

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO	
RAD: 13-259753- -4	FECHA: 2014-10-06 16:01:40
DEP: 2020 DIRECCION DE NUEVAS CREACIONES	EVE: 378 FASE NACIONAL INCLUIDO CAPITULO I
TRA: 11 PCT-PATENTE DE INVENCION CAPITULOS I Y II	FOLIOS: 6
ACT: 519 PRESENTACION	

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

2020
Bogotá, D.C.,

Abogado(a)/Señor(a)
ALICIA LLOREDA RICAURTE

Asunto: Radicación: 13-259753- -4
 Trámite: 11
 Evento: 378
 Actuación: 519
 Oficio: 12934
 Folios: 6

Patente de Invención	X			Patente de Modelo de Utilidad	
Vía Nacional					
Vía PCT (Fase Nacional)	X	Capítulo I	X	Capítulo II	
No. Solicitud Internacional	PCT/EP2012/061734				
Fecha de Presentación Internacional	19/06/2012				

Como resultado del examen de fondo realizado, con fundamento en el Artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se comunica:

1. Documentos estudiados

Descripción:	Radicado N° 13-259753-00000-0000	01/Noviembre/2013
Reivindicaciones:	Radicado N° 13-259753-00000-0000	01/Noviembre/2013
Secuencias:	Radicado N° 13-259753-00000-0000	01/Noviembre/2013
Dibujos:	Radicado N° 13-259753-00000-0000	01/Noviembre/2013
Prioridad:	EP 11171027.3	22/Junio/2011

2. Análisis de la Prioridad

Se acepta la reivindicación de prioridad porque ésta solicitud fue presentada dentro del plazo establecido (Art. 9 D 486) y su contenido técnico corresponde con el de la prioridad reivindicada.

3. Objeto de la invención

De acuerdo con lo establecido en el numeral 1.2.2.2 del capítulo primero del Título 10 de la Circular Única para efectos del examen de patentabilidad, se tendrá en cuenta la tasa pagada por la solicitante al momento de comenzar el examen para las reivindicaciones adicionales; esto es que cuando la solicitud contenga más de diez (10)

reivindicaciones y no se haya pagado la tasa complementaria, sólo se estudiarán las cubiertas por la tasa pagada. En el presente caso se estudiarán las reivindicaciones 1 a 20 del capítulo reivindicatorio (Radicado N°. 13-259753-00000-0000).

Título de la solicitud: "ELIMINACION DE CELULAS DIANA POR PARTE DE CELULAS T CITOTOXICAS ESPECIFICAS DE VIRUS UTILIZANDO COMPLEJOS QUE COMPRENDE MHC CLASE I"

El problema planteado en esta solicitud consiste en la necesidad de obtener nuevos complejos con linfocitos T que son células efectoras y células reguladoras clave del sistema inmune. La capacidad de estimular o inhibir las respuestas de células T específicas es una meta importante para la inmunoterapia de cáncer, enfermedades infecciosas, y enfermedades autoinmunes.

Para resolver este problema técnico la solicitud en estudio proporciona un polipéptido de fusión que comprende un anticuerpo y un componente MHC de clase I y su utilización para la eliminación de células diana mediante la atracción dirigida de células T citotóxicas circulantes específicas de virus.

El objeto de la presente solicitud se relaciona con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP):C07K16/46

4. No es una invención (Art 15 D 486 literal(b))

El objeto de las reivindicaciones 1-12 no se considera una invención, de acuerdo con el Art citado, puesto que se evidencia que hace referencia a procesos biológicamente naturales ya que menciona la presentación de los antígenos por el Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC) clase I por medio de moléculas HLA-I. Además se evidencia que dichos métodos no tienen una secuencia de etapas que permitan su respectiva ejecución.

El objeto de las reivindicaciones 13-18 no se considera una invención, de acuerdo con el Art citado, puesto que se evidencia que hace parte de un complejo natural que se genera por el proceso biológico de presentación de los antígenos por el Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC) clase I por medio de moléculas HLA-I. Se evidencia que dicho complejo hace referencia a un péptido derivado de un virus, una β 2- microglobulina, MHC clase I y una inmunoglobulina IgG.

Por otra parte se realizó búsqueda en el estado de la técnica determinada en base en la fecha de presentación de la solicitud de prioridad: Junio 22 de 2011, y se encontraron los siguientes documentos que anticipan el objeto de esta solicitud:

Ítem	Documento	Título	Fecha de Publicación
D1	WO 2005099361	MHC class I - peptide-antibody conjugates with modified β 2-microglobulin	15/Diciembre/2005
D2	US 20040091488	Antigenic constructs of major histocompatibility complex class I antigens with specific carrier molecules, the preparation and use thereof	13/Mayo/2004
D3	Rojas W, Anaya J, Aristizábal B – 14ª edición	Inmunología de Rojas	2007
D4	Martin Michaelis, Hans W. Doerr, Jindrich Cinatl Jr-Neoplasia	The Story of Human Cytomegalovirus and Cancer: Increasing Evidence and Open Questions	Enero/2009

El documento D1¹ divulga métodos para dirigirse a un ligando específico o molécula reguladora a una célula positiva de antígeno mediante la vinculación genéticamente, el dominio especificidad de un anticuerpo específico para ese antígeno a un ligando o citoquina particular. Las proteínas de fusión codificadas de esta manera pueden retener tanto la especificidad de antígeno y la función ligando o citoquinas. La secuencia de codificación de ligando está ligado al extremo carboxilo o amino terminal de una cadena de anticuerpo que puede ser en sí mismo, ya sea total o trunca. (Párr. [0007]).

Según la descripción las SEQ ID No: 12-23, son secuencias péptido conectoras cortas, el documento D1 divulga que la β 2-microglobulina y el péptido antigénico pueden fusionarse directamente, sin ningún engarce intermedio; o puede ser unido por un péptido conector entre el β 2-microglobulina y el péptido antigénico. (Párr. [0036])

El documento D2² divulga procesos de manipulación genética para la preparación de constructos, construcciones antigénicas las cuales son usadas para dañar o eliminar las células diana.

El documento D3³ divulga el procesamiento de un antígeno y su presentación por medio HLA-I (Pág. 118), además el complejo formado cuando este proceso se lleva a cabo, las estructuras y los diferentes componentes que lo caracterizan. (Pág. 102-179)

El documento D4⁴ divulga en la figura 3, los mecanismos de escape inmune mediada por HCMV en las células tumorales. (A) Influencia de HCMV productos génicos citotóxicos lisis de células T en células tumorales B) influencia de los productos de genes (HCMV y microARN) sobre la lisis de las células asesinas naturales en células tumorales. MHC, complejo mayor de histocompatibilidad; TGF- β , β del factor de crecimiento transformante. (Pág. 1-9)

5. De la solicitud de patente

Reivindicaciones (Art 30 D 486, Art 22 PCT)

La reivindicación 20 no se encuentra debidamente sustentada puesto que el problema técnico inicialmente planteado y la solución que aporta la solicitud al estado de la técnica consiste en la identificación de métodos para la producción de un complejo el cual es clave para la respuesta del sistema inmune y nunca se divulgo el diseño de una formulación farmacéutica a base de este complejo, tampoco se divulgan ensayos que sustenten la formulación farmacéutica reclamada, y por otra parte, dicha formulación no se encuentra debidamente caracterizada por sus componentes esenciales: ingredientes, excipientes y sus proporciones. Se sugiere a la solicitante eliminar la citada reivindicación de formulación farmacéutica.

