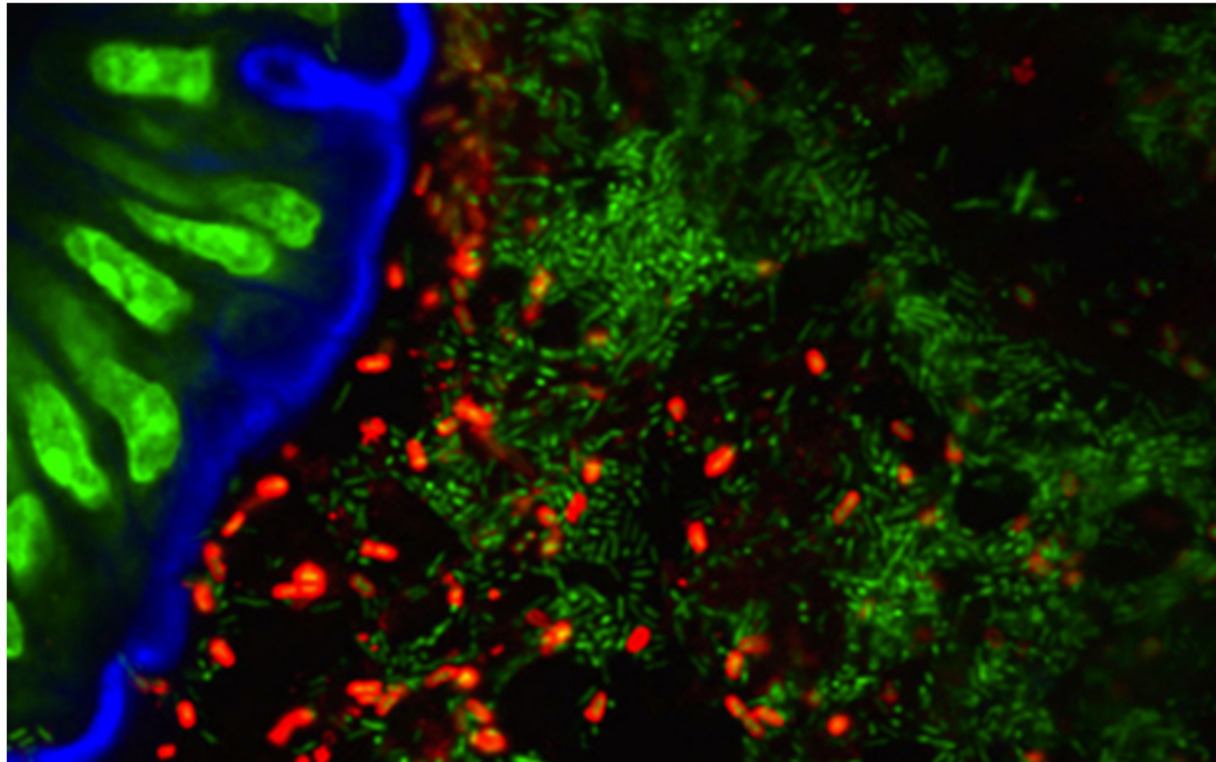


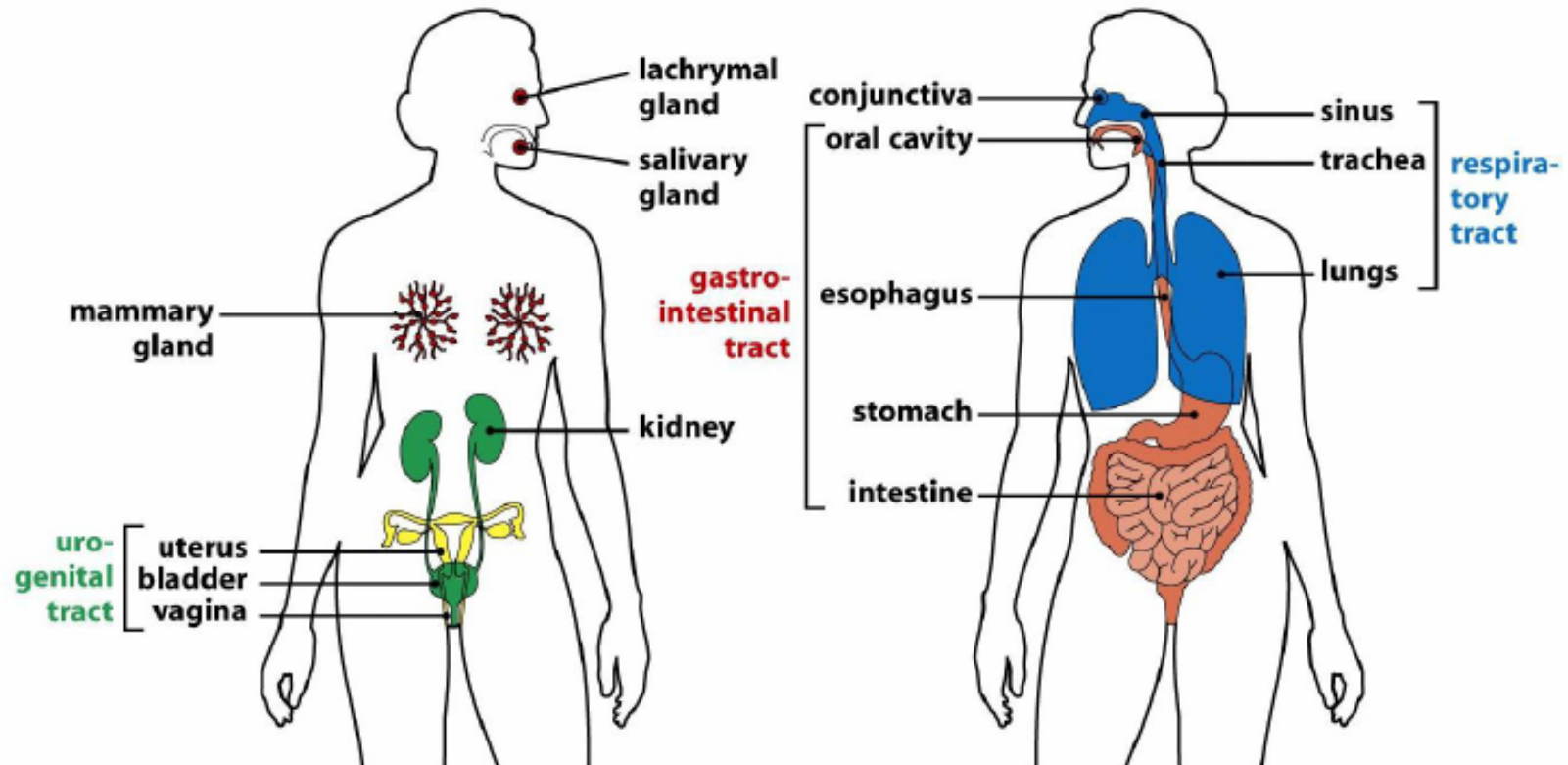
# Inmunidad de mucosas frente a infecciones por enteropatógenos: el rol de la microbiota en la infección por *Salmonella enterica*



# Objetivos de aprendizaje

- La microbiota como componente fundamental del sistema inmune de mucosas. Su rol en el desarrollo y regulación de la homeostasis del mismo
- Efecto de la microbiota en la colonización por patógenos
- Inflamación intestinal en respuesta a la infección por *Salmonella enterica*
- Cómo discrimina el sistema inmune entre microorganismos patógenos y no patógenos?

# Las mucosas nos separan y protegen del medio externo



- Un adulto posee aprox. 400m<sup>2</sup> de superficie mucosa
- Densamente poblada por organismos comensales y ocasionalmente patógenos
- Poseen mecanismos efectores de la inmunidad innata y adaptativa para detectarlos y reaccionar



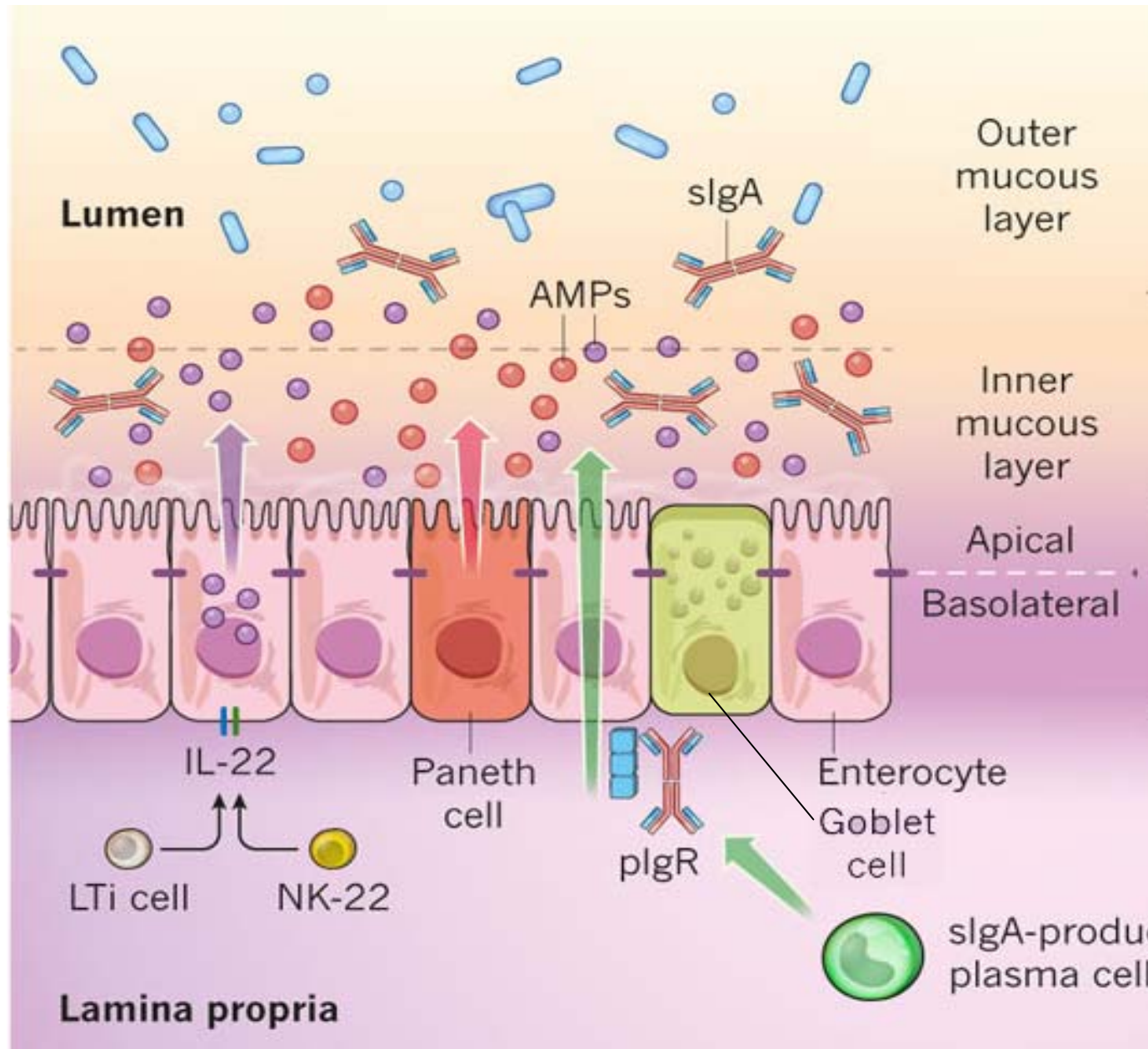
# El sistema inmune mucoso del intestino (GALT) es el más estudiado



