con dos moléculas de un mismo antígeno a la vez

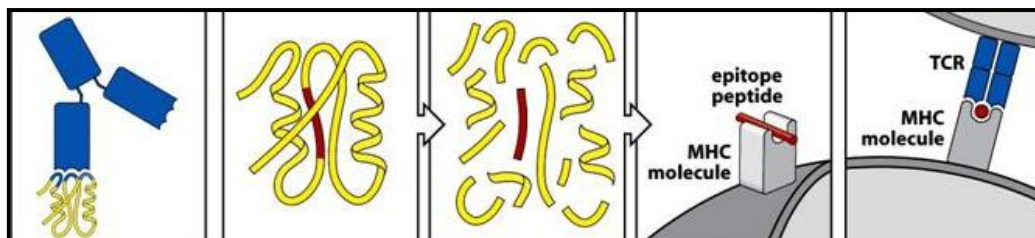


Reconocimiento de antígeno por parte de linfocitos T

Linfocitos T reconocen estructuras microbianas (péptidos) procesadas y transportadas a la membrana de células presentadoras de antígeno (células infectadas o que han fagocitado microorganismo).

Por ello el Receptor de Antígeno de Linfocito T:

- Sólo reconoce proteínas
- Necesita el procesamiento de estas proteínas para generación de péptidos que se enclavan en moléculas transportadoras de péptidos denominadas MHC
- Las proteínas de las que provienen los péptidos se pueden localizar en la superficie o interior de microorganismos.
- Los péptidos procesados de proteínas microbianas se enclavan (de manera no covalente) en proteínas de membrana MHC (proteínas transportadoras de péptidos).
- Por ello el receptor de antígeno de linfocito T reconoce Complejos pMHC, en donde p es un péptido y MHC es una proteína transportadora de péptidos a membrana.



Los aminoácidos presentes en el antígeno con los que los linfocitos presentes en los anticuerpos establecen enlaces no covalentes se denominan epítomos o determinantes antigénicos.

Estos epítomos se encuentran en la superficie de la estructura reconocida, sea esta un microorganismo o una proteína.

- El epítomo (determinante antigénico) se define como el conjunto de aminoácidos con los que el receptor de antígeno establece enlaces no covalentes. Estos aminoácidos deben estar próximos en el espacio aunque estén alejados en la secuencia. Por ello se denominan epítomos conformacionales. Dependen de la conformación.
- A veces el epítomo puede ser lineal (los aminoácidos que lo forma están contiguos en el espacio)
- El tamaño de un epítomo es de unos 10 aminoácidos

El pequeño tamaño de los epítpos reconocidos por linfocitos B (10 aminoácidos) hace que una proteína con Hemaglutinina del virus de la gripe pueda tener varios epítpos no solapantes. Normalmente durante la respuesta inmune existe una respuesta frente a todos ellos, por ello se denomina policlonal.

Al definir la especificidad de un determinado anticuerpo se debe especificar tres posibles escalonas: microorganismo al que se une, estructura a la que se une dentro del microorganismo, epítipo reconocido.

TEMA 6 LIGANDOS DE RECEPTOR DE ANTÍGENO DE LINFOCITO T

ÍNDICE

1. Estructura complejo pMHC
2. Formación del complejo pMHC
3. Reconocimiento de pMHC
4. Interacción péptido-MHC
5. Polimorfismo de moléculas MHC
6. Correceptores de linfocitos T: moléculas CD4 y CD8

1. ESTRUCTURA DEL COMPLEJO pMHC

Los linfocitos T reconocen antígenos presentes en el interior de las células al reconocer en la membrana de la célula péptidos de estas proteínas enclavadas en moléculas MHC. Estos péptidos provienen de:

- Antígenos fagocitados y presentes en vesículas
- Antígenos sintetizados en células infectadas por virus

Moléculas MHC tipo I

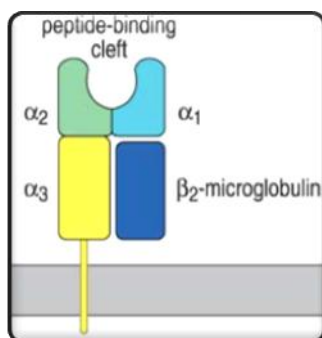
Las moléculas MHC-I enclavan péptidos para presentarlo a los linfocitos T.

Las moléculas MHC-I están compuestas por dos cadenas:

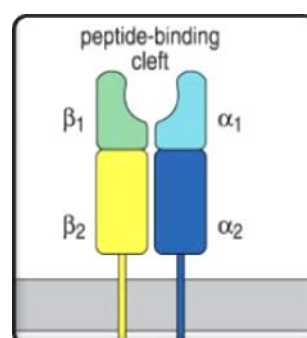
- Cadena alfa: Es una proteína integral de membrana en la que se une el péptido.
- Cadena beta-2-microglobulina: Esta no contacta con el péptido

Moléculas MHC Tipo II

Las moléculas MHC-II enclavan péptido y están compuesta por dos cadenas: alfa y beta. Ambas cadenas atraviesan la membrana y contactan con los péptidos enclavados