Descripción (Art 28 D 486)

La descripción no divulga la invención de manera suficientemente completa para que la persona del oficio normalmente versada en la materia pueda ejecutarla. Se evidencia que el objeto de la solicitud consiste en la identificación de métodos para la producción de un complejo el cual es clave para la respuesta del sistema inmune, dicho método hace referencia a procesos biológicamente naturales ya que menciona la presentación de los antígenos por el Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC) clase I por medio de las moléculas HLA-I. El complejo de la presente solicitud hace referencia a un

1 http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/description?CC=WO&NR=2005099361A3&KC=A3&FT=D&ND=&date=20051215&DB=&&locale=en_EP

2 http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/description?CC=US&NR=2004091488A1&KC=A1&FT=D&ND=&date=20040513&DB=&&locale=en_EP

3 <http://paltex.paho.org/bookdetail.asp?bookId=IRE14&CatId=MEH>

4 http://ac.els-cdn.com/S1476558609800833/1-s2.0-S1476558609800833-main.pdf?_tid=74c69c10-484e-11e4-8286-00000aacb360&acdnat=1412046433_9e9196ba7030c59581fcd0b46eea86d

péptido derivado de un virus, una β 2- microglobulina, MHC clase I y una inmunoglobulina IgG, lo cual se origina naturalmente.

Se observa que el ejemplo 3 en la parte de resultados hace referencia a la figura 8 de la tabla, la cual no se encuentra en la tabla.

Se le sugiere al solicitante hacer las aclaraciones pertinentes.

6. Determinación del Estado de la Técnica

El estado de la técnica se determino con base en la fecha de presentación de la solicitud de prioridad: Junio 22 de 2011, y se encontraron los siguientes documentos que anticipan el objeto de esta solicitud:

Ítem	Documento	Título	Fecha de Publicación
D1	WO 2005099361	MHC class I - peptide-antibody conjugates with modified β 2-microglobulin	15/Diciembre/2005

El documento D1⁵ divulga composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto en combinación con un vehículo farmacéutico adecuado (Párr. [0122]).

7. Examen de Patentabilidad (Art 14 D486)

Novedad (Art 16 D486)

La reivindicación 20 consiste en: *“Formulación farmacéutica que comprende el complejo según cualquiera de las reivindicaciones 13 a 17 y opcionalmente un portador farmacéuticamente aceptable”* (Radicado N°. 13-259753-00000-00000).

Comparación de las características técnicas esenciales, con las del estado de la técnica:

Características esenciales	D1
Formulación farmacéutica que comprende el complejo según cualquiera de las reivindicaciones 13 a 17 y opcionalmente un portador farmacéuticamente aceptable	Composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto que comprende (a) uno o más complejos de péptido-MHC de clase I; y (b) un anticuerpo o un fragmento del mismo específico para un marcador de superficie celular; en el que dichos complejos de péptido-MHC de clase I comprenden una cadena o fragmento del mismo MHC de clase I, un ss modificado; una molécula de β 2-microglobulina o fragmento del mismo, y un péptido antigénico unido en la ranura MHC; y en donde dicho ss; Molécula de β 2-microglobulina o su fragmento está unido al anticuerpo o fragmento del mismo; y en donde dicho β 2-microglobulina o fragmento ha sido modificado de una manera tal que tiene una mayor afinidad por el MHC de Clase I de un β 2-microglobulina nativo.(reivindicación 1) en combinación con un vehículo farmacéutico adecuado. Tales composiciones comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto y un vehículo

⁵http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/description?CC=WO&NR=2005099361A3&KC=A3&FT=D&ND=&date=20051215&DB=&&locale=en_EP

	farmacéuticamente aceptable o excipiente (Párr. [0122])
--	--

Las características esenciales de la formulación farmacéutica de la reivindicación 20 habían sido divulgadas previamente en el documento D1, el cual da a conocer Composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto que comprende que comprende (a) uno o más complejos de péptido-MHC de clase I; y (b) un anticuerpo o un fragmento del mismo específico para un marcador de superficie celular; en el que dichos complejos de péptido-MHC de clase I comprenden una cadena o fragmento del mismo MHC de clase I, un ss modificado; una molécula de β 2-microglobulina o fragmento del mismo, y un péptido antigénico unido en la ranura MHC; y en donde dicho ss; Molécula de β 2-microglobulina o su fragmento está unido al anticuerpo o fragmento del mismo; y en donde dicho β 2-microglobulina o fragmento ha sido modificado de una manera tal que tiene una mayor afinidad por el MHC de Clase I de un β 2-microglobulina nativo.(reivindicación 1) en combinación con un vehículo farmacéutico adecuado. Tales composiciones comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto y un vehículo farmacéuticamente aceptable o excipiente (Párr. [0122]).

En consecuencia, la reivindicación 20 carece de novedad, según lo divulgado en el documento D1.

8. Conclusión

Los requisitos de Patentabilidad de la presente solicitud están afectados así:

Ítem	Documento	Reivindicaciones afectadas	Requisito que afecta
D1	WO 2005099361	20	Novedad

En cumplimiento del artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le indica que debe dar respuesta dentro del término de sesenta (60) días contados a partir del día siguiente de la fecha de notificación de la presente comunicación. En caso de no dar respuesta al presente requerimiento, o si a pesar de la respuesta subsistieran los impedimentos para la concesión, se denegará la patente.

Se invita al solicitante se sirva indicar, si así lo considera, su renuncia al término faltante de sesenta (60) días para dar respuesta a este requerimiento y presentarla por escrito.

Finalmente, se le recuerda al solicitante que si como respuesta a este requerimiento llegara a modificar el capítulo reivindicatorio y éste contenga más de diez (10) reivindicaciones, no pagará la tasa de modificación voluntaria pero sí la correspondiente al pago por reivindicación adicional.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No. 10 de 2001.