4

En la mucosa del intestino se concentran el 80% de los linfocitos totales del organismo

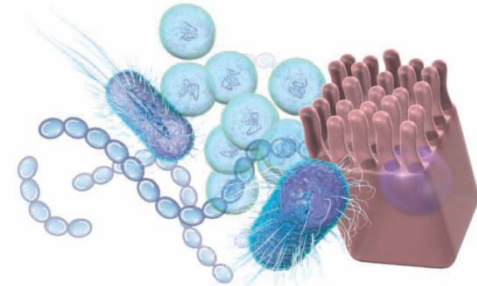
# La función barrera de la mucosa intestinal



- **Microbiota**
- **Mucinas**
- **Péptidos antimicrobianos**
- **IgA secretoria**
- **Descamación epitelial**
- **Continuidad del epitelio**



# Microbiota



## Características:

→ viven en el hospedador sano

→  $10^{12}$  morg/cm<sup>3</sup>

→ se adquiere al nacer

→ coloniza todas las superficies

→ comensales o mutualistas

→ conservada entre individuos a nivel de phylum

## Funciones:

→ nutrición, metabolismo

→ protección competitiva

→ desarrollo mucosa y  
sist. inmune asociado

→ homeostasis del SII

# Secuenciación masiva de comunidades bacterianas: el metagenoma del intestino humano

- "A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing" Qin et al Nature 2010

- Secuenciaron el ADN total de muestras fecales de 124 individuos adultos sanos. El 99% de los genes identificados eran bacterianos

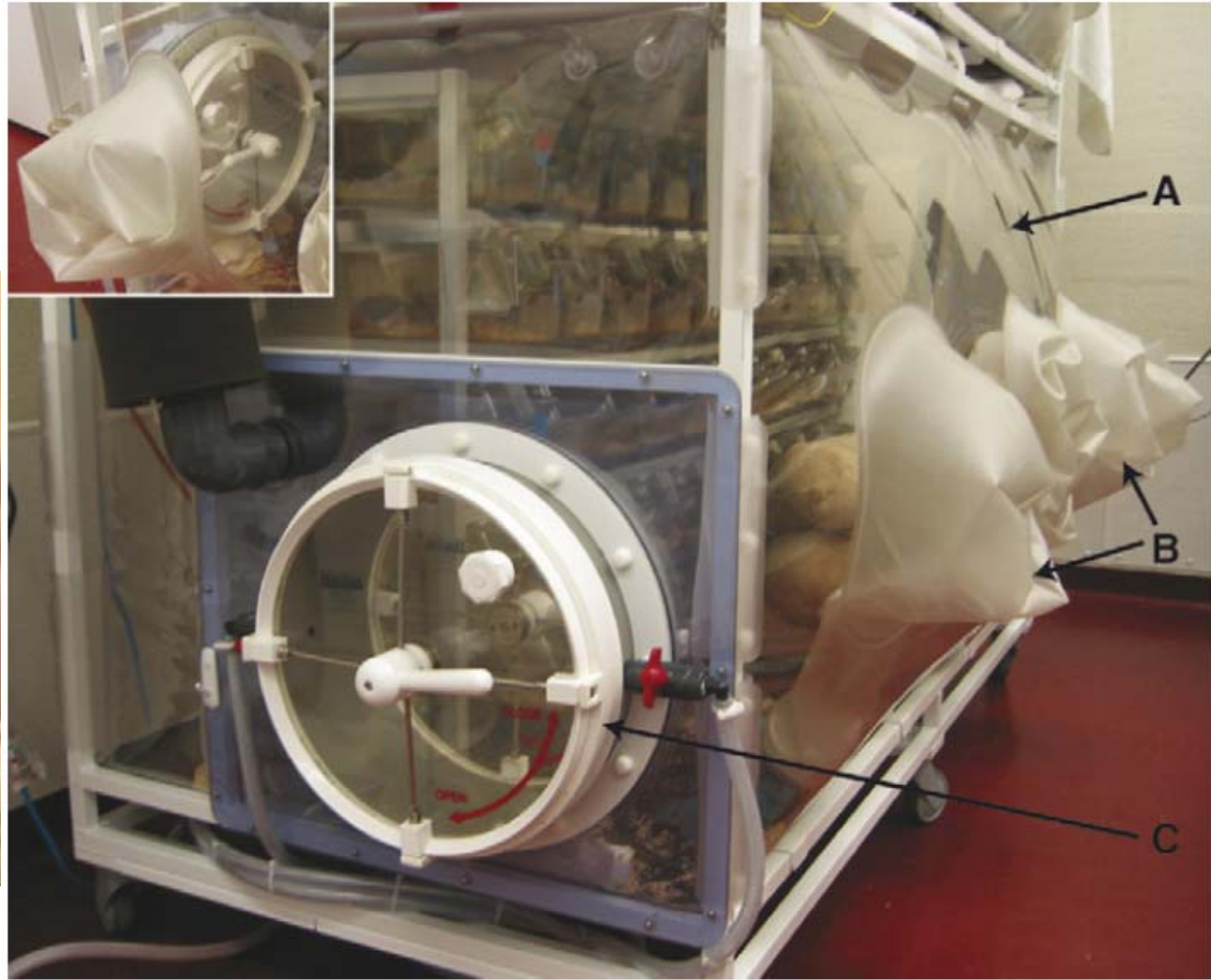
- Encontraron **3.3 millones** de genes bacterianos diferentes (150x el contenido genético humano)

- 1.000 – 1.150 especies bacterianas distintas

- Principales phyla: Bacteriodetes, Firmicutes y Proteobacteria

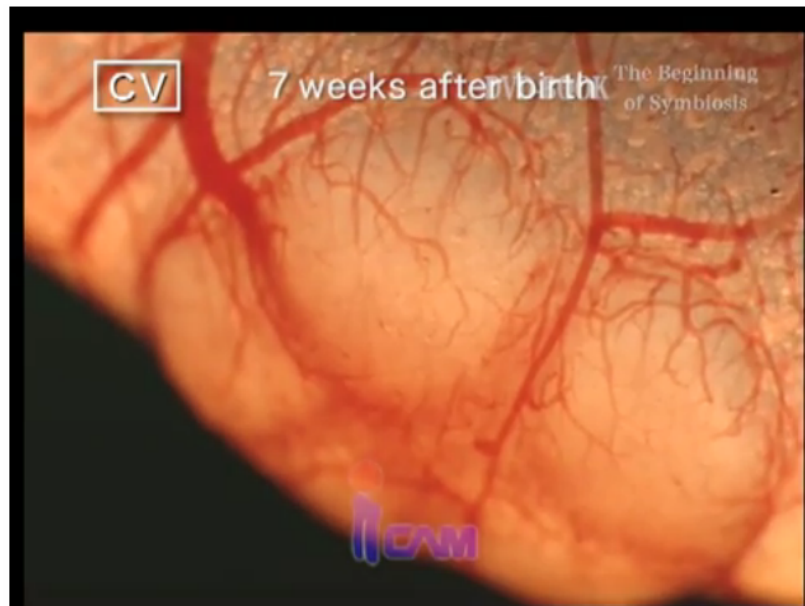
- 100.000.000.000.000 células bacterianas/humano