MHC-I

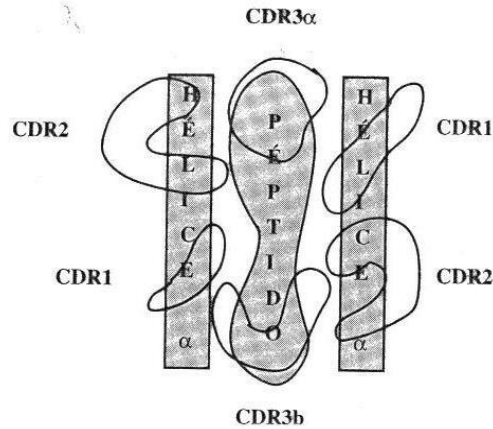


MHC-II

El receptor de linfocito T establece interacciones no covalentes (reconoce) tanto el péptido como la molécula MHC-I.

El péptido se encuentra entre las dos hélices alfa codificadas en los dominios 1 y 2 de la cadena integral de membrana alfa-MHC.

Los dominios variables de la cadena alfa (Va) y beta (Vb) del receptor de antígeno de linfocito T son las que establecen estos enlaces, de nuevo a través de regiones hipervariables
 Las regiones hipervariables CDR3a y CDR3b son las que más enlaces establecen con el péptido.
 Las regiones CDR1 y CDR2 contactan fundamentalmente con moléculas MHC-I y sólo levemente con el péptido



2. FORMACIÓN DEL COMPLEJO pMHC

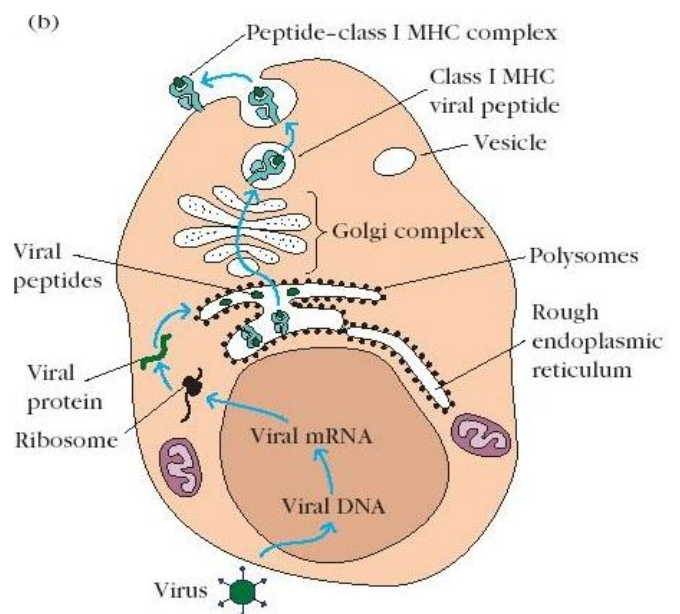
Recordemos que el citoplasma de las células está dividido en compartimentos muy complejos y que las proteínas no solo están en el citoplasma, sino que las podemos encontrar en el retículo endoplásmico gracias a la existencia de señales que dirigen el ARN codificante de proteínas hacia el retículo endoplásmico

Las proteínas de membrana y las secretadas se sintetizan en retículo endoplásmico y se transportan a la membrana citoplasmática

También debemos recordar la capacidad de las células para endocitar proteínas o microorganismos en vesículas que pueden transportarse a lisosomas para ser procesados y posteriormente presentados en la membrana. Obviamente las proteínas u organismos endocitados en vesícula no pasan al citoplasma, sino que son procesados en la misma vesícula.

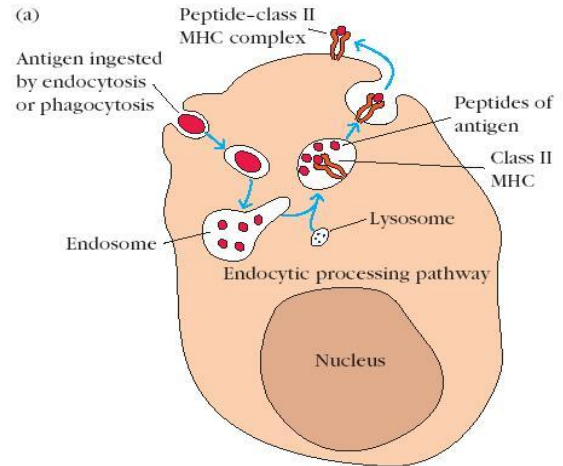
Formación del pMHC-I

- 1° Si las proteínas están en el citoplasma, se procesan allí y se enclavan y presentan en moléculas MHC-I
- 2° Las proteínas pueden provenir de la superficie o del interior de microorganismos o en el caso de los virus, estos infectan a las células, sintetizando de novo proteínas virales. Algunas de estas proteínas se quedan en citoplasma.
- 3° Se generan péptidos en citoplasma por la degradación de estas proteínas por un complejo enzimático denominado proteosoma. Los péptidos citosólicos son transportados a través de la membrana del retículo endoplásmico, pasando a su luz
- 4° Los péptidos se unen a moléculas MHC-I en retículo endoplásmico y forman complejos pMHC-I capaces de transportarse a membrana