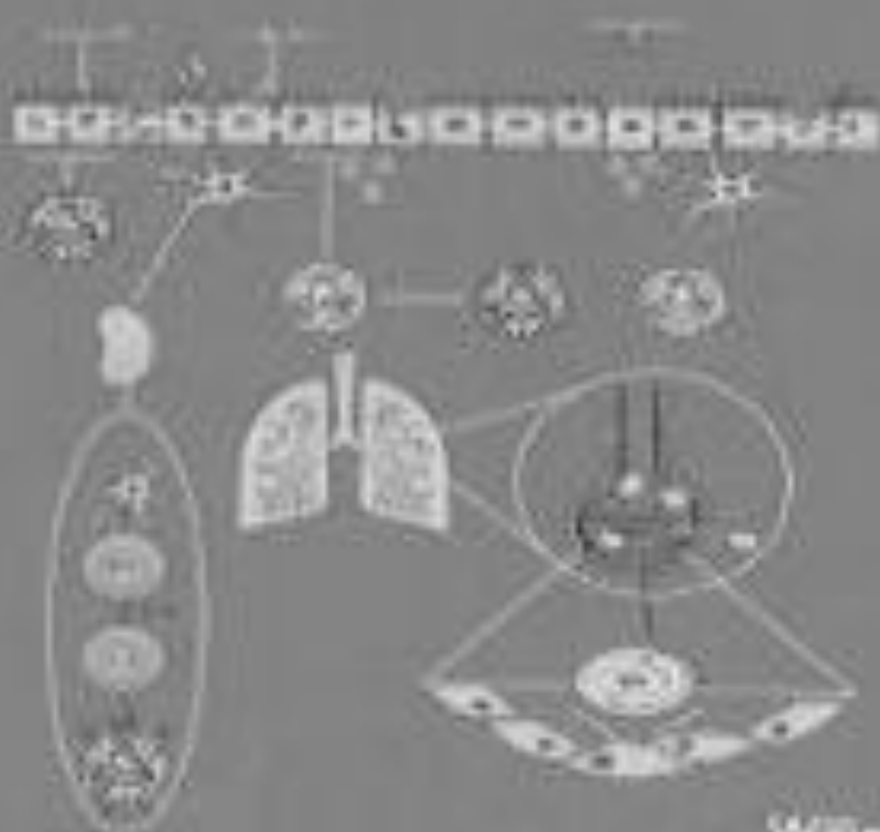
JOSÉ LUIS SALAZAR LÓPEZ
Director de Nuevas Creaciones (c)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista, de fecha 2014-10-14

Elaboró: Juanita Andrea Carvajal
Revisó: Consuelo Leguizamon Leguizamon

14^a
edición

Inmunología de Rojas



William Rojas
Juan-Manuel Anaya
Beatriz Aristizábal
Luz Elena Cano
Luis Miguel Gómez
Damaris Lopera



Antígenos y su presentación a los linfocitos

Luis Miguel Gómez O.
William Rojas M.

7

- Definiciones
- Características de los antígenos
- Clases de antígenos
- Origen de los Ags.
- Procesamiento de los Ags
- Células presentadoras de Ags.
 - Macrófagos
 - Células dendríticas
- Linfocitos B
- Presentación de los Ags por el Complejo Mayor de Histocompatibilidad, MHC
- El MHC y la clínica
- Presentación de antígenos por Sistema CD1
- Otros sistemas génicos y enfermedad

Los Ags son las moléculas inductoras de la respuesta inmune adquirida. Son capturados por los fagocitos y presentados a los Ls, a los cuales activan. Estudiaremos en este capítulo sus características y las moléculas que los presentan a los linfocitos conocidas como Complejo Mayor de Histocompatibilidad, MHC y sistema CD1.

DEFINICIONES

Antígeno, Ag. es toda molécula capaz de inducir una respuesta inmune, por lo cual se le conoce también como **inmunógeno**. Puede ser de origen externo, fruto de la degradación de microorganismos fagocitados, o interno, que se generan en las células que han sido invadidas por un virus o que sufren una degeneración maligna. Inicialmente se denominaba antígeno a la molécula capaz de inducir la producción de anticuerpos, Acs. Hoy se emplea el término en forma más amplia para denominar tanto a las moléculas que activan a los LsB, responsables de la inmunidad humoral, como a los LsT, que lo son de la inmunidad celular.

Determinante antigénico o epítopo. No todas las partes de un microorganismo tienen la capacidad de inducir una respuesta inmune.

kDa, la porción capaz de inducir la puede estar limitada a unos cuantos aminoácidos y se conoce como epítopo. Una macromolécula puede presentar varios determinantes antigénicos diferentes entre sí y cada uno de ellos genere una respuesta inmune distinta y específica que de ser de tipo humoral, dará origen a tantos tipos de Acs diferentes como cuantos epítopos distintos estén presentes en la molécula.

CARACTERÍSTICAS DE LOS ANTÍGENOS

Inmunogenicidad. La producción de una adecuada respuesta inmune requiere una determinada concentración del Ag. Muy pocas pequeñas cantidades o grandes cantidades de mismo, pueden alterar la respuesta. Pequeñas dosis inoculadas repetidamente pueden inducir tolerancia. Por otra parte, la introducción

un Ag puede dar lugar a la llamada parálisis inmunológica. Es el caso de la neumonía lobulillar, en la cual la rápida proliferación del neumococo da lugar a la liberación de tal cantidad de Ags, que estos no pueden ser manipulados oportunamente por el sistema inmune, produciéndose una parálisis inmunológica inicial.

Origen. El poder de un Ag para inducir una respuesta inmune es tanto mayor cuanto más extraño sea el organismo en el cual penetra. Una proteína incapaz de producir una respuesta inmune en un animal de la misma especie puede ser potente inmunógeno cuando se inyecta en otra especie animal. La albúmina humana, inyectada de un individuo a otro, no produce respuesta inmune; en cambio, en el conejo desencadena la producción de una gran cantidad de Acs contra ella. Algunos aloantígenos, antígenos comunes a individuos de una misma especie, pueden, bajo determinadas circunstancias, producir una respuesta inmune en individuos de la misma especie.

Complejidad de la molécula. Mientras más compleja sea la molécula inmunogénica, mayor será su capacidad de inducir una respuesta inmune. Los polipeptidos lineales son más débiles como Ag que los polipeptidos de igual peso molecular pero con ramificaciones de cadena. El aminoácido terminal de las cadenas laterales es igualmente importante. Los Ags sintéticos con una cadena básica de polilisina serán antígenicos o no, dependiendo de las secuencias de aminoácidos de las cadenas laterales. Por ejemplo, una cadena lateral de tres aminoácidos, Glu-His-Ala, confiere antigenicidad a la molécula si se une a la cadena vertebral de polilisina por la alanina, dejando libre la porción glutamil-tirosina. Pero, si por el contrario, la cadena lateral se une a la vertebral por el segundo glutamil-tirosina, quedando en libertad la alanina, la molécula no es antígenica (Fig. 7-1).

Tamaño de las moléculas. Las moléculas de peso molecular inferior a 5 000 kDa rara vez son inmunogénicas, salvo cuando están unidas a una proteína portadora. En cambio, las moléculas de 100 000 o más kDa de peso molecular suelen ser potentes Ags. Las células extrañas al organismo o los gérmenes, como

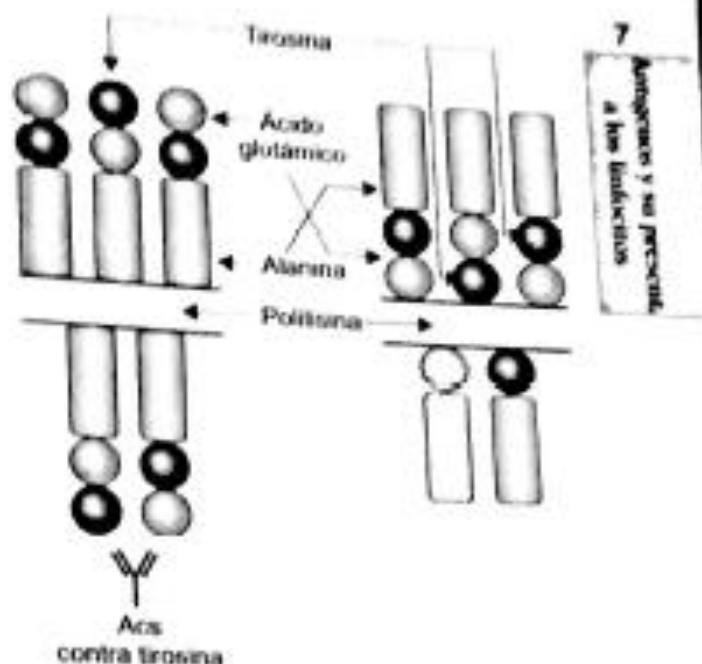


Figura 7-1. Complejidad de las moléculas y capacidad antigénica. La parte más expuesta de una molécula es la más antigénica. Los aminoácidos expuestos inducen Acs contra ellos.

bacterias, hongos, virus y parásitos, tienen gran potencial inmunogénico dado su contenido en Ags de alto peso molecular.