# Funciones de la microbiota: estudios con ratones "germ-free"



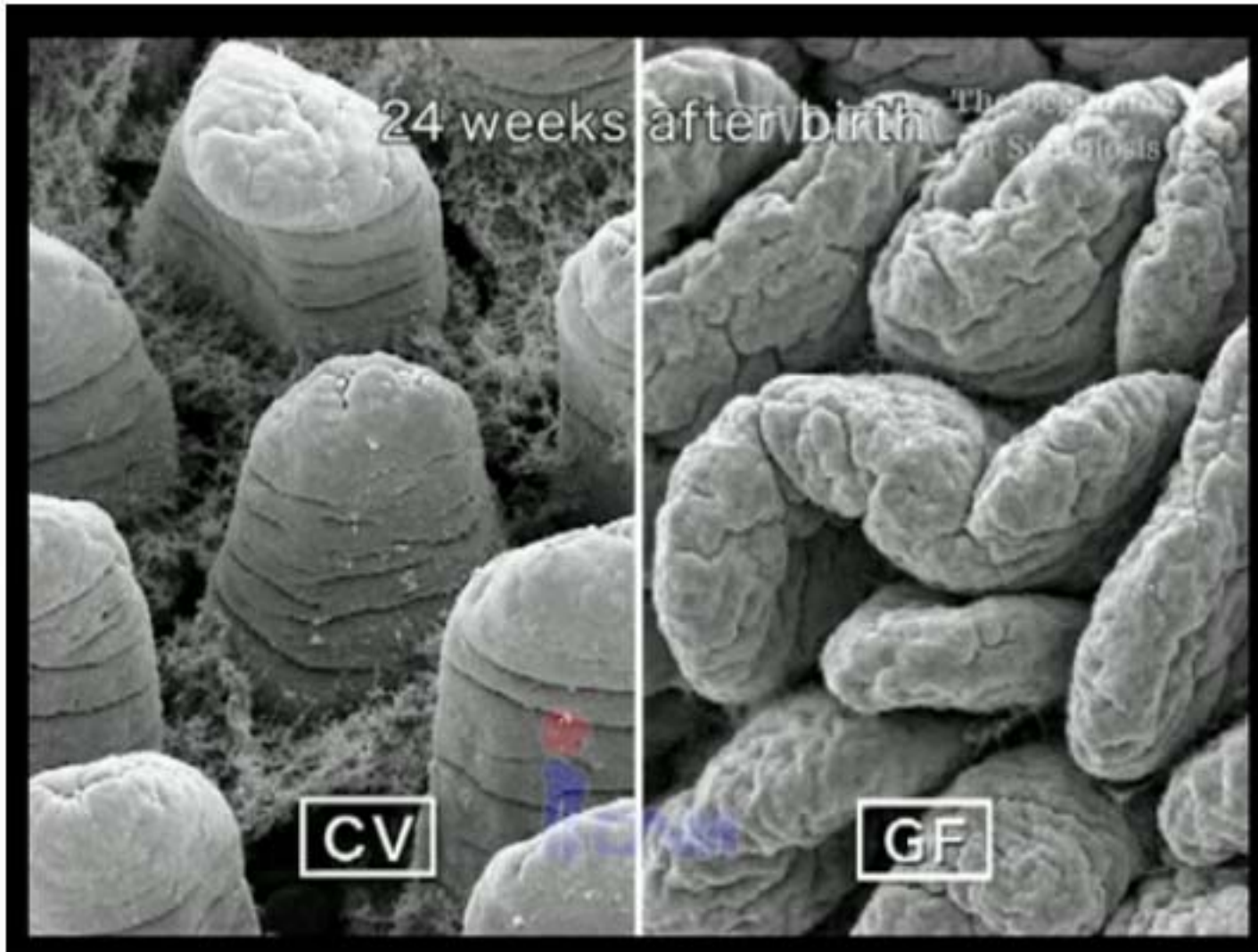


# SI de la mucosa intestinal inmaduro en ratones "germ free" comparado con ratones convencionales



Placas de Peyer en ratones convencionales o germ free

# Patrón alterado de las microvellosidades intestinales en ratones "germ free"



Microvellosidades intestinales en ratones convencionales o germ free

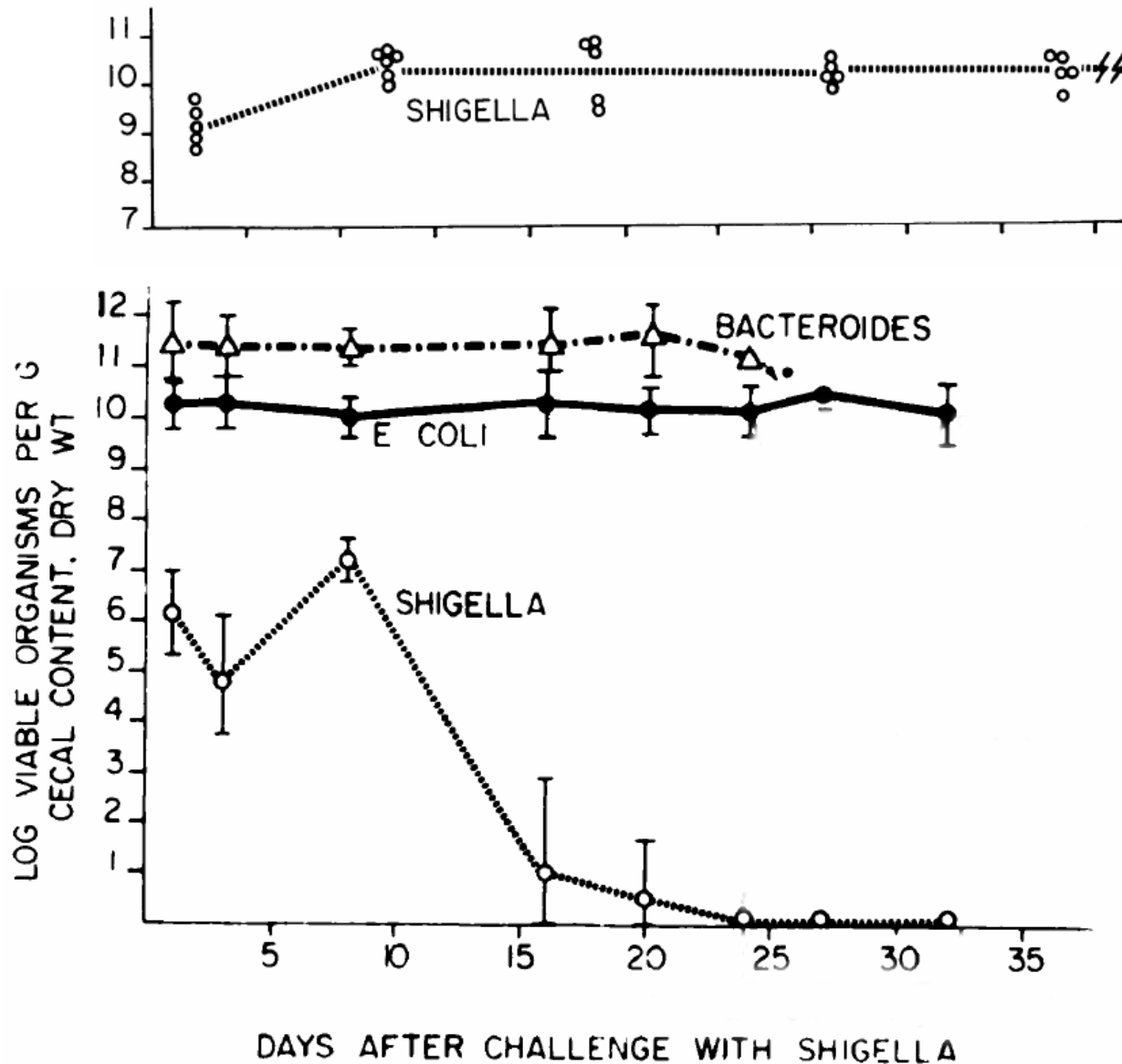
10

# SI de la mucosa intestinal inmaduro en ratones "germ free"

- Reducido contenido en IgA, células B y T, LIE (menos citotóxicos)
- Reducida expresión de TLR9, y de ciertos péptidos antimicrobianos
- Placas de Peyer reducidas en número y tamaño
- Capa de mucus más fina
- Menor número de folículos linfoides
- Ganglios mesentéricos menores, sin centros germinales
- Mayor susceptibilidad a infecciones (*S. flexneri*, *B. anthracis*, *Listeria*, *Salmonella*)

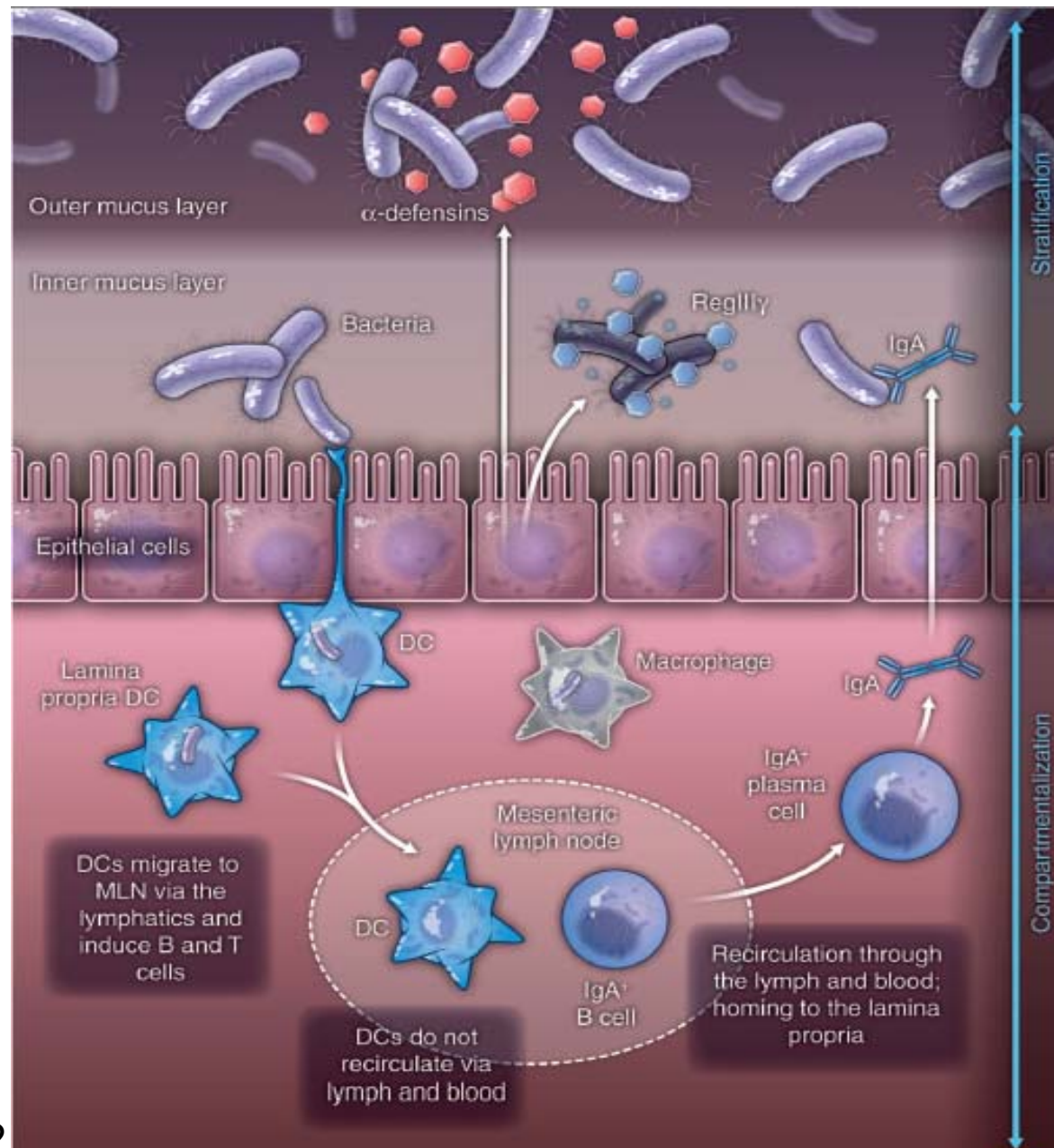


# Funciones de la microbiota: protección frente a infecciones

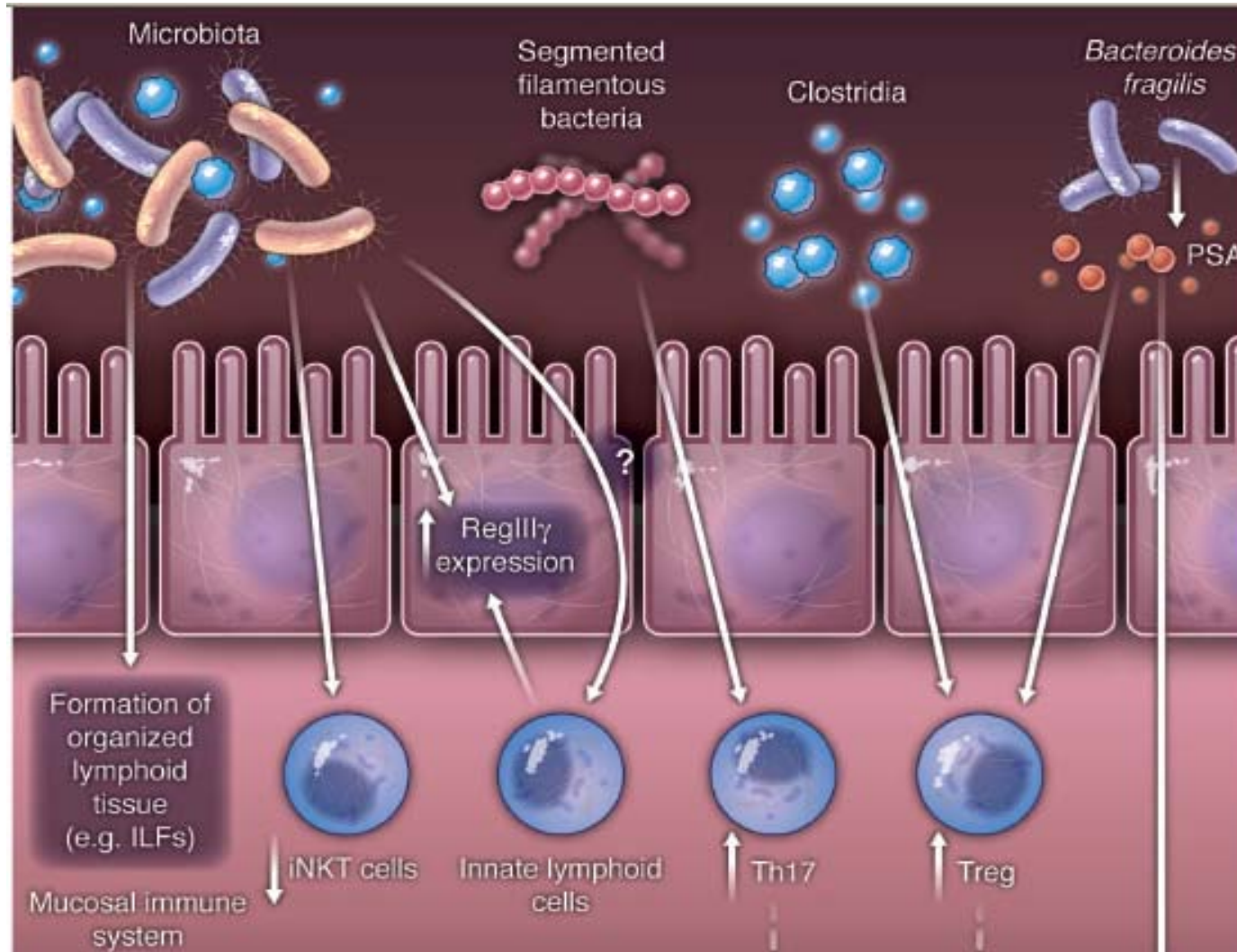


Ratones "germ free" resisten mucho más la colonización por *Shigella* si se colonizan previamente con *E. coli* y *Bacteroides*