Formación de pMHC-II

- 1º Cuando la proteína microbiana está en una vesícula se procesa dentro de la misma y se enclava en moléculas MHC-II. Este es el caso de microorganismos o estructuras sin capacidad de reproducirse que son endocitados por parte de células dendríticas o macrófagos.
 - 2º Se generan péptidos en vesículas por la degradación de las proteínas del microorganismo. La membrana de las vesículas no permite que ni el microorganismo ni los péptidos salgan de la vesícula al citoplasma
 - 3º Los péptidos se enclavan en moléculas MHC-II transportadoras de péptidos que les transportan a membrana péptidos generados en vesículas en forma de complejos pMHC-II.
- Esto no ocurre en neutrófilos al no expresar moléculas MHC-II



Repaso de la formación de MHC-I y MHC-II

- Las proteínas MHC-I y MHC-II están en retículo endoplásmico. Sólo las moléculas MHC-II en su transporte a membrana pasan por endosomas.
- Los péptidos generados en vesículas (a partir de proteínas endocitadas) se pueden enclavar en moléculas MHC-II ya que estas proteínas pasan en su transporte a membrana por ese compartimento celular
- Las proteínas citosólicas son degradadas por proteosomas y los péptidos generados son transportados del citoplasma al retículo endoplásmico por proteínas TAP
- Los péptidos presentes en retículo endoplásmico se pueden enclavar en moléculas MHC-I, pero no en MHC-II ya que la "hendidura" en la que se enclava está tapada por la cadena invariante. Esta cadena se degrada en endosomas, lo que permite interacción con péptidos de endosomas.

3. RECONOCIMIENTO DE pMHC

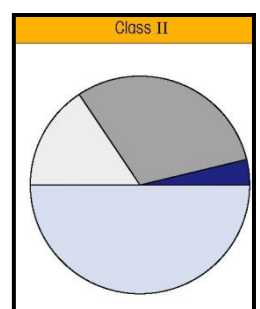
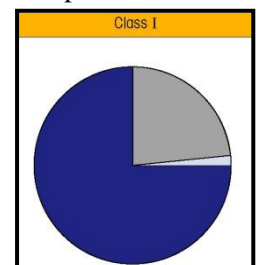
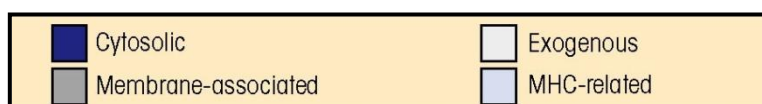
Vías de presentación

Se suelen definir dos vías de presentación:

- La vía citosólica: Presentación en moléculas MHC-I de proteínas presentes en citoplasma
- La vía endocítica: Presentación en moléculas MHC-II de antígenos exógenos captados por fagocitosis o endocitosis.

Los péptidos que se han podido extraer de los alelos MHC-I y MHC-II in vivo confirman esta presentación:

- Las moléculas MHC-I enclavan sobre todo péptidos de proteínas
 - o Proteínas citosólicas (75%)
 - o De algunas proteínas de membrana (probablemente provenientes de síntesis defectuosa en retículo endoplásmico)
 - o Proteínas exógenas casi ninguna
- Las moléculas MHC-II enclavan péptidos provenientes de proteínas
 - o Proteínas provenientes de otras moléculas MHC
 - o Proteínas exógenas (fagocitadas o endocitadas)
 - o Proteínas de membrana (probablemente degradadas en vesículas)
 - o Casi no hay citosólicas



Presentación cruzada

Fenómeno de presentación cruzada. En infecciones virales (y algunas bacterias intracelulares) antígenos provenientes de células destruidas por el microorganismo son fagocitados, y de manera excepcional las células dendríticas en este caso son capaces de expulsar proteínas de vesículas a citoplasma, permitiendo presentación de antígenos virales fagocitados en MHC-I.

Inmunodominancia

Existe un fenómeno que se denomina inmunodominancia por el cual la respuesta inmune se centra en el reconocimiento de ciertos complejos pMHC ignorando otros que se forman (tal vez por hacerlo en menor cantidad) y están presentes en membrana.

Células presentadoras de antígenos


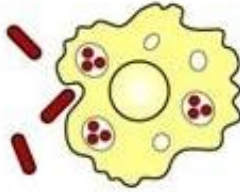

El concepto de célula presentadora de antígeno surge de que los linfocitos T no establecen enlaces covalentes con el microorganismo o con una toxina, sino que estos deben ser procesados (digestión de proteínas a péptidos) y presentados en moléculas MHC.

Para ello requieren la existencia de una célula presentadora de antígeno.

Las moléculas MHC-I se expresan en prácticamente todas las células del organismo.

Las moléculas MHC-II sólo en ciertas estirpes celulares a las que se les suele denominar células presentadoras de antígeno (CPA o APC en inglés).

Aquí se muestran las características de tres de las cuatro estirpes celulares que expresan moléculas MHC-II.