Características químicas. Ciertos grupos de terminaciones químicas confieren mayor capacidad antigénica a una molécula. Las ácidas o básicas fuertes, los aminoácidos como la tirocína y la fenilalanina, o los grupos aromáticos como el benceno, incrementan la respuesta inmune (Fig. 7-2).

Configuración óptica. Los polipeptidos con aminoácidos dextrógiros no son inmunogénicos, por su resistencia a ser degradados por las proteasas. En cambio, los levógiros, que se dejan degradar fácilmente, son buenos inmunógenos.

Carga eléctrica. Las moléculas cargadas eléctricamente suelen tener mayor poder inmunogénico que las neutras. El dextrán, es una excepción, es eléctricamente neutro, pero puede, en algunos individuos, inducir una respuesta inmune.

Reactividad de anticuerpos con diferentes haptenos

Antisuero contra	Aminobenceno (anilina)	Ácido o-Aminobenzoico	Ácido m-Aminobenzoico	Ácido p-Aminobenzoico
Aminobenceno	+++	0	0	0
Ácido o-Aminobenzoico	0	+++	0	0
Ácido m-Aminobenzoico	0	0	++++	0
Ácido p-Aminobenzoico	0	0	0	+++ / +++

Figura 7-2. Estructura química y capacidad antigénica. La configuración global de los haptenos juega un papel muy importante en la determinación de si pueden o no reaccionar con los Acs. Por ejemplo, el antisuero de conejos inmunizados con aminobenceno o uno de sus derivados carboxílicos (ácido o-aminobenzoico, ácido m-aminobenzoico o ácido p-aminobenzoico) acoplados a proteínas transportadoras reaccionan sólo con el hapteno original y no hacen reacción cruzada con los otros haptenos. Sin embargo, si se modifican el hapteno en la posición para con derivados no iónicos se presenta reacción cruzada entre los diferentes haptenos. 0: sin reactividad; +++ y +++, reactividad fuerte.

Vías de ingreso. La mayoría de los Ags ingresan por vía aérea o digestiva. Accidentalmente pueden hacerlo por heridas o picaduras de insectos. Cuando se emplean con fines terapéuticos, como es el caso de las vacunas, se pueden aplicar intradérmicamente, subcutáneamente o intramuscularmente. La vía de ingreso del Ag puede modificar la intensidad de la respuesta inmune.

CLASES DE ANTÍGENOS SEGÚN SU COMPOSICIÓN QUÍMICA

Los antígenos pueden ser proteínas, lípidos, carbohidratos o ácidos nucleicos, o sus combinaciones.

Proteínas

Las proteínas pueden tener diferentes estructuras: primaria, que consiste en una cadena lineal de aminoácidos, que en conjunto o un segmento de ella constituyen un epítipo; secundaria o terciaria, en la cual la cadena polipeptídica se pliega en diferentes formas dando lugar a distintos tipos de epítopos (Fig. 7-3).

Los determinantes antigénicos pueden estar formados por distintos aminoácidos de una molécula proteica, ubicados distantes unos de otros, pero que se aproximan entre sí por la configuración tridimensional de la molécula (Fig. 7-4).

En otros la porción antigénica de una cadena está oculta y solo actuará como tal cuando la molécula es desnaturizada y pueda entonces exponer el epítipo. Otras moléculas presentan a lo largo de una cadena plegada diferentes epítopos, que actuarán individualmente al ser desnaturizada la molécula.

La modificación de las proteínas propias del organismo, por infecciones virales y por agentes físicos o químicos, adquiere gran importancia desde el punto de vista de la inmunogenicidad. Los factores mencionados pueden alterar la estructura molecular de las proteínas propias del organismo y convertirlas en sustancias inmunogénicas como ocurre en algunas de las enfermedades autoinmunes. Los polipéptidos sintéticos han sido muy útiles desde el punto de vista experimental, porque han permitido demostrar algunas de las características responsables de la antigenicidad de

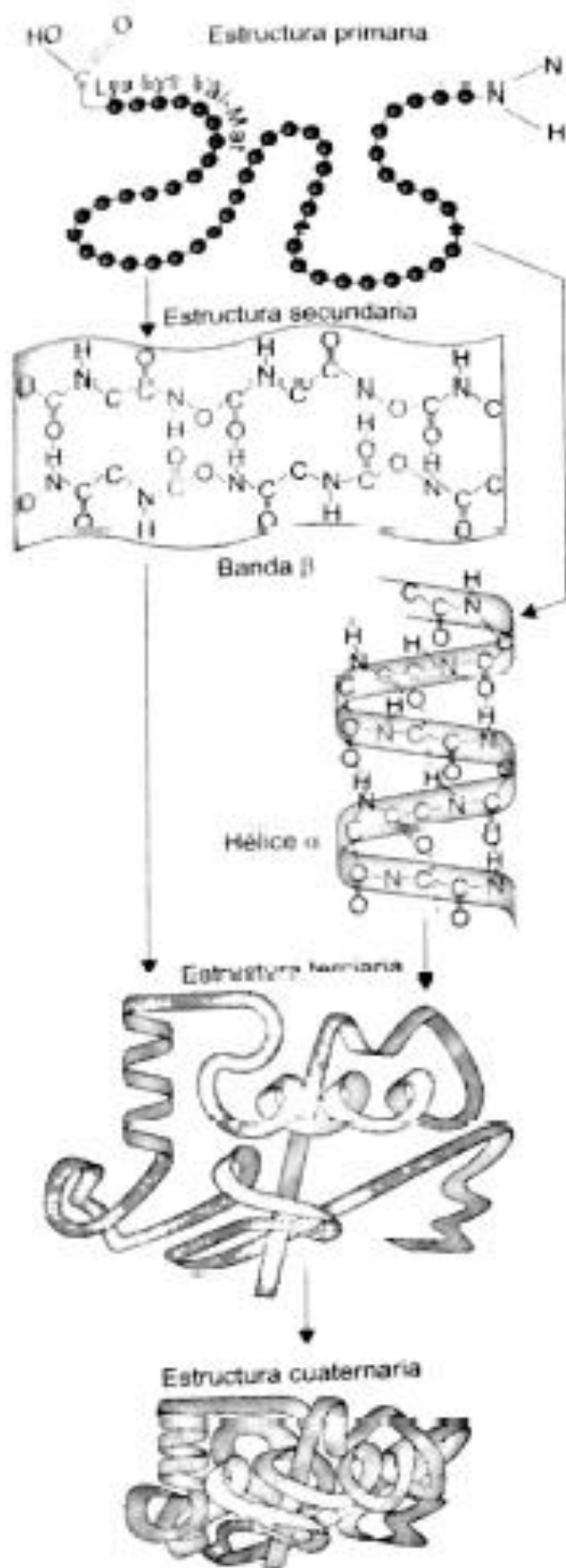


Figura 7-3. Estructura primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria de las proteínas. (Para más detalles ver texto).

determinadas sustancias. Así, por ejemplo, los monómeros de un solo aminoácido no son antígenos, pero si la complejidad de la molécula aumenta, aparece la capacidad para inducir una respuesta inmune. Los polímeros de tres o más aminoácidos muestran capacidad antigénica. La manipulación de estos polímeros, agregándoles cadenas laterales y modificando su configuración espacial, permite demostrar cómo se va incrementando la capacidad antigénica.