# El sistema inmune controla a la microbiota...



.. y a su vez la microbiota modula al SI



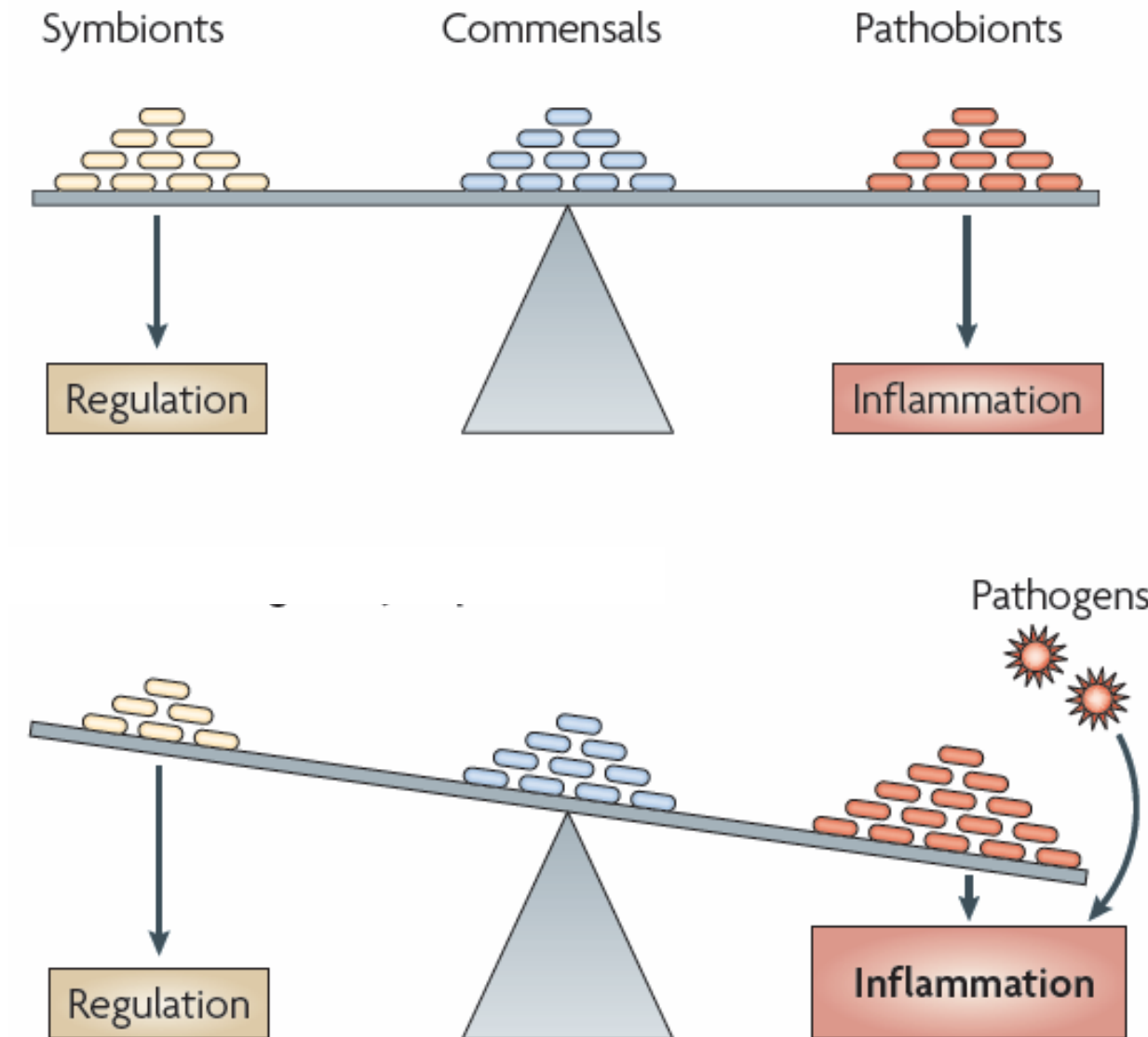


## Funciones de la microbiota: mantenimiento de la homeostasis del sistema inmune

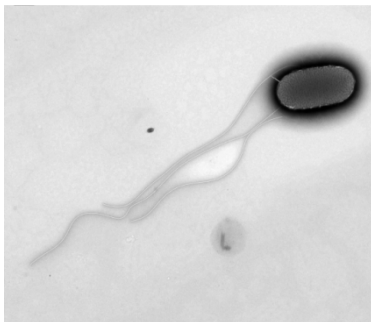
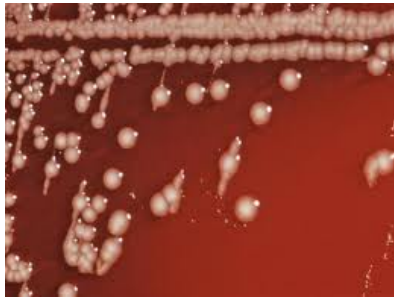
El SI no es insensible a la microbiota:

- MAMPs de la microbiota interactúan con los PRRs de los epitelios generando una “inflamación basal” que aumenta la capacidad de la superficie epitelial de responder frente al daño tanto físico como infeccioso
- Parte de la microbiota ejerce efecto anti-inflamatorio en la mucosa intestinal mediante la inducción de células Treg e IL-10
- La microbiota estimula la producción de IgA y péptidos antimicrobianos que abundan en la capa de mucus, los cuales a su vez regulan la composición e impiden la translocación de la microbiota.

# Alteraciones en la microbiota alteran la homeostasis del SI:



Qué sucede cuando un patógeno alcanza el intestino en número suficiente?  
→ el caso de *Salmonella enterica*



- **Bacilos Gram-negativos**
- **Móvil**
- **Intracelular facultativo**
- **Patógeno de humanos y animales**
- **Agente causante de enfermedades transmitidas por alimentos a nivel mundial**
- **Existen más de 2500 serotipos definidos por antígenos flagelar, somático (LPS) y capsular**





De los más de 2500 serotipos de *S. enterica*, unos pocos prevalecen como causantes de enfermedad en humanos

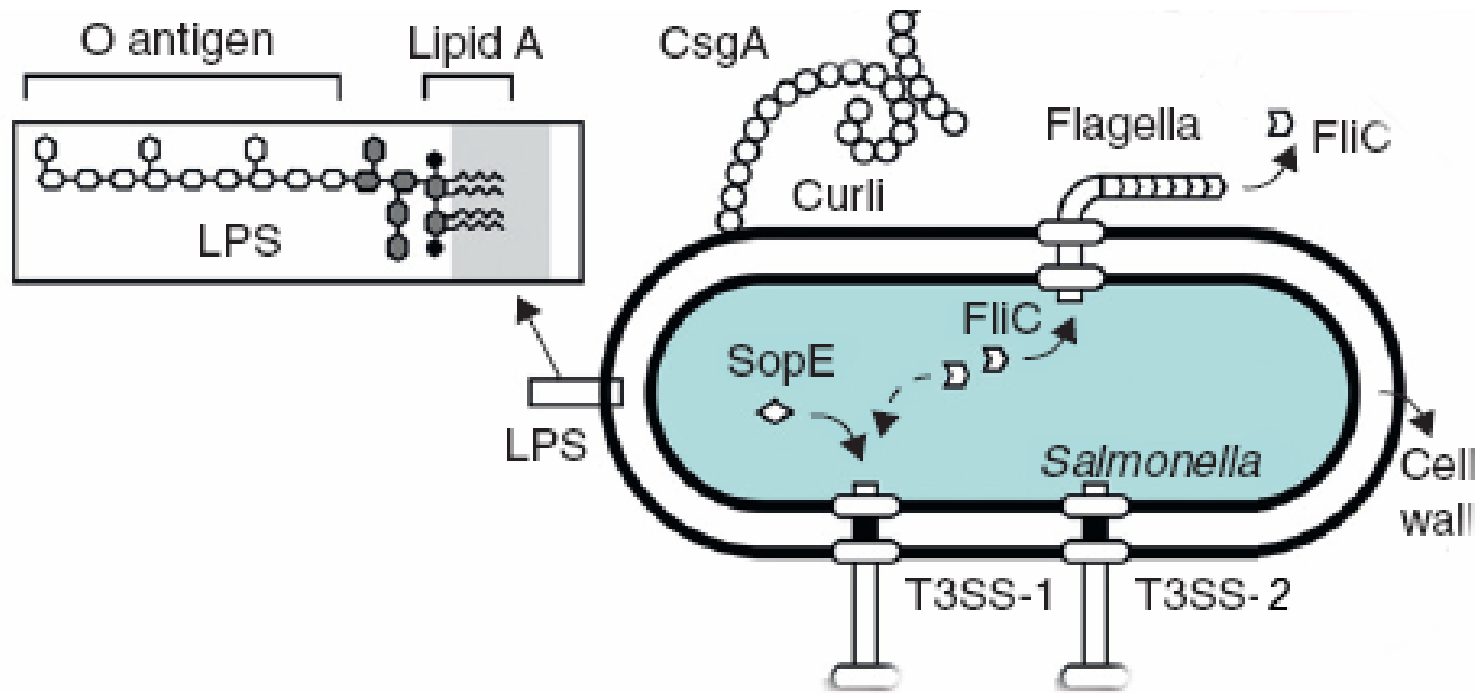
## *Salmonellas* tifoideas

- Serotipos: Typhi y Paratyphi A
- Enfermedad sistémica (fiebre tifoidea)
- Exclusivos del H