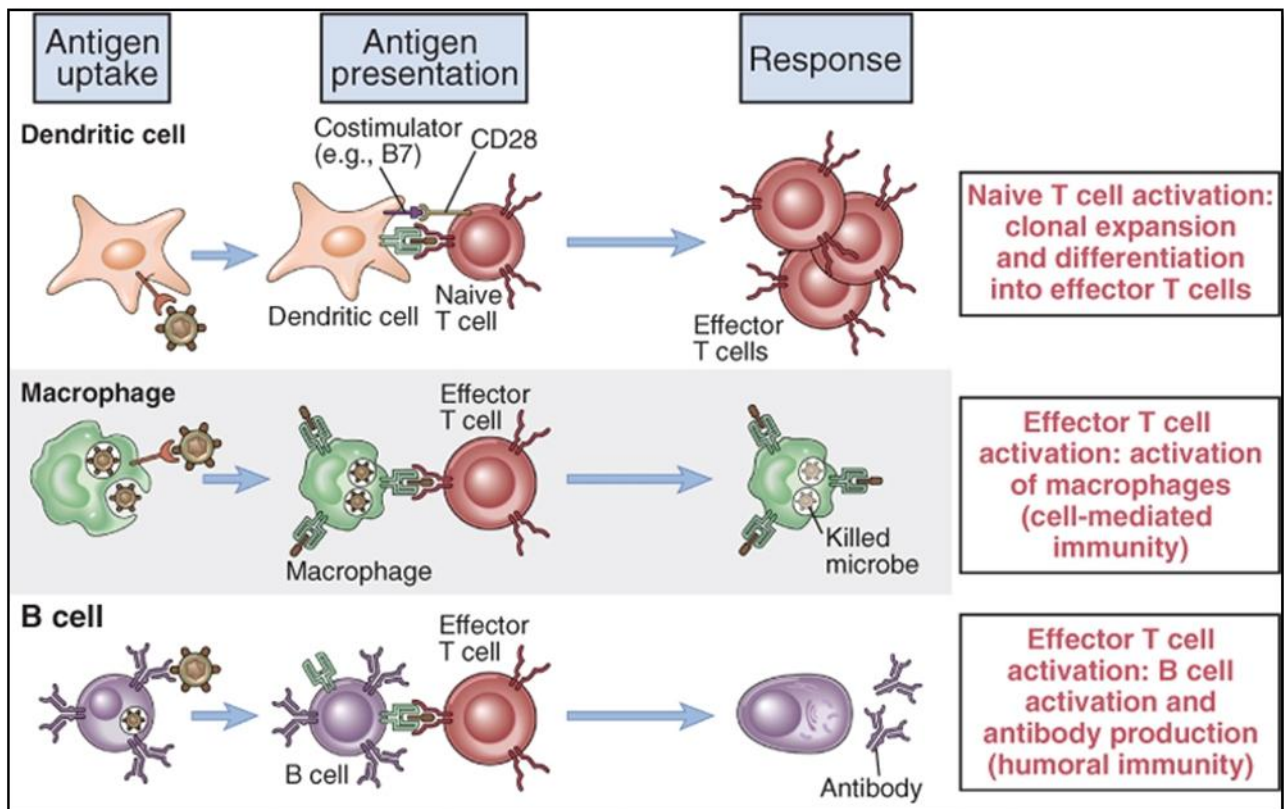
	Dendritic cells	Macrophages	B cells
			
Antigen uptake	+++ Macropinocytosis and phagocytosis by tissue dendritic cells Viral infection	Phagocytosis +++	Antigen-specific receptor (Ig) ++++
MHC expression	Low on tissue dendritic cells High on dendritic cells in lymphoid tissues	Inducible by bacteria and cytokines - to +++	Constitutive Increases on activation +++ to ++++
Co-stimulator delivery	Constitutive by mature, nonphagocytic lymphoid dendritic cells ++++	Inducible - to +++	Inducible - to +++
Antigen presented	Peptides Viral antigens Allergens	Particulate antigens Intracellular and extracellular pathogens	Soluble antigens Toxins Viruses
Location	Ubiquitous throughout the body	Lymphoid tissue Connective tissue Body cavities	Lymphoid tissue Peripheral blood

La expresión de moléculas MHC-II en macrófagos es inducible, de ahí que en la figura anterior se expresara como +/-.

Consecuencias del reconocimiento de moléculas pMHC

El reconocimiento del complejo pMHC por los linfocitos T tienen diferente efecto, dependiendo del tipo de célula presentadora de antígeno (APC o CPA) que se lo haya presentado:

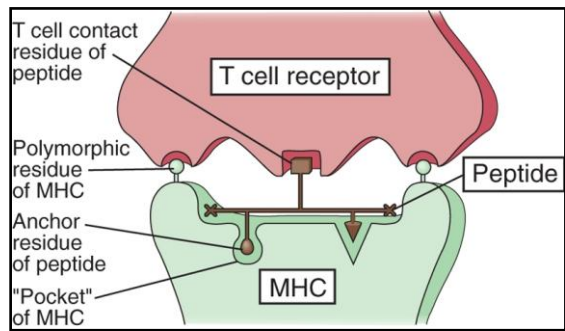
- Células dendríticas:
Cuando un linfocito T específico reconozca un pMHC sobre una célula dendrítica, este proliferará linfocito manteniendo su especificidad antigénica.
- Macrófagos:
Cuando los linfocitos T reconozcan el pMHC sobre un macrófago, segregaran $\text{INF-}\gamma$ que aumentará la capacidad microbicida de este macrófago
- Linfocitos B
Los linfocitos T que reconocen un complejo pMHC sobre un linfocito B activado induce su diferenciación a célula plasmática o a célula B memoria.
- Células infectadas
Linfocitos T efectores que reconocen complejos MHC sobre células infectadas, las matan



4. INTERACCIÓN PÉPTIDO-MHC

Algunos aminoácidos del péptido interactúan con los receptores de linfocitos T (TCR) y otros con MHC.

La interacción entre el péptido y la molécula MHC-I o MHC-II se basa en la existencia de enlaces no covalentes entre unos residuos de anclaje (2 o 3 aminoácidos) y la molécula MHC. Estos residuos suelen contactar con la base de la hendidura en la que se enclava el péptido en la molécula MHC.



En esta figura se representa la interacción entre el péptido y la molécula MHC, y entre el complejo pMHC y el receptor de antígeno de linfocito T.

Cada alelo MHC es capaz de unir solo aquellos péptidos que tengan unos aminoácidos de anclaje concretos y adecuados para establecer enlaces. Ello hace que los péptidos que se unen a un alelo son diferentes de los que se unen a otros alelos.

Epitopo

El epítipo reconocido por un linfocito T se puede expresar como el péptido que se enclava en el alelo MHC y el alelo en el que se enclava.

Restricción MHC.

Los receptores de linfocitos T necesitan reconocer tanto aminoácidos presentes en el péptido como en la molécula MHC (complejo pMHC)

Por tanto linfocitos T específicos frente a un microorganismo en un paciente no serán efectivos frente al mismo microorganismo en otro paciente distinto

Celulas NK

Las células NK reconocen moléculas MHC-I de manera degenerada, es decir, reconocen muchos alelos de un mismo locus sin que el péptido sea relevante para la interacción. En esta Tabla se muestra una tabla muy completa de ligandos de moléculas KIR/KAR (en humanos)

NK-cell receptors					
Inhibitory			Activating		
Receptor	Structural type	Ligand	Receptor	Structural type	Ligand
KIR2DL	Ig	HLA-C	KIR2DS	Ig	HLA-C
KIR3DL	Ig	HLA-B,C	KIR3DS	Ig	HLA-B?
LILRB1,2	Ig	HLA class I	LILRA3	Ig	?
CD94:NKG2A	Lectin	HLA-E	CD94:NKG2C/E	Lectin	HLA-E
LAIR-1	Ig	?	LAIR-2	Ig	?
			NKG2D	Lectin	MIC-A,B and others
			NKp30	Ig	?
			NKp44	Ig	?
			NKp46	Ig	?
			CD16	Ig	Fc

Péptido-pMHC Vs Receptores de inmunidad innata o específica-ligandos.

	Inmunidad Innata PRR-PAMPs	Inmunidad adaptativa Antígeno-ligando	Péptido-pMHC
Probabilidad de interacción entre un determinado ligando y su receptor	Cercana a 1:1	1:50.000	1:200
La secuencia de los receptores dentro de un mismo individuo	IGUALES (Cada PRR tiene idéntica secuencia en todas las células que lo expresen)	DIFERENTES (cada linfocito tiene un receptor distinto)	IGUALES (todas las células del organismo expresan los mismos alelos MHC)
Secuencias de receptores diferentes en un mismo individuo	DECENAS No todos se expresan como proteínas.	BILLONES	6 en MHC-I (en humanos)
Tipo de interacción	No covalente	No covalente	No covalente
Reordenamiento de los genes del receptor	NO	SÍ	NO

5. POLIMORFISMO DE MOLÉCULAS MHC.

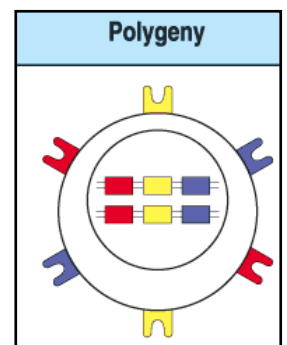
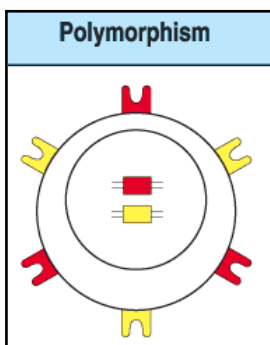
Los genes que codifican las moléculas MHC NO sufren reordenamientos. Sin embargo tienen dos cualidades que les hace únicos en el ADN de la mayor parte de los animales:

Su polimorfismo.

En la población hay un enorme número de alelos en cada locus que codifica para moléculas MHC-I y MHC-II. Cada alelo tiene idéntica estructura secundaria, terciaria y cuaternaria pero diferente secuencia. Ello permite que se expresen dos alelos diferentes en un individuo

Su poligenicidad.