Muchas proteínas, como las enzimas, son cadenas simples de aminoácidos. Otras están asociadas a compuestos químicos y se conocen como proteínas conjugadas. Pueden ser clasificadas de acuerdo a su grupo prostético en lipoproteínas, glucoproteínas, fosfoproteínas y metaloproteínas. Algunas se asocian a lípidos, azúcares, grupos fosfato o a metales respectivamente.

La antigenicidad se puede perder por desnaturalización de la molécula debida a la acción de diferentes agentes físicos y químicos que fragmentan la porción antigénica de la proteína.

Proteínas de choque térmico o de estrés. Se denominan así una serie de proteínas que se generan cuando una célula es sometida a un cambio brusco de temperatura o a otro estrés de tipo químico. Se trata de una familia de moléculas, unas de las cuales se producen de manera constitutiva dentro de las células y actúan como moléculas chaperonas, que se ligan a los polipéptidos generados en el retículo endoplasmático y las acompañan hasta las diferentes organelas en donde adquieren su estructura tridimensional, evitando que en ese tránsito puedan ser degradados. Otro grupo son liberadas cuando una célula es invadida por un parásito. Algunas son antigénicas y otras pueden transportar péptidos a la membrana celular para presentarlos a células del sistema inmune.

Carbohidratos

Están adquiriendo creciente importancia en el estudio de fenómenos biológicos y desde luego en los relacionados con la inmunología. La dificultad técnica para aislarlos había retrasado la adquisición de un adecuado conocimiento sobre ellos. Las combinaciones y modificaciones de las diferentes moléculas de carbohidratos generan una mayor diversidad de

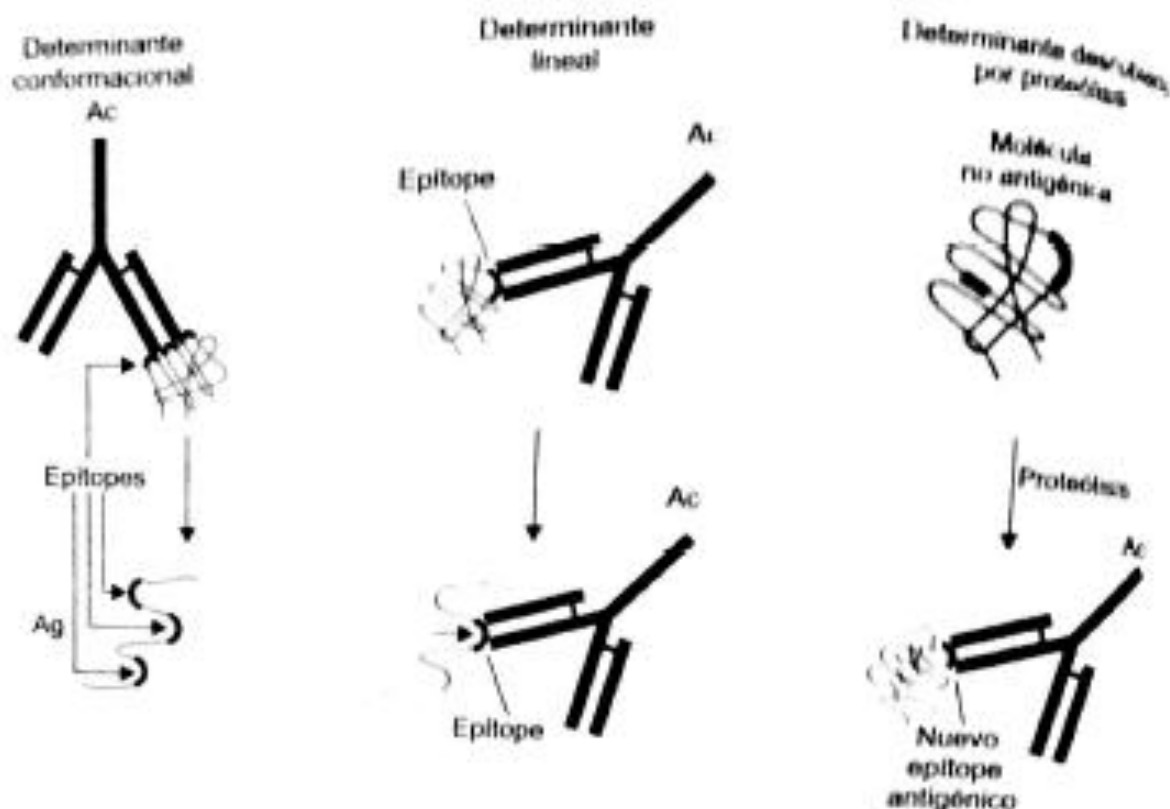


Figura 7-4. Estructura tridimensional de diferentes Ags que afecta el reconocimiento por Acs. A la izquierda un Ag globular, en el cual los aminoácidos que conforman el epítopo antigénico están distantes uno de otros. En el centro un Ag lineal. A la derecha, el Ag aparece al ser destruida la molécula.

moléculas que la que es posible obtener con la combinación de los distintos constituyentes.

Un monosacárido de mucha importancia en la respuesta inmune innata es la manosa, por estar presente en la membrana de varias bacterias y por ser reconocida por un receptor específico para ella presente en los fagocitos, como lo vimos en el capítulo 5.

La capacidad antigénica de las glucoproteínas y los glucopéptidos está dada más por las cadenas de carbohidratos que por la parte proteica. En este tipo están los Ags de los grupos sanguíneos A y B. El organismo humano produce "espontáneamente" Acs contra algunos de estos Ags, que son responsables de las reacciones transfusionales de sangre mal clasificada. Otras glucoproteínas de importancia como Ags, están presentes en la membrana de algunas células tumorales y se conocen como Ags tumorales.

El hombre y el ratón responden muy bien inmunológicamente a los antígenos naturales, mientras que el conejo lo hace muy pobremente. Los humanos responden a la presencia de polisacáridos en la cápsula de los pneumo-

cocos, produciendo una serie de Acs cuya determinación en la sangre, permite la clasificación de las distintas especies de neumococo. Los grupos hexosos son los responsables de la antigenicidad de los polisacáridos.