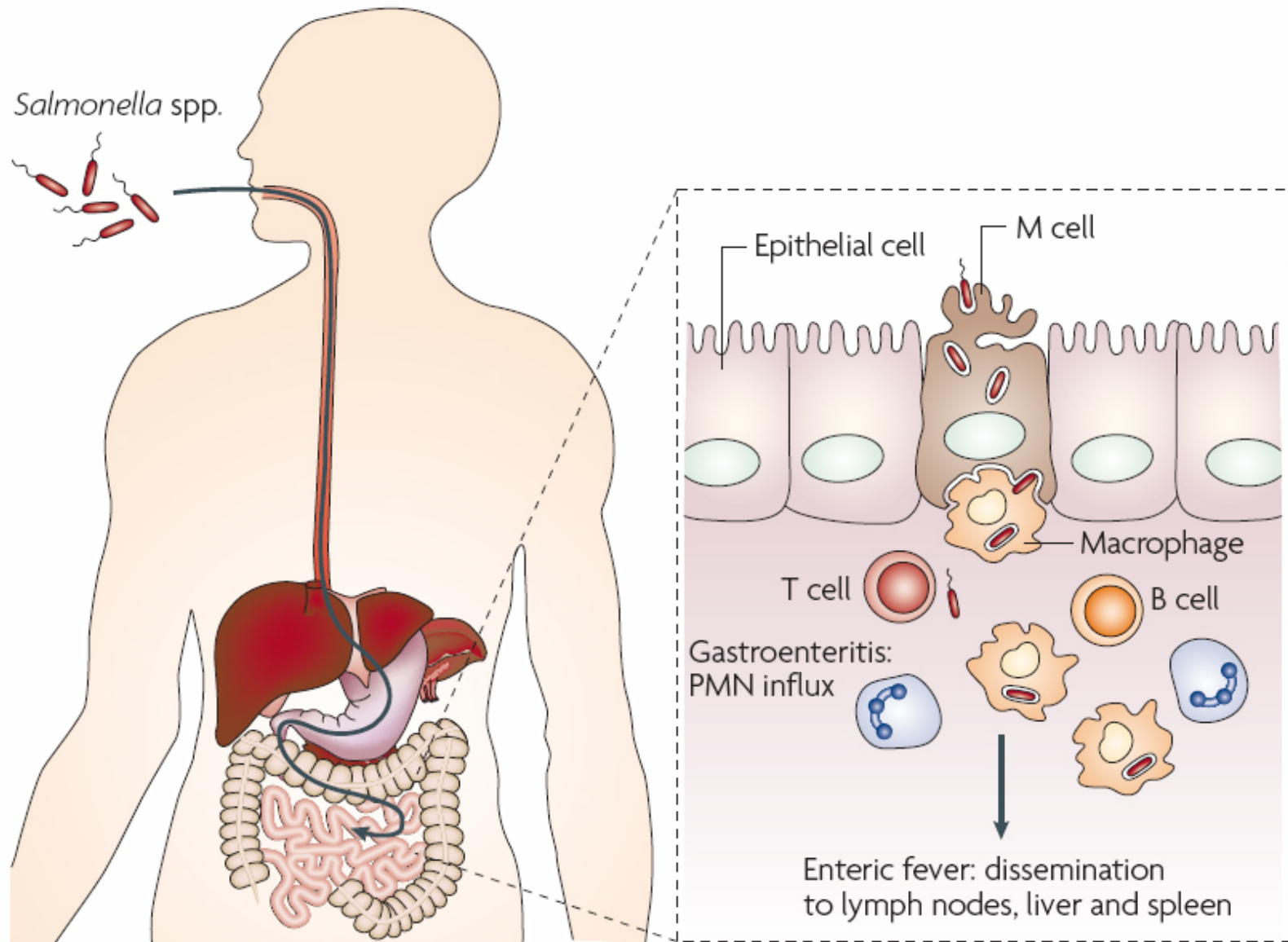
## *Salmonellas* no tifoideas

- Serotipos: Enteritidis y Typhimurium
- Enfermedad localizada (gastroenteritis)
- Ubicuos

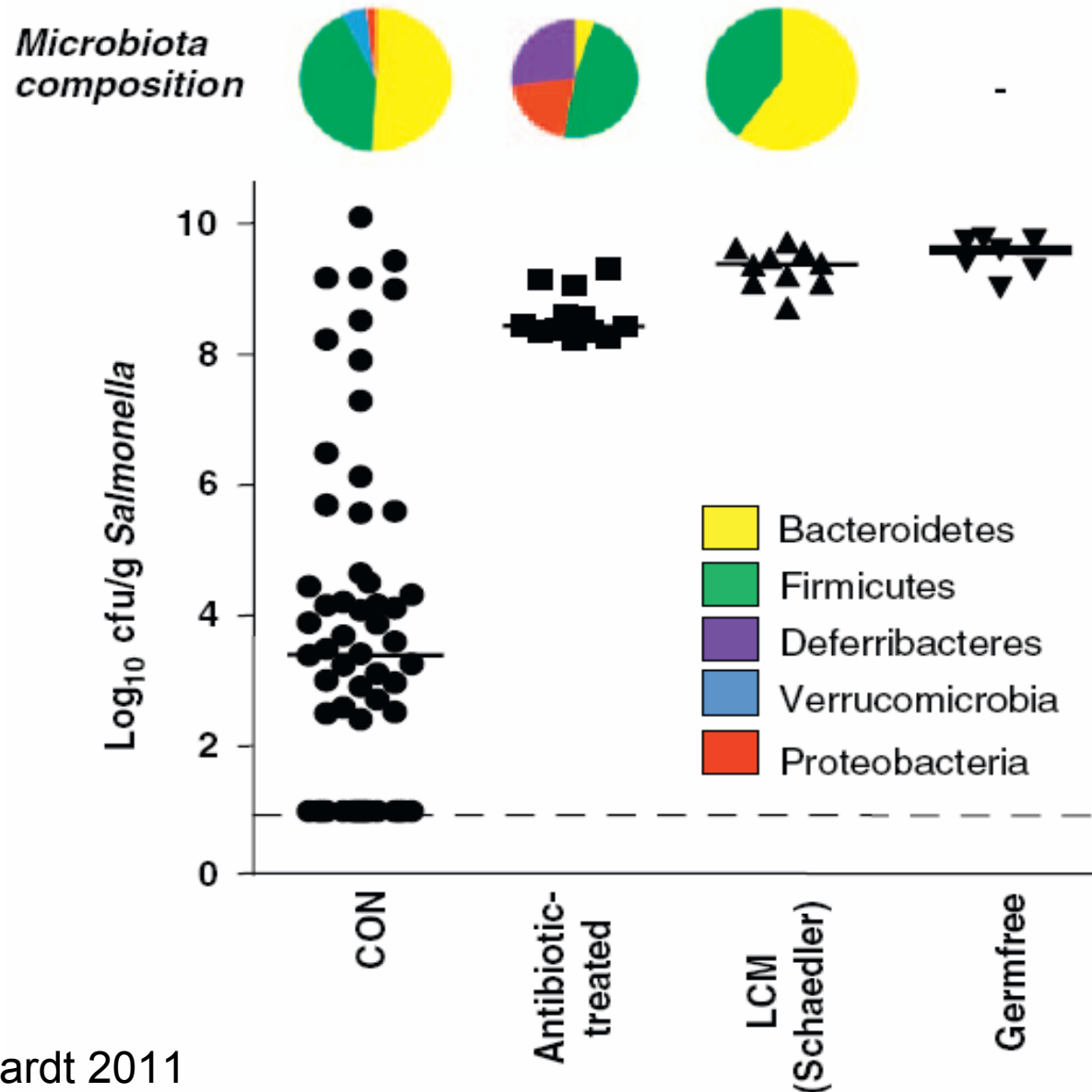
*Salmonella* posee una batería de factores de virulencia que median la interacción con el hospedador