Las moléculas MHC de clase I y II están codificados en varios loci. Ello trae como consecuencia que un individuo o animal exprese varios alelos MHC (múltiplos de dos) en cada célula. En el ejemplo, la célula representada expresará 6 moléculas MHC diferentes. Aunque no está representado de cada una de ellas expresará entre 100 y 10.000 moléculas por célula.

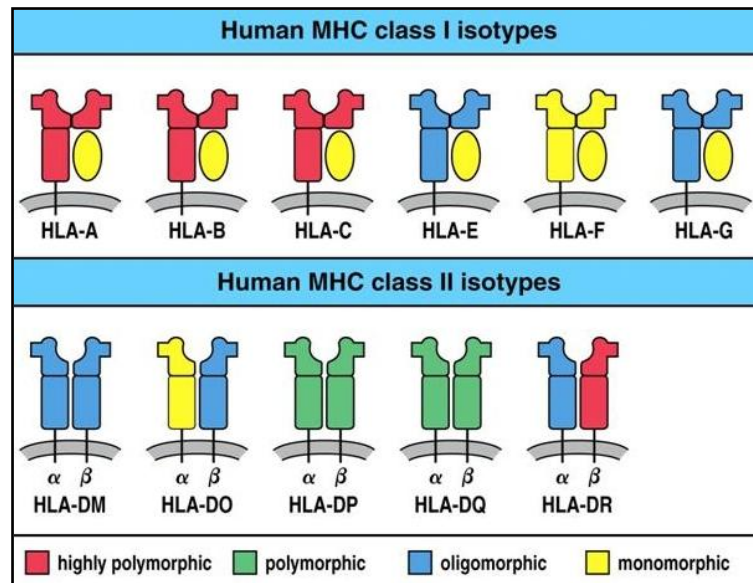


Además la herencia es autosómica codominante., expresándose en membrana todos los alelos.

Una posible explicación del enorme polimorfismo de la molécula MHC, es que no todos los péptidos generados se pueden unir a un determinado alelo. Por ello durante la evolución se han generado diferentes alelos (polimorfismo)

En humanos las moléculas MHC-I se denominan HLA-A, HLA-B y HLA-C, codificados en tres genes. Las moléculas MHC-II se denominan HLA-DR, HLA-DQ y HLA-DP.

A continuación se representa las características de los complejos MHC-I y MHC-II humanos existentes



Las moléculas MHC de los locus HLA-A, HLA-B, HLA-DR y HLA-DQ son las más abundantes en la membrana de las células y son las que se suelen tipar (caracterizar alelos en la población).

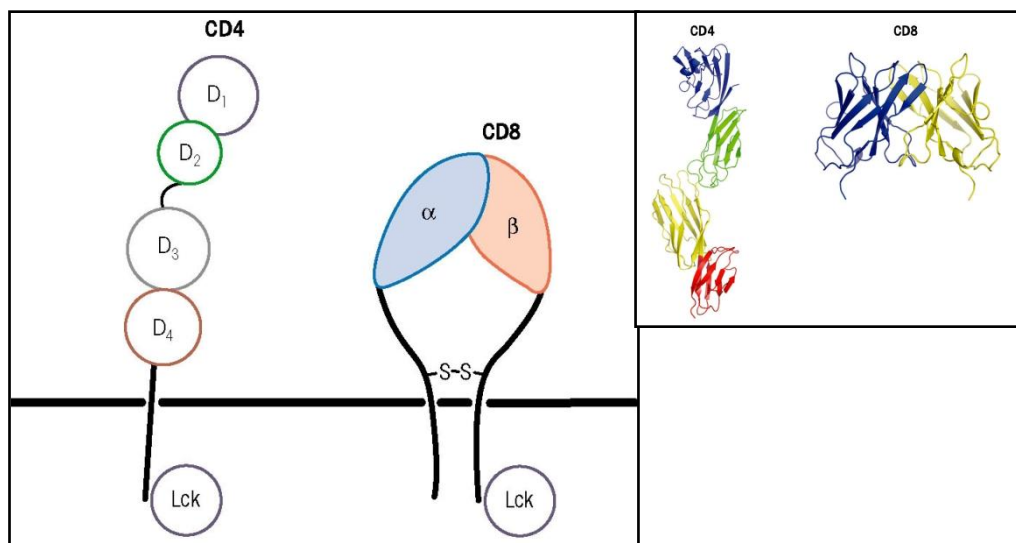
Se denomina haplotipos a los alelos MHC localizados en el mismo cromosoma y que se heredan juntos excepto cuando hay recombinación homóloga (muy raro en estos genes).