La importancia de los sacáridos en la respuesta inmune se pone claramente en evidencia con el logro de una vacuna efectiva contra *Haemophilus influenzae* lo cual solo fue posible cuando se identificaron los determinantes antigenicos de carbohidratos expresados por esta bacteria. Esta vacuna puede estar salvando 400,000 vidas al año y evitando un gran número de casos de meningitis en niños. Desafortunadamente en el mundo subdesarrollado aún mueren 600,000 niños al año por infecciones con este germen por falta de vacunación. Los Ags tipo carbohidratos son reconocidos por las células del sistema inmune por medio de receptores para lectinas tipo C, conocidos como CLRs.

Lípidos

Son por lo general moléculas no inmunogénicas. Se exceptúan algunas pocas que como la

carbóhidrato inducen la formación de Acs. No obstante, si se asocian con moléculas proteicas o polisacáridos pueden ser buenos Acs.

Los lípidos lagocitados son transportados en el interior de las células por proteínas portadoras conocidas como **saponinas**, que facilitan su digestión en el endosoma y su ubiquitina en el holoide que para ellos tienen las moléculas CD1 para su presentación a los T_H 1 y 2. La molécula CD1a presenta lipopeptidos de micobacterias, la CD1b glicopeptidos, también de micobacterias y la CD1d lípidos propios del hospedero como fosfatidilserina.

Los **lipopolisacáridos** de las endotoxinas de gérmenes gramnegativos, (shigelas y salmonelas), inducen la producción de Acs de la clase M.

Ácidos nucleicos

El DNA hipometilado y las secuencias CpG son antigénicas. Adquieren especial importancia en algunos procesos autoinmunes en los cuales se producen Acs contra el DNA.

Variedad de Acs en los microorganismos. Estos por poseer proteínas, polisacáridos y lipopolisacáridos obran como inmunógenos polivalentes. Los distintos componentes de su membrana celular pueden ser antigénicos, así como algunos de sus productos. Los Acs llamados "O" corresponden al soma del germen, mientras que los "K" corresponden a los capsulares y los "H" a los presentes en los cilios. Las exotoxinas son potentes Acs. En el laboratorio de diagnóstico, el empleo de Acs contra distintos Acs presentes en algunas bacterias, permite hacer clasificaciones por medio de sueros específicos que contienen los Acs respectivos. En esta forma es posible determinar el tipo de neumococo o salmonela responsable de determinado proceso infeccioso.

Los avances tecnológicos que permiten separar los distintos componentes de las bacterias tales como la pared celular, membrana, flagelo, pili, cápsulas, etc., han facilitado establecer su estructura con lo cual se ha logrado llegar a la caracterización química de los distintos componentes inmunogénicos.

Durante la autólisis que tiene lugar *in vivo*, muchos microorganismos liberan moléculas de su citoplasma con gran capacidad inmunogénica. La pared celular de las bacterias

tiene una serie de moléculas capaces de estimular el sistema inmune como proteínas, ácidos nucleicos, polisacáridos, lípidos y macromoléculas como peptidoglucanos, lipopolisacáridos, lipoproteínas, etc.

La cápsula está hecha de una red de fibras unidas estrechamente en la periferia con la cual se da rigidez a la cápsula. Esta compuesta primordialmente por polisacáridos de 2 o más monosacáridos, y de una gran variedad que otorgan al microorganismo gran diversidad antigénica. No obstante, algunos de estos polisacáridos son iguales o similares en varias bacterias, lo que da origen a reacciones de inmunogenicidad cruzada, es decir, que los Acs van a reaccionar indistintamente con varios microorganismos de especies diferentes. Los peptidoglucanos de la pared celular, tanto de grampositivos como de gramnegativos, deben su capacidad antigénica a un pentapéptido compuesto por Ala-Gly-Lys-Ala-L-Ala. Esta parte de la molécula está presente en peptidoglucanos de muchas especies de bacterias, por lo cual puede dar lugar a antigenicidad cruzada. La asociación de peptidoglucanos con polímeros o con ribul, glicerol y ácido teicoico constituye la base molecular para la especificidad antigénica de estreptococos, lactobacilos, estafilococos y estreptococos.

Haptenos y moléculas portadoras. Se conoce como haptenos a moléculas químicas incapaces de inducir una respuesta inmune por sí solas, pero que sí lo hacen en asociación con otra molécula llamada portadora. Suelen ser proteínas de bajo peso molecular, o moléculas químicas no proteicas. La respuesta inmune puede llevar a la producción simultánea de Acs contra el hapteno y contra la proteína portadora. A pesar de su gran tamaño, el DNA es una molécula no inmunogénica, pero que se comporta como hapteno, ya que puede inducir una respuesta inmune cuando está asociada con otra molécula proteica.

Desde el punto de vista de la respuesta inmune, el complejo hapteno-proteína portadora requiere la colaboración entre los LsT y los LsB. Algunas de las reacciones alérgicas de los LsB. Algunas de las reacciones alérgicas contra fármacos se deben a que metabolitos de fármacos, sin capacidad inmunogénica de por sí, se asocian con moléculas proteicas portadoras y se convierten en inmunógenos. El

ácido penicilínico, metabolito de la penicilina y responsable de las reacciones alérgicas a este medicamento, obra como hapteno.

Adyuvantes. Son sustancias que inyectadas conjuntamente con un Ag débil, potencian la actividad inmunogénica de este. El más conocido es el adyuvante de Freund, que consiste en una mezcla de aceite mineral, cera y micobacterias inactivas. La inyección de un Ag con este adyuvante produce una fuerte reacción local e induce la formación de Acs contra el Ag.

En la práctica clínica se usan adyuvantes que no ocasionan la fuerte reacción local que produce el de Freund, aun cuando su capacidad inmunogénica es menor. Los Ags de difteria y el tétanos tetánico se tratan con compuestos de aluminio, con miras a incrementar su capacidad inmunogénica. Los adyuvantes parecen actuar impidiendo la liberación brusca del Ag y permitiendo una liberación lenta y paulatina que prolonga, por varios días, el estímulo antigénico. Por otra parte, es posible que incrementen la actividad fagocítica de los Mφ, permitiendo la digestión del Ag y una más adecuada presentación a los linfocitos.

ORIGEN DE LOS ANTÍGENOS

Xenoantígenos. Se llama así a los que se originan en una especie diferente a la inmunizada.

Haloantígeno. Son los que provienen de un individuo de la misma especie pero diferente genéticamente.

Autoantígeno. Es aquel que está presente en las células del mismo individuo contra el cual se han desarrollado Acs o clones de células T inmunológicamente activas. Como se verá más adelante, el organismo adquiere durante la vida fetal y las primeras semanas de vida, tolerancia a sus propios Ags. No obstante por procesos inmunes, físicos, químicos o infecciosos, esta tolerancia puede romperse durante el curso de la vida del individuo y originarse la reacción inmunológica contra sus autoantígenos desarrollándose en esta forma una enfermedad autoinmune.