# Biología de la infección por *Salmonella*

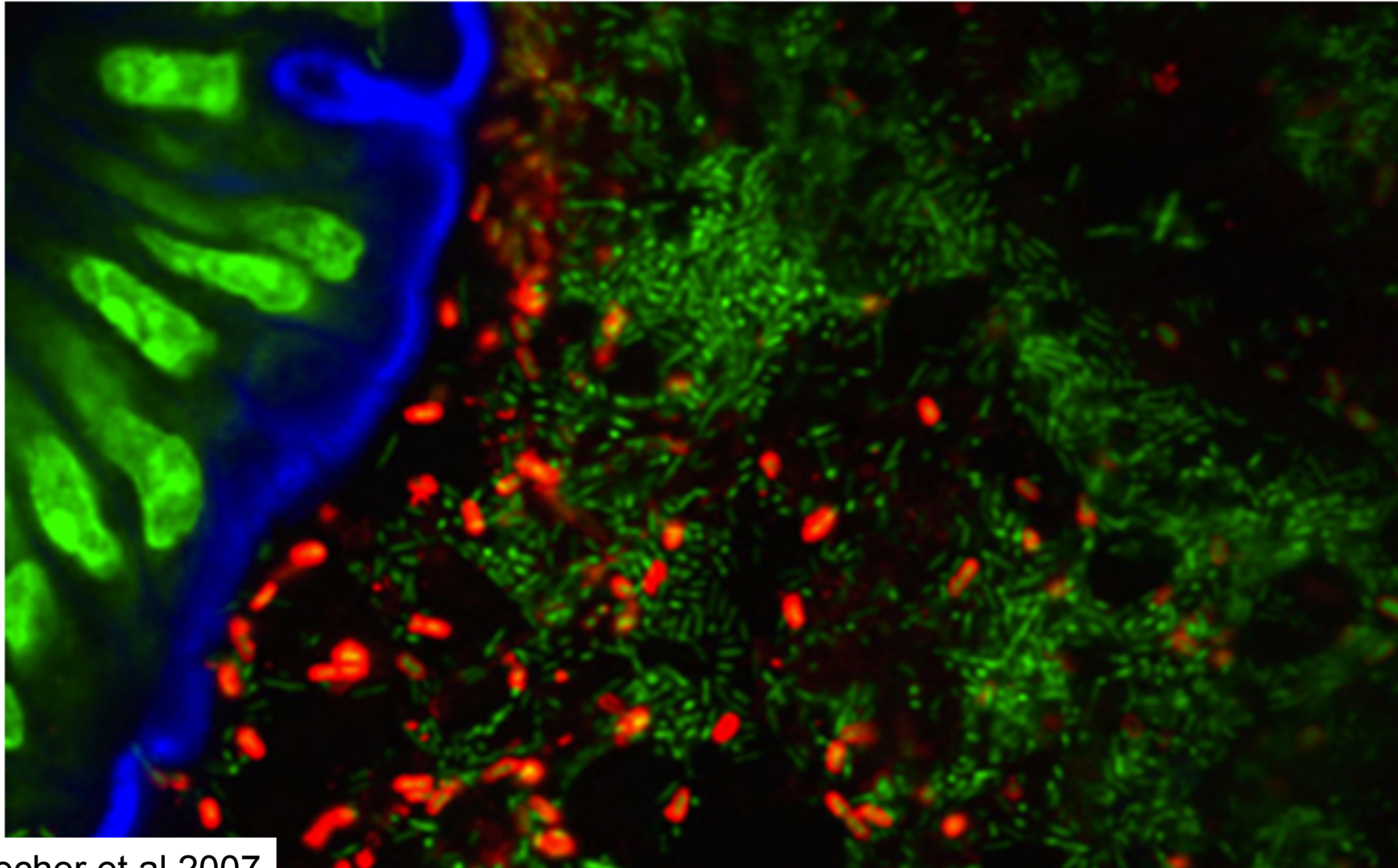


# La microbiota ejerce resistencia a la colonización del intestino por *Salmonella*...



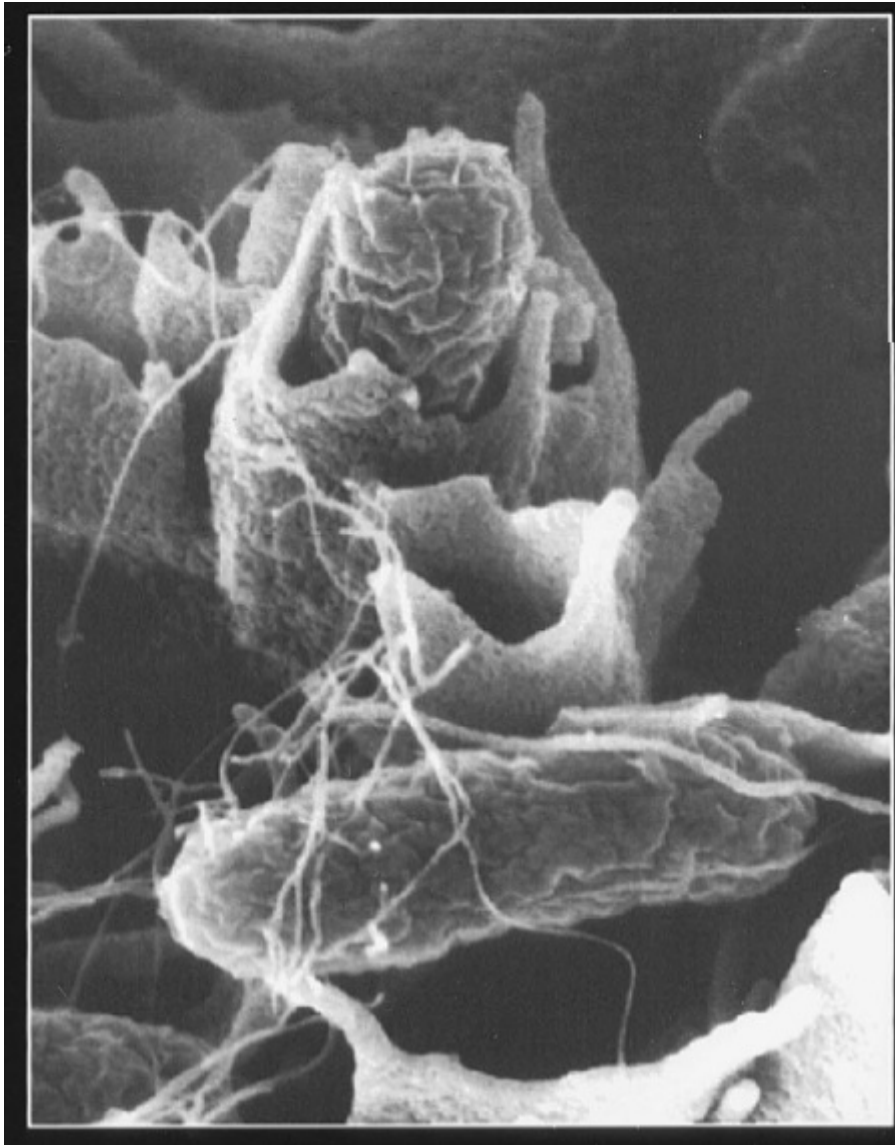


# *Salmonella* compite con la microbiota... y altera la homeostasis



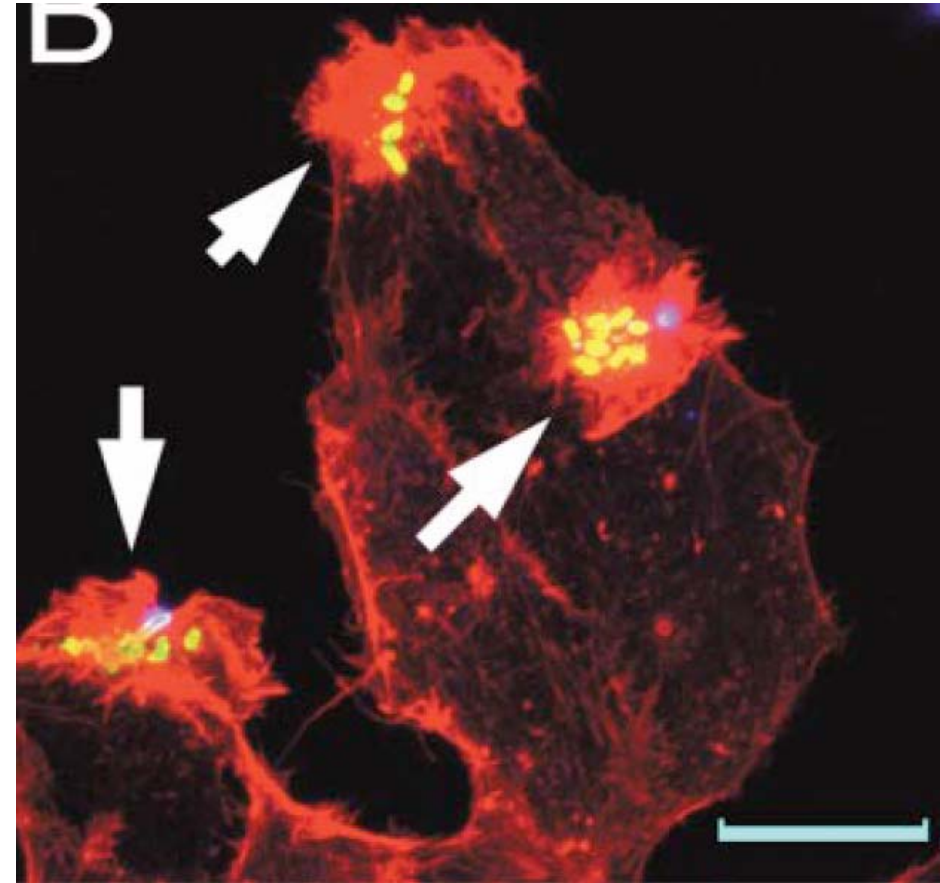
Stecher et al 2007

*Salmonella* se adhiere al epitelio y lo invade ...