6. CORRECEPTORES DE LINFOCITOS T: MOLÉCULAS CD4 Y CD8

Experimentalmente se ha demostrado que el receptor de antígeno tiene una afinidad muy baja por el complejo pMHC, por ello se necesita un co-receptor,

El co-receptor es una molécula de membrana que se une al complejo MHC-I o MHC-II favoreciendo la creación de un complejo trimolecular que aumente la afinidad de la interacción

- Co-receptor CD4. Se une a todos los alelos MHC-II
- Co-receptor CD8. Se une a todos los alelos MHC-I



La molécula CD4 o CD8 se une a moléculas MHC en regiones muy distantes de la región reconocida por el receptor de antígeno de linfocitos T

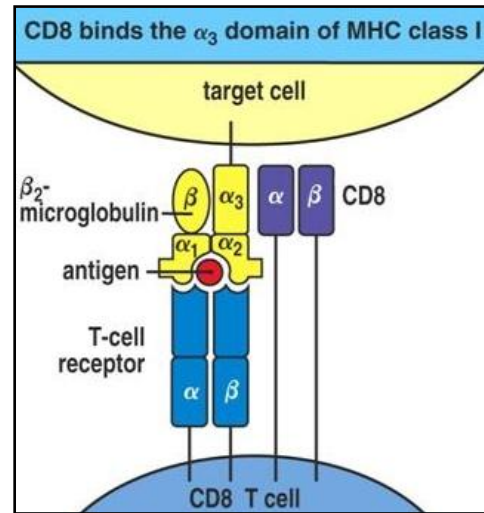
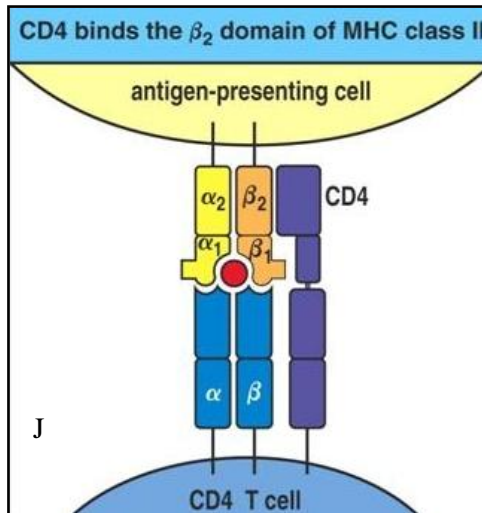
Existen dos subpoblaciones de linfocitos T:

La subpoblación CD4+

- Expresa en su membrana la molécula CD4.
- Se une a moléculas pMHC-II

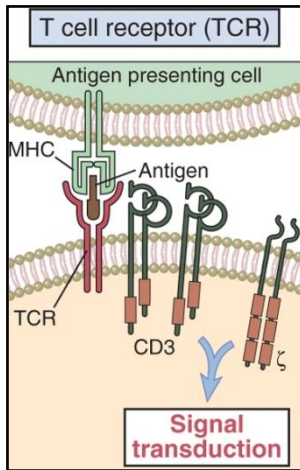
La subpoblación CD8+

- Expresa en su membrana la molécula CD8
- Se une a moléculas pMHC-I



Las células efectoras T CD8-CD4+ y CD4-CD8+ tienen diferentes funciones, tal y como se muestra en esta imagen

	Cytosolic pathogens	Intravesicular pathogens	Extracellular pathogens and toxins
	 any cell	 macrophage	 B cell
Degraded in	Cytosol	Endocytic vesicles (low pH)	Endocytic vesicles (low pH)
Peptides bind to	MHC class I	MHC class II	MHC class II
Presented to	CD8 T cells	CD4 T cells	CD4 T cells
Effect on presenting cell	Cell death	Activation to kill intravesicular bacteria and parasites	Activation of B cells to secrete Ig to eliminate extracellular bacteria/toxins



El receptor de antígeno de linfocito T siempre va unido al complejo molecular CD3, por tanto todos los linfocitos T expresan en membrana las moléculas CD3- δ , CD3- ϵ , CD3- γ y CD3- ζ , es decir Todos son CD3+, ya que de otra manera no podrían transmitir señales al interior de la célula para ganar función efectora tras contactar con el antígeno.

Las moléculas CD3 no interactúan con el antígeno pero son necesarias para transmitir señales .

La necesidad de la formación de este complejo trimolecular tiene dos consecuencias:

1. Aumento de la avidéz de interacción entre el TCR y el complejo pMHC al formarse un complejo molecular que multiplica su avidéz
2. Facilitar la transmisión de señales al interior de la célula Como se aprecia CD4 interactúa con una tirosín quinasa denominada lck, que fosforila otra tirosín quinasa denominada ZAP-70, esencial para la activación de linfocitos T.

Diferenciación de linfocitos

Los linfocitos T CD3+CD4+CD8- y CD3+CD4-CD8+ provienen de la diferenciación de timocitos CD3+CD4+CD8+.

La mayoría de ellos mueren por apoptosis (muerte celular programada) pero un 5% sobreviven convirtiéndose en timocitos CD3+CD4+CD8- o CD3+CD4-CD8+ que salen de timo y se les denomina linfocitos T.