Antígenos órgano-específicos

El cristalino, la tiroglobulina y proteínas de la glándula suprarrenal, son ejemplos de Ags con especificidad de órganos, y los Acs producidos contra ellos poseen la capacidad de destruir las proteínas propias de determinados órganos que se encuentran presente en animales de distinta especie. Esto facilita el empleo de Acs inmunofluorescentes para detectar muchos procesos autoinmunes. Si se quiere estudiar, por ejemplo, si determinado plasma humano posee Acs contra la glándula suprarrenal, o contra el epitelio del endórgano, o contra el cristalino, se puede acudir al empleo de cortes histológicos de estos tejidos obtenidos de otras especies animales como el conejo. Estos cortes histológicos se ponen en contacto con el plasma en estudio, que si tiene Acs se fijarán a los Ags presentes en el tejido del corte. Con el empleo de Acs contra las inmunoglobulinas humanas marcadas con fluoresceína, es posible definir si en el plasma de un paciente hay Acs contra el órgano en estudio. Este proceso de inmunofluorescencia indirecta permite probar en tejidos Acs que pueden ser responsables de procesos autoinmunes, sin necesidad de tomar biopsias de tejidos humanos (ver el capítulo sobre evaluación del estado inmunológico).

Antígenos específicos de especie. Son los que se encuentran en todos los individuos de una misma especie y que difieren de los Ag análogos de otras especies. Algunos animales tienen gran especificidad de su respuesta frente a algunos de ellos. El conejo diferencia inmunológicamente con gran exactitud el suero del ratón del suero de la rata, pero es incapaz de diferenciar el suero del pollo del suero del ganso.

Antígenos ocultos. El cristalino, por falta de irrigación sanguínea y/o linfática, el testículo por la barrera hematoencefálica y el testículo por la barrera conformada por las células de Sertoli, tienen Ags que están excluidos al contacto con el sistema inmune específico. No obstante, un trauma puede poner en contacto proteínas del cristalino con el sistema inmune y desencadenará una reacción contra este tejido. Las vacunas contra la rabia que se usaban anteriormente, preparadas en médula ocular de conejo, se acompañaban de impurezas de

tema nervioso del conejo que tenían antigenicidad cruzada con el sistema nervioso central del humano y frecuentemente producían reacciones adversas que daban lugar al desarrollo de una encefalitis. La ligadura del epididimo como medida anticonceptiva en el hombre, puede desencadenar inflamaciones testiculares que rompen la barrera establecida por las células de Sertoli y dar lugar a la inducción o aparición de Acs contra espermatozoides. Algo similar puede ocurrir en otros procesos inflamatorios del testículo.

Antígenos tumorales. Muchos tumores presentan en la membrana de sus células moléculas específicas que pueden ser reconocidas por el sistema inmune y que permiten, como se verá en el capítulo de cáncer, su utilización en procedimientos de Dx o de inmunoterapia.

Antígenos heterófilos. Son aquellos presentes en varias especies de animales y que son compartidos por bacterias, hongos y vegetales. En la clínica se acude a este fenómeno para facilitar el diagnóstico de algunas entidades. Así, por ejemplo, durante el curso clínico de las mononucleosis infecciosas se producen Acs heterófilos que reaccionan con Ag presentes en los glóbulos rojos de carnero y producen su aglutinación espontánea cuando se ponen en contacto con el suero del paciente que han sufrido la infección.

Antígenos de reacción cruzada. La reacción Ag-Ac suele ser de gran especificidad. Sin embargo, ocasionalmente algunos Acs reaccionan con moléculas que no han obrado como Ag pero que se asemejan en su estructura a éstos y confunden al Ac. Este fenómeno explica algunas reacciones de autoinmunidad. Así, los Acs producidos contra determinadas cepas de estreptococo beta hemolítico reaccionan cruzadamente con los Acs presentes en la sinovial de las articulaciones y en distintos tejidos del corazón o de los riñones, con lo cual se inicia una respuesta inmune equivocada y nociva conocida como fiebre reumática.

En el laboratorio se emplea este fenómeno para algunas pruebas de diagnóstico. *Proteus OX19* posee antigenicidad cruzada con *Rickettsia prowazekii* y *R. rickettsii*, propiedad que

permite su empleo en las reacciones de diagnóstico de Weil-Felix.

Alergenos. Son moléculas inocuas para la mayoría de los individuos, que solo inducen respuesta inmune en aquellos predispuestos genéticamente. Por lo general son proteínas y glucoproteínas y pocas veces carbohidratos. El individuo genéticamente predispuesto produce Ig de la clase E contra estos alérgenos. La IgE es la responsable de producir las respuestas inflamatorias agudas, característica de las reacciones alérgicas que estudiaremos en el capítulo correspondiente.

Antígenos modificados. Por manipulaciones especiales se puede alterar una molécula antigénica, cambiando así algunas de sus propiedades, en tanto que se conservan otras. La toxina tetánica, por ejemplo, tratada con formol, pierde su efecto tóxico, pero conserva su antigenicidad. Así tratada se emplea para inducir una respuesta inmune que protege contra las toxinas producidas durante la enfermedad. Estas toxinas modificadas químicamente se denominan **toxoides** y son ideales para procedimientos de inmunización, porque sin producir enfermedad "enseñan" al sistema inmune a iniciar una defensa adecuada contra el Ag.

Fotoantigenicidad. Algunas sustancias nativas, como el DNA, son pobres antigénicamente, pero cuando se les expone a la luz ultravioleta, pueden convertirse en Acs potentes. Este fenómeno es responsable en parte del lupus eritematoso.

Antígenos de los eritrocitos. La membrana del glóbulo rojo presenta varias moléculas antigénicas, que permiten su clasificación en distintos grupos y subgrupos. Por otra parte, la producción de Acs contra estos Ags origina reacciones transfusionales cuando la sangre transfundida es de un grupo diferente al del receptor. Los glóbulos rojos pueden ser clasificados según los Ags, en A, B, O, Rh, Lewis, MN, P, Kell, Duffy y Kidd, etc.

Antígenos de los leucocitos. Los leucocitos poseen en su membrana Acs no presentes en los eritrocitos, pero que se encuentran

en casi todas las demás células nucleadas del organismo. Tienen gran importancia en la inmunogenética y en el control de la respuesta inmune, y los estudiaremos con mayor detenimiento más adelante bajo el subtítulo de Complejo Mayor de Histocompatibilidad, MHC.

Superantígenos. Algunas toxinas bacterianas activan el sistema inmune al unirse a Ags HLA clase II y al TCR en una forma diferente a la presentación normal de un determinado Ag, reciben la denominación de superantígenos (Fig. 7-5). Normalmente un Ag activa solo 0,0001% de los LsT. Los superantígenos al unirse externamente tanto al HLA-II como al TCR activan hasta un 20% de los LsT. (Ver capítulo de Inmunidad Celular).

Los principales se encuentran en *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*. Es posible que algunas yersinias y micoplasmas produzcan igualmente algunos superantígenos. El producto de algunos genes de retrovirus actúan también como superantígenos. Son responsables de desencadenar varios de los mecanismos del síndrome séptico. Aun cuando la participación bacteriana en el desarrollo de las enfermedades inflamatorias del intestino se ha sospechado desde hace muchos años, no ha sido probada satisfactoriamente. Se cree que algunos de los 20 superantígenos bacterianos identificados hasta hoy, sean responsables de la afección.

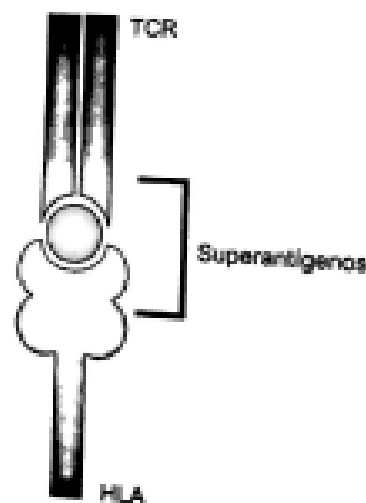


Figura 7-5. Superantígenos. Obsérvese cómo éste hace un puente entre la molécula HLA y el TCR.