Ohl and Miller 2001

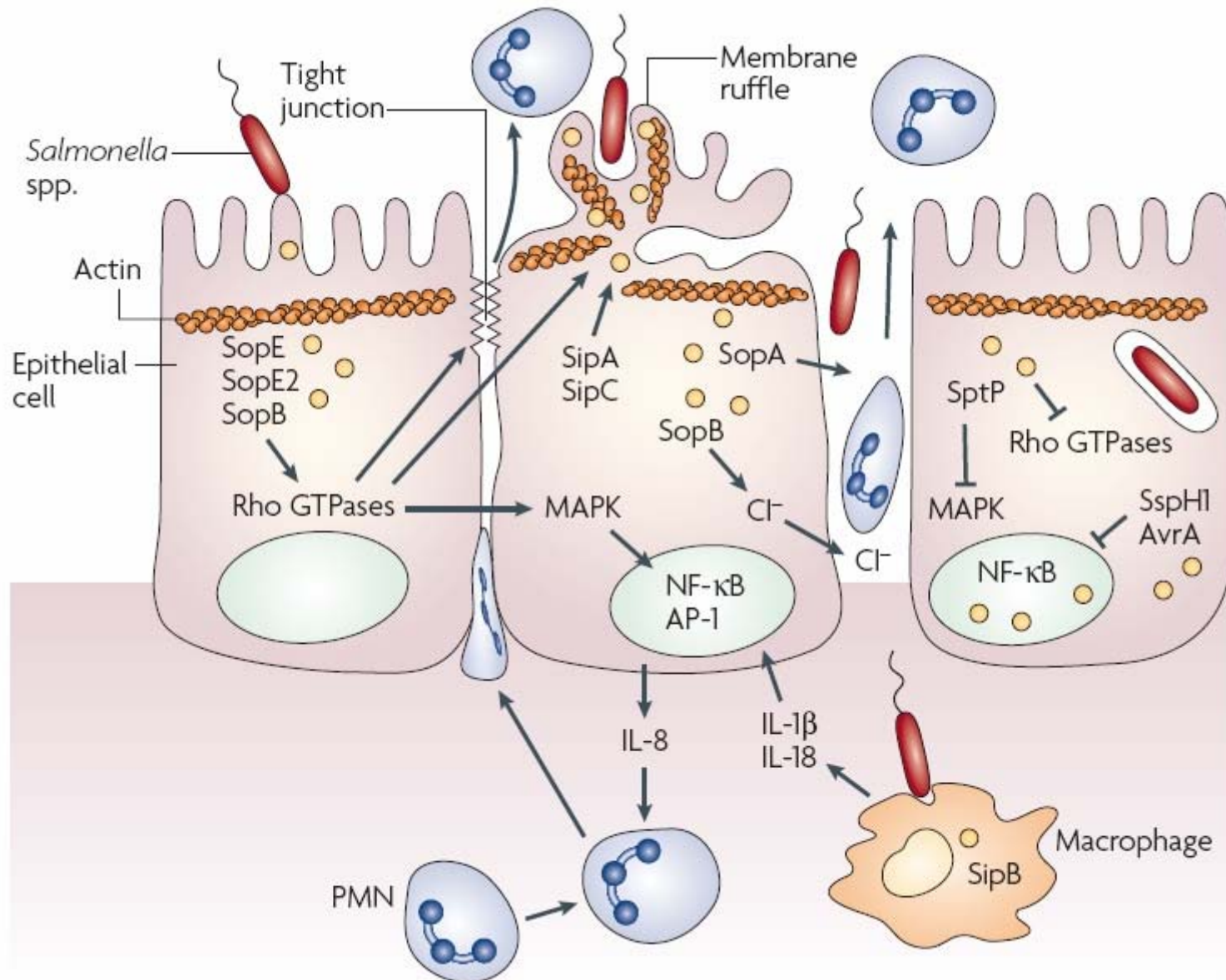
Microscopía electrónica



Galan 2001

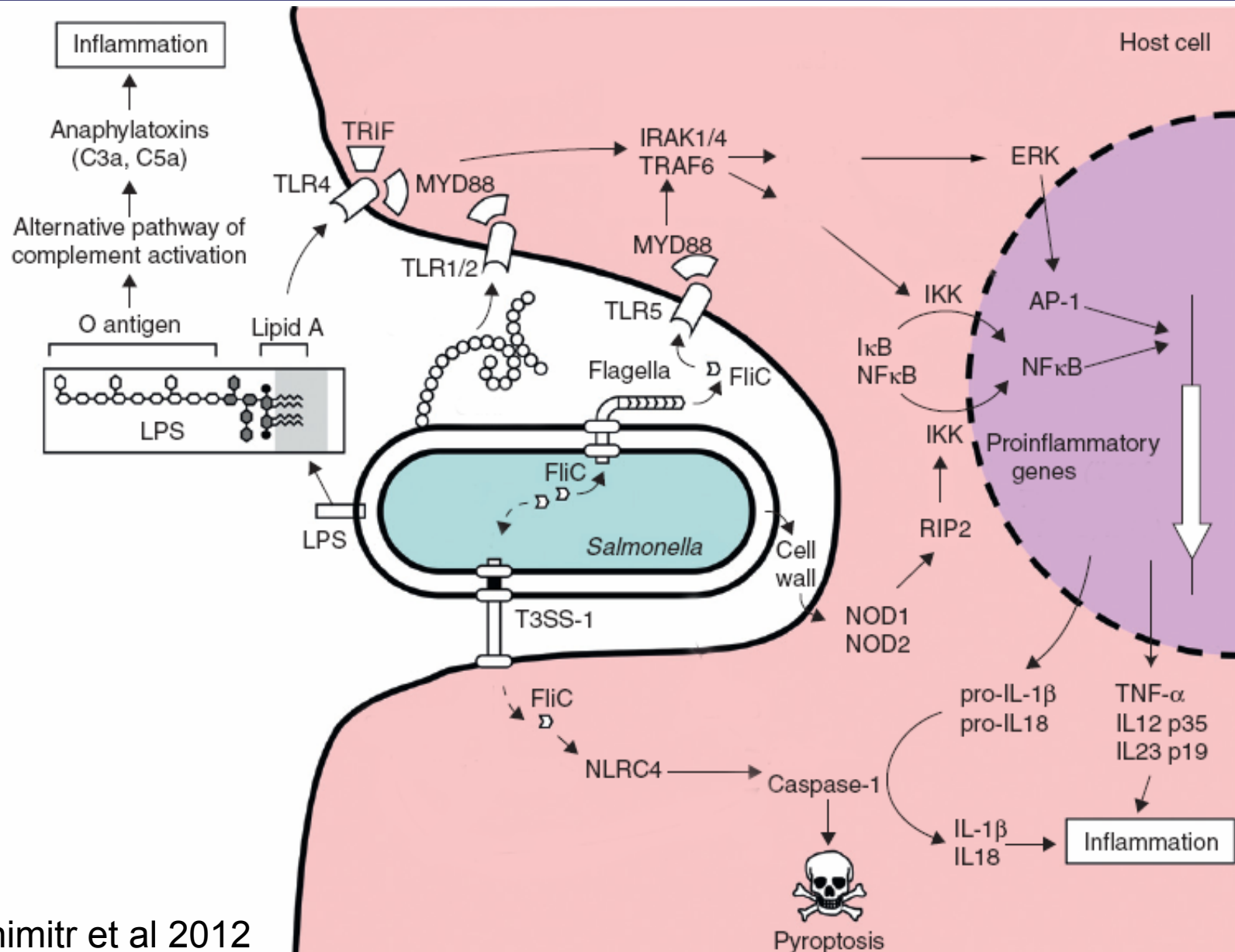
Microscopía óptica de fluorescencia

# Los efectores del SST3 codificado en SPI1 promueven la invasión de la célula hospedadora



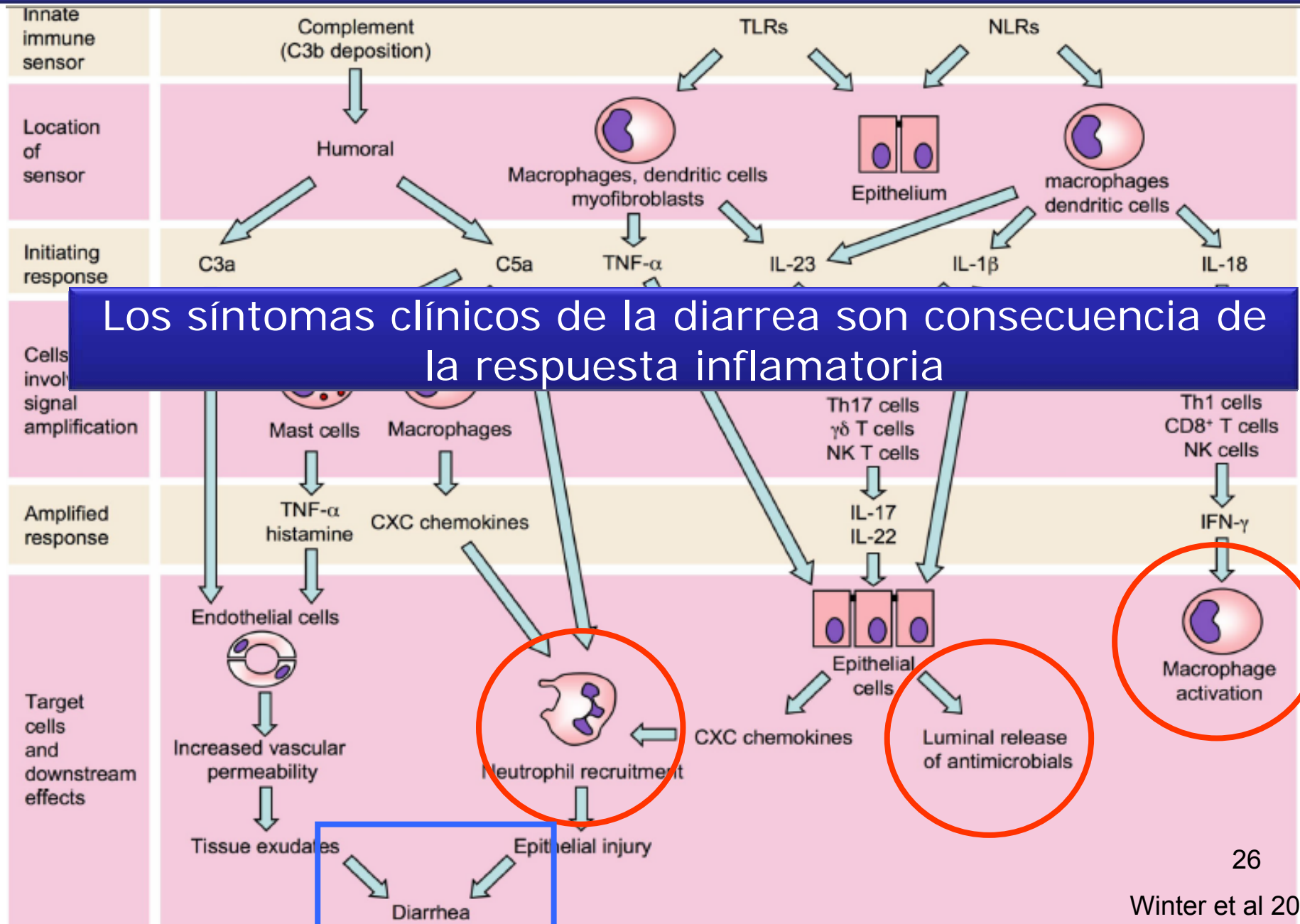


# *Salmonella* posee una batería de PAMPs que activan variados PRRs resultando en inflamación

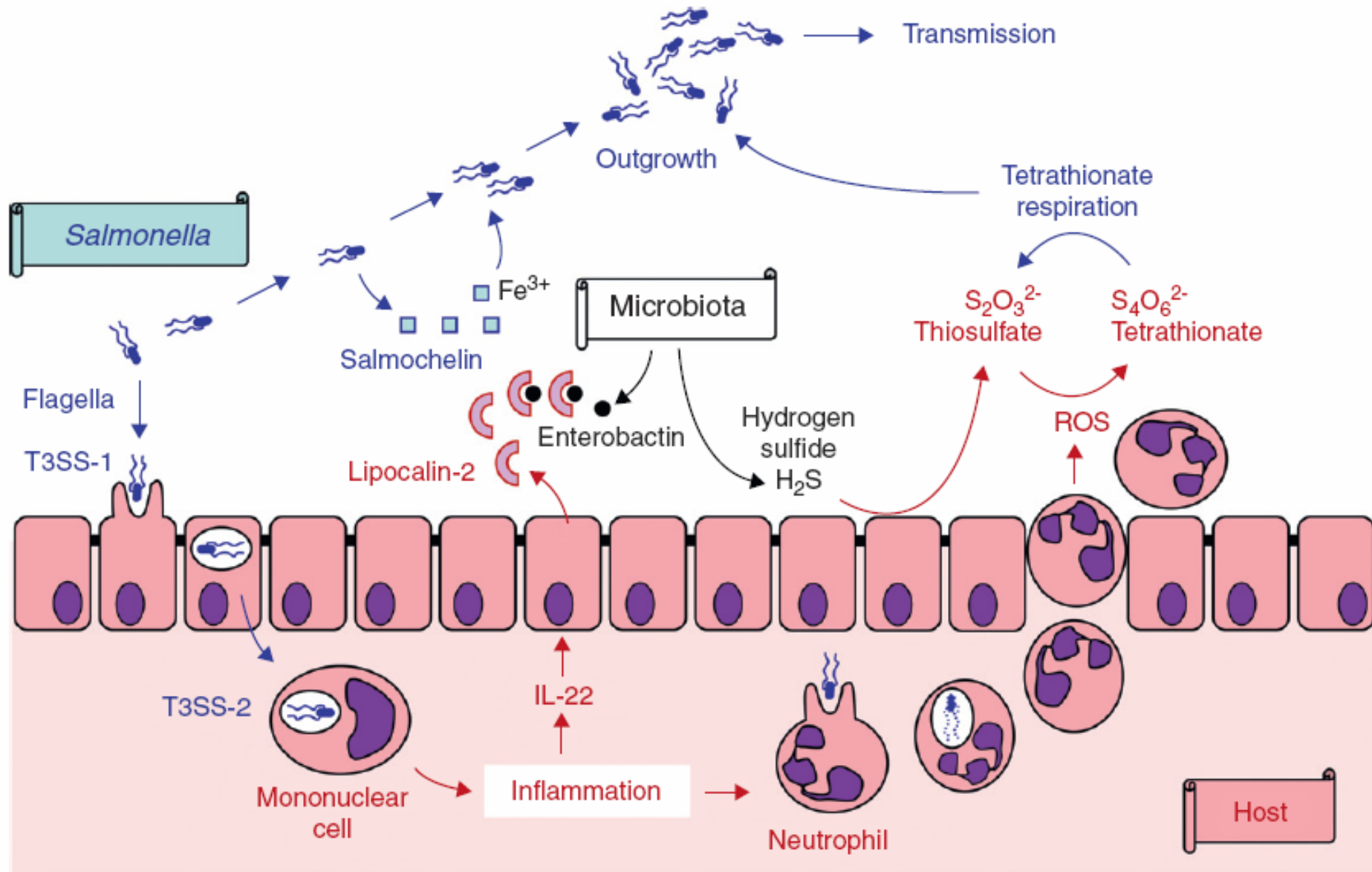




# Los tres brazos de la respuesta inflamatoria anti-*Salmonella*



# *Salmonella* se beneficia de la inflamación para competir con la microbiota



## *Salmonella* se beneficia de la inflamación para competir con la microbiota

- Mayor disponibilidad de glicoconjugados que sirven de nutrientes para *Salmonella*
- Inducción de péptidos antimicrobianos (ej Lcn2) que inhiben la captación de hierro por parte de la microbiota. *Salmonella* es resistente a la acción de éstos
- Generación de tetrionato que permite a *Salmonella* realizar respiración más eficiente en el ambiente anaerobio del intestino (la microbiota no posee esa capacidad)

Es la propia respuesta inflamatoria del hospedador la que causa el daño que conduce a los síntomas de la enfermedad