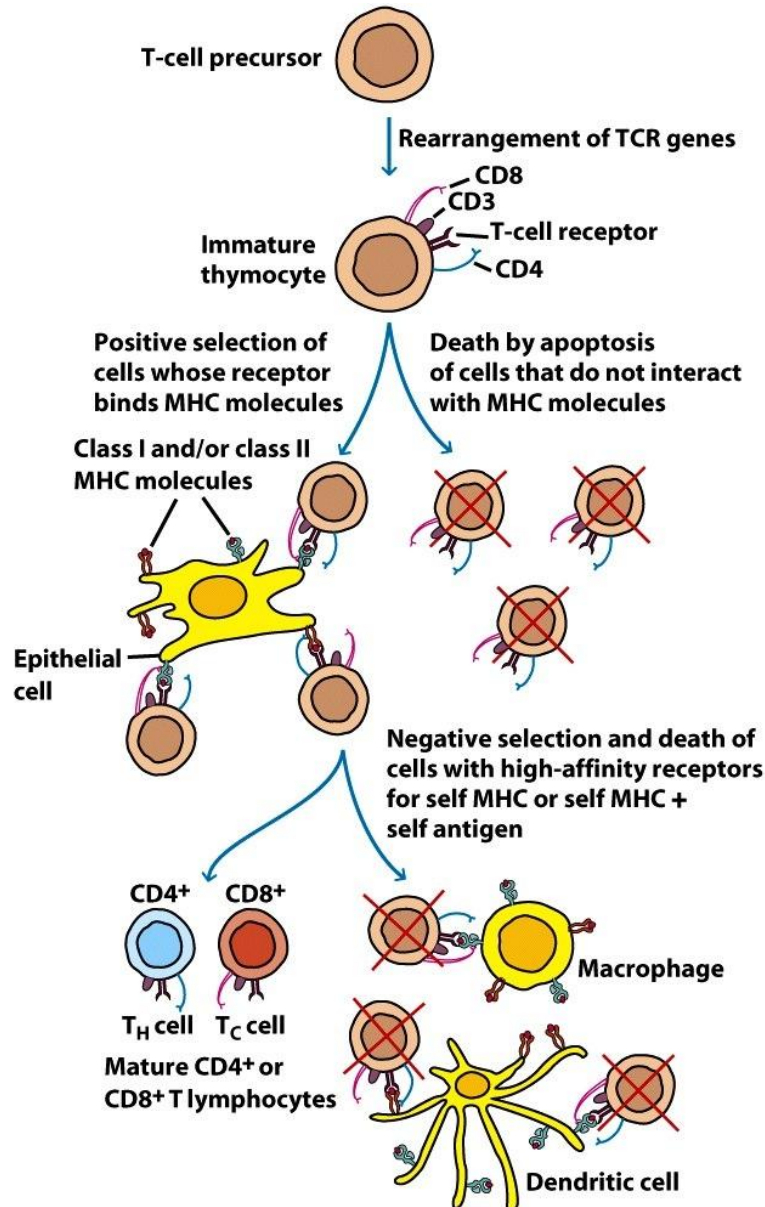
Los timocitos doble positivos (CD3+CD4+CD8+) contactan con células epiteliales tímicas que expresan complejos pMHC-I y pMHC-II en su membrana. Los péptidos provienen de proteínas propias. Por tanto son complejos pMHC propios, en donde no hay presentación de proteínas de microorganismos.

Pueden ocurrir tres cosas:

- Apoptosis:
Si tienen una afinidad tan baja por complejos pMHC que no pueden reconocer al complejo pMHC propio, hay muy pocas probabilidades de que aunque cambie el péptido, sean capaces de reconocer, por ello son inútiles y se destruyen
 - Selección negativa:
Si reconocen al complejo pMHC propio con alta afinidad mueren. De esta forma se impide que puedan activarse al reconocer complejos pMHC propios con mucha afinidad
 - Selección positiva:
La selección positiva permite que los linfocitos T reconozcan con afinidad intermedia complejos pMHC propios, así cuando se vean expuestos a complejos pMHC no propios 1 de cada 100.000 será capaz de contactar con esta estructura con mayor afinidad (se forman nuevos enlaces no covalentes con el péptido) y ese se convertirá en linfocito T efector anti-microbiano
- Durante la selección puede suceder que:
- o El TCR se une a pMHC-II propio, usará CD4 como co-receptor, y se convierte en linfocito T CD4+CD8-, perdiendo la molécula CD8
 - o El TCR se une a pMHC-I propio, usará CD8 como co-receptor y se convierte en linfocito T CD4-CD8+ perdiendo CD4.

Aquí se muestra el proceso de selección en timo en donde la selección positiva y negativa es secuencial.

- 1° Primero hay una selección positiva y se elimina a todos los timocitos que no interactúan con pMHC-propios
- 2° Después hay una selección negativa, eliminándose los que interactúan demasiado bien (con alta afinidad)



Este proceso de selección positiva explica que

- 1) Linfocitos T CD4+CD8- sólo se activan al reconocer complejos pMHC-II no propios, ya que en timo sobrevivieron al contactar con complejos pMHC-II propios con afinidad intermedia usando el co-receptor CD4
- 2) Linfocitos T CD4-CD8+ sólo se activan al reconocer complejos pMHC-I no propios, ya que en timo sobrevivieron al contactar con complejos pMHC-I propios con afinidad intermedia en timo usando el co-receptor CD8