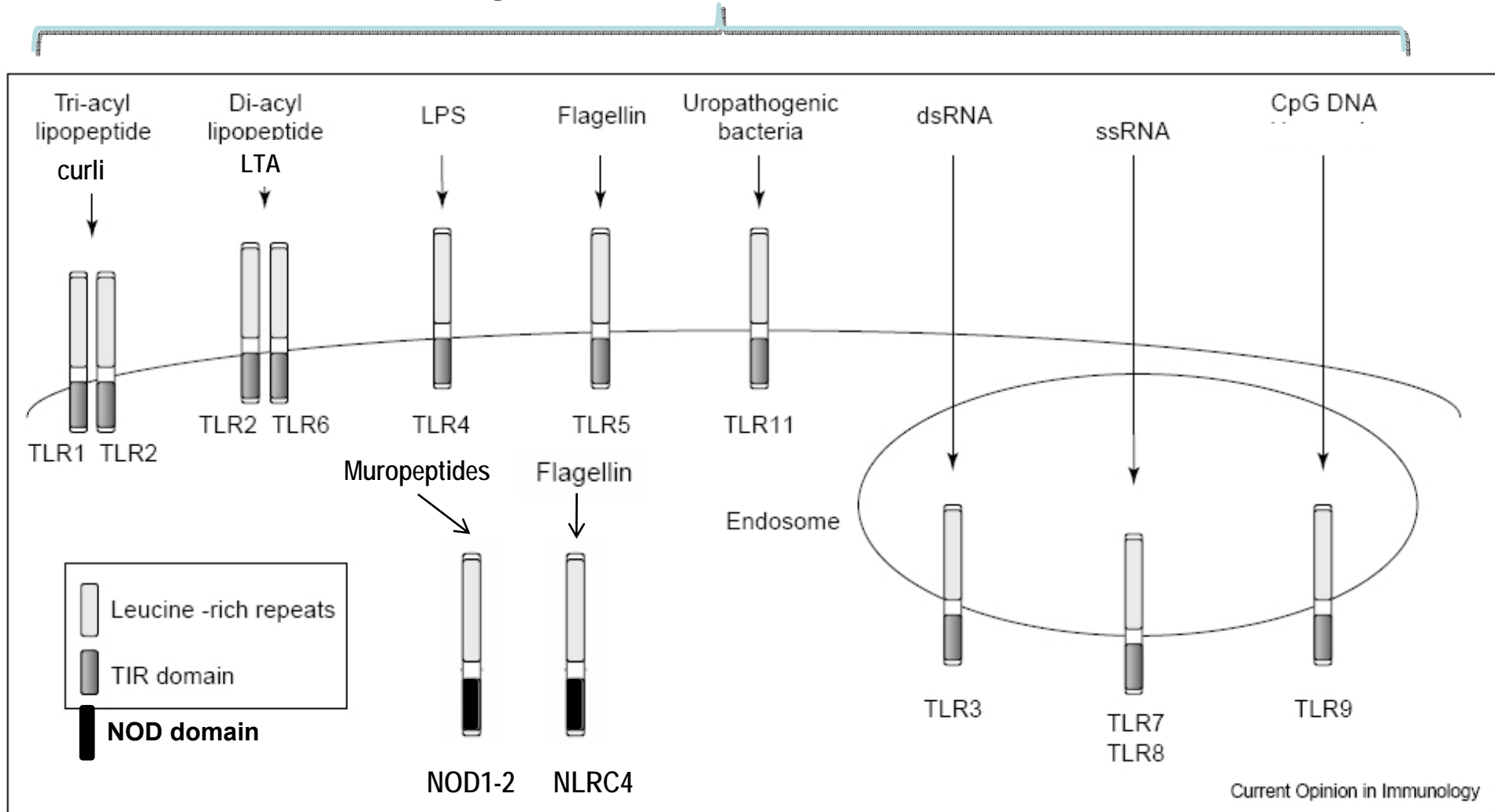
Pero es también esa respuesta inflamatoria la que mantiene la infección localizada y finalmente logra, junto con la respuesta inmune adaptativa la resolución de la infección



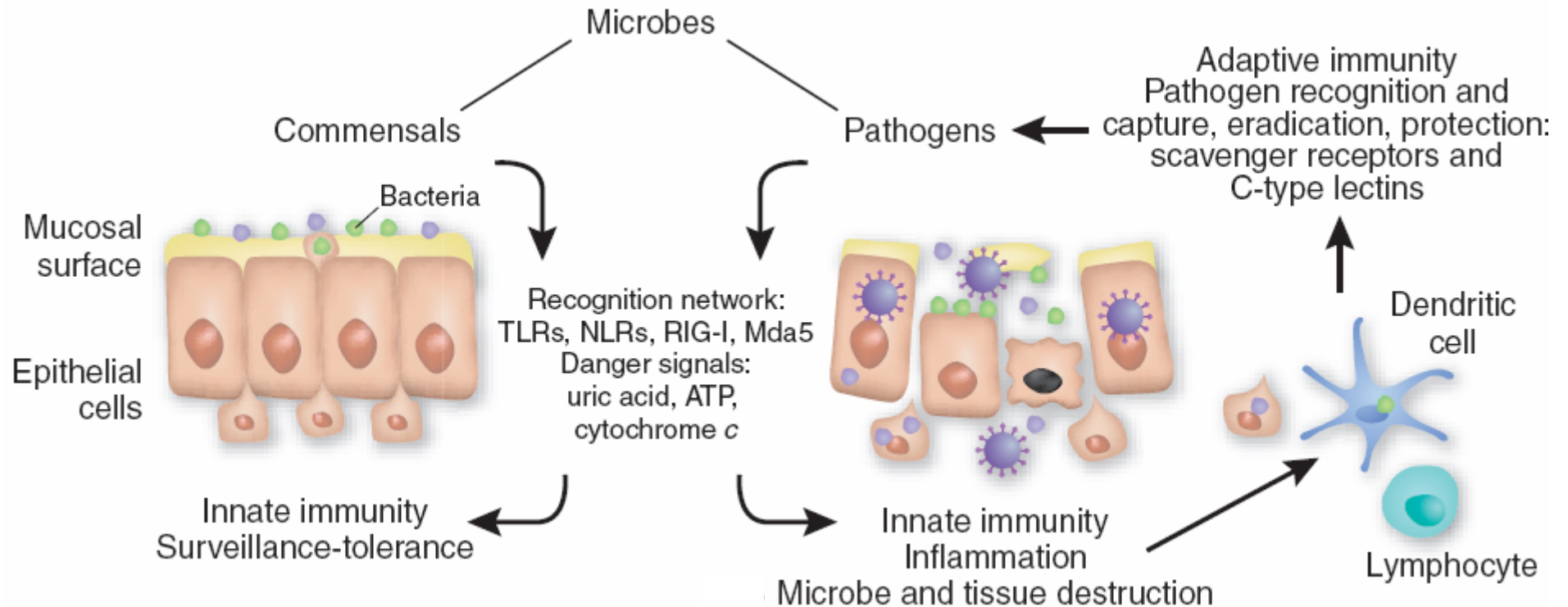
# Sistema inmune innato: primera línea de defensa frente a patógenos

Toll-like receptors (TLRs) y Nod-like receptors (NLRs) → PRRs

**PAMPS** (Pathogen Associated Molecular Patterns)/**MAMPs**



# Sistema Inmune Innato: rol en la protección frente a patógenos pero también en el mantenimiento de la microbiota



Sansonetti 2006 Nat Immunol 7(12):1237

Los PAMPs son similares en bacterias patógenas y comensales → cómo discrimina el SII entre ambos?

# Cómo discrimina el SII entre patógenos y no patógenos?

- 1) Los MAMPs de ciertos organismos comensales son peores agonistas para los PRRs que los de patógenos
- 2) Ciertos organismos de la microbiota poseen actividad anti-inflamatoria (antagonistas)
- 3) Factores de virulencia → señales de “peligro”:
  - multiplicación bacteriana en los tejidos
  - contacto íntimo con la barrera epitelial
  - introducción de PAMPs en el citosol epitelial
  - invasión de la célula por el patógeno
  - alteración de las membranas (enzimas, toxinas líticas)
  - acceso a sitios donde no llega la microbiota

## En conclusión....

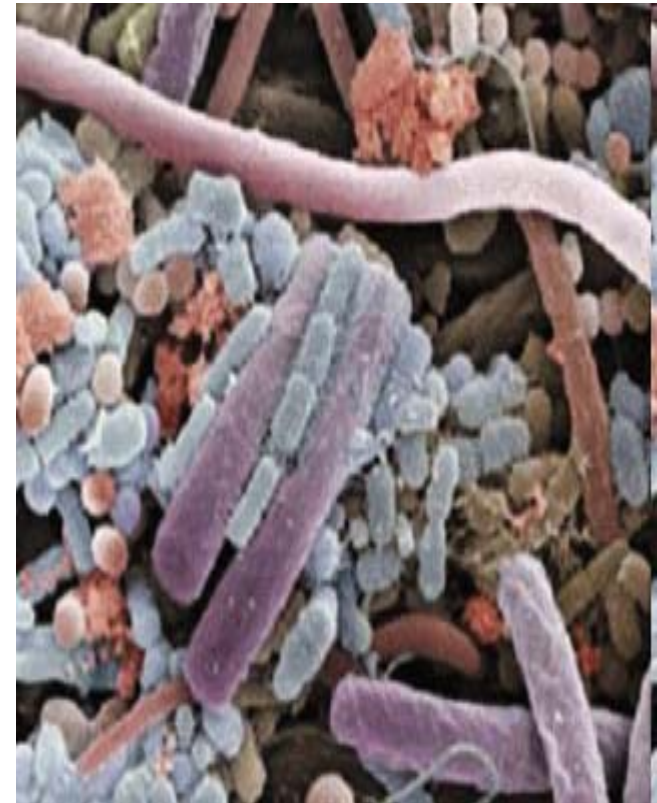
- Importancia de la diversidad microbiana en la composición de la microbiota humana:

- desarrollo del SI
- homeostasis del SI
- protección frente a patógenos

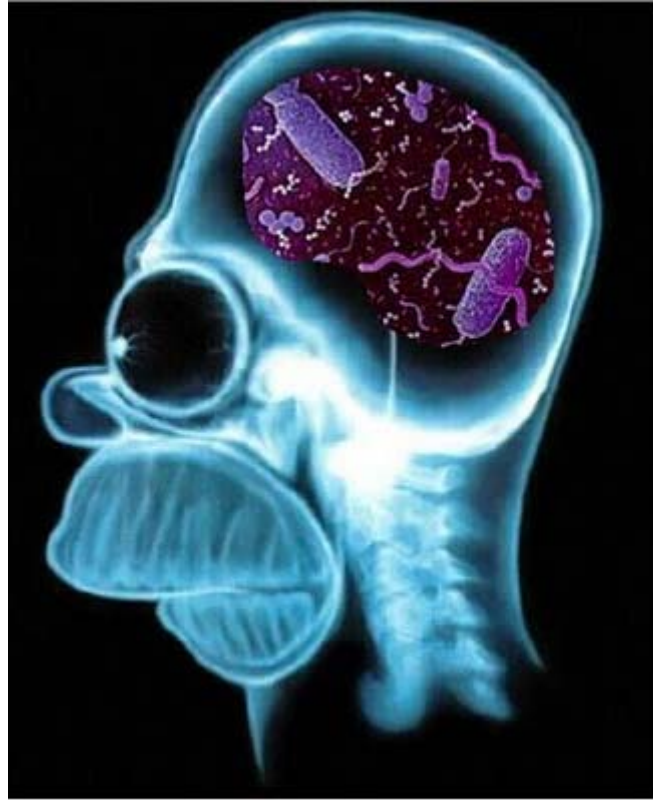
- Los patógenos pueden a veces sobreponer todas las barreras de la inmunidad innata y la microbiota

- Los patógenos se benefician de la respuesta del hospedador

- Como el SI discrimina entre microbiota y patógenos?







Algunos investigadores afirman que la microbiota bacteriana modula el desarrollo del cerebro ( “Normal gut microbiota modulates brain development and behavior” Diaz et al PNAS 2011).

Cuidemos la microbiota...

Gracias!