Muchas moléculas complejas deben ser procesadas para inducir una respuesta inmune adecuada. Esta función la cumplen principalmente los Mac y las DCs que admiten ingresar microorganismos, los digieren especialmente en su fagosoma en donde seleccionan los segmentos inmunogénicos, los unen a moléculas del MHC, llamados HLA-II y los exportan a la membrana para su presentación a los LsT CD4+.

La inmunidad adquirida detecta también patógenos intracelulares y los ataca, a ellos y a las células que los albergan, por medio de los LsT citotóxicos conocidos como LsT CD8+. Estos linfocitos reconocen péptidos de 8 a 11 aminoácidos que resultan de la degradación de proteínas de mayor tamaño originadas en el interior de las células y que son degradadas por el proteosoma en péptidos pequeños.

Los péptidos o antígenos así generados se unen dentro del retículo endoplasmático a una molécula del MHC, pero de la clase IIIA y es igualmente llevado a la membrana celular para su presentación al LsT CD8+. Este mecanismo es especialmente útil en el control de las infecciones virales. No obstante, algunos virus como el Epstein Barr poseen un antígeno nuclear, el EBNA1, que tiene en el extremo amino compuestos repetitivos de glicina y serina que impiden que el proteosoma pueda degradarlo con lo cual evitan el que esa molécula sea presentada en la membrana celular.

Este proceso se cumple en el proteosoma, este organelo tiene la forma de tunel, está formado por 20 o más proteínas que al degradar una molécula proteica generan los péptidos antigénicos por digestión de las proteínas. Éstas son conducidas a su interior por una molécula presente en el citoplasma conocida como ubiquitina (Fig. 7-6).

Remoción y destrucción del antígeno

La descamación continua del epitelio de la piel es un factor mecánico que remueve muchos Ags que se ponen en contacto con ella. El pelo y el sudor tienen un efecto similar. Las secreciones y mucus de los tractos respiratorio, gastrointestinal y genitourinario son igualmente importantes en la remoción de Ags. Cuando éstos traspasan alguna de estas barreras, se

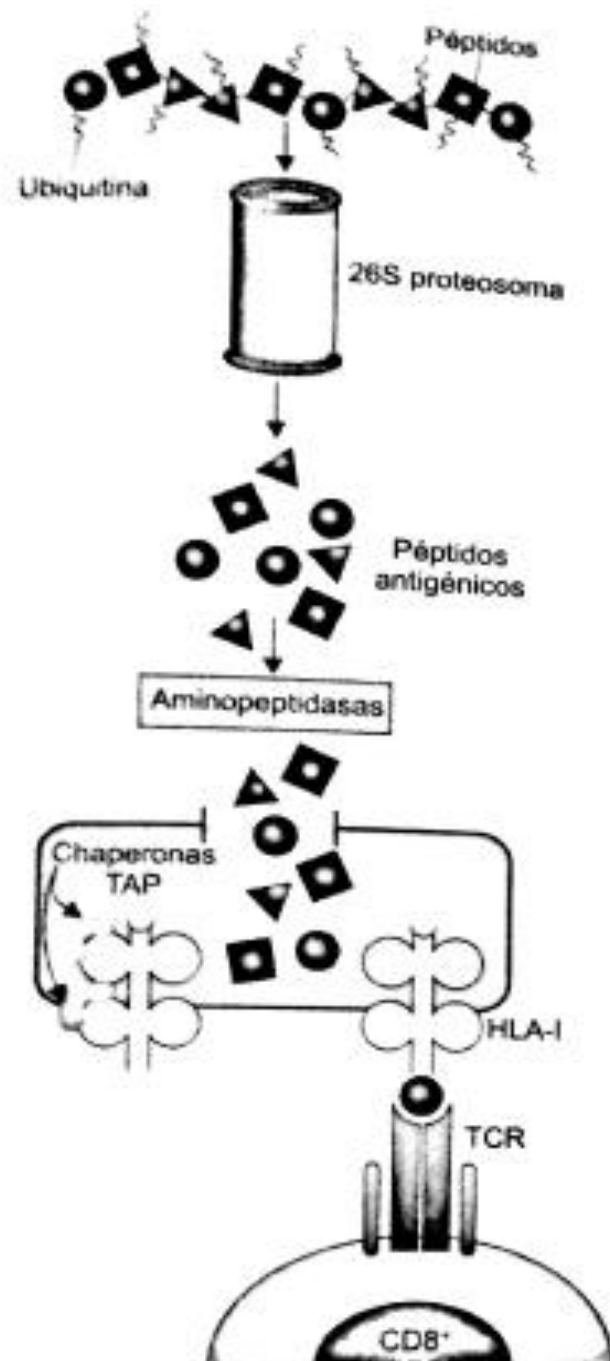


Figura 7-6. Estructura del proteosoma y su función en el procesamiento de Ags. La proteína que contiene los epitopes para moléculas MHC clase I son marcados por una cadena de multiubiquitinas encargada de conducirlos al tunel del proteosoma para su degradación. El procesamiento en el proteosoma da como resultado la generación de pequeños péptidos que son transportados al retículo endoplásmico por una molécula chaperona conocida como TAP. Luego el Ag se une a las moléculas MHC clase I para ser presentado a un linfocito T CD8+ o citotóxico.

rápidamente fagocitados, proceso que permite extraer de ellos los radicales de mayor capacidad inmunogénica, para inducir una respuesta inmune específica por medio de una adecuada estimulación de los linfocitos a nivel de ganglios linfáticos o del bazo. La producción de Acs y linfoquinas tendrá como resultado la destrucción de Ags, directamente por fagocitos libres o por el sistema reticuloendotelial. A nivel de las mucosas, los Acs tipo IgA pueden reaccionar con el Ag antes de que éste se ponga en contacto con las mucosas e impedir su adherencia y posterior penetración. Si el Ag gana acceso al torrente circulatorio, es rápidamente filtrado en el bazo y destruido por el sistema reticuloendotelial.

En el Capítulo 15 se estudian las diferentes reacciones Ag-Ac *in vivo* e *in vitro* que sirven de base a pruebas de diagnóstico.

CÉLULAS PRESENTADORAS DE ANTÍGENOS (APC)

Tres tipos de células, las DCs, los Mφs y los LsB se conocen como células profesionales presentadoras de Ags. El sistema inmune por medio de ellas selecciona de las células o microorganismos la(s) molécula(s) más inmunogénica(s) para presentarlas a los LsT.

Algunas células infectadas con virus o parásitos pueden actuar como tales. Los LsT, a diferencia de los LsB, no reconocen Ags solubles y solo pueden reaccionar con aquellos que sean presentados por moléculas del MHC o por las CD1.

Algunos Ags pueden ser captados directamente por los LsB por lo cual se conocen como timo-independientes en tanto que otros, la mayoría, deben ser reconocidos por los LsT y se denominan timo-dependientes.

Células dendríticas, DC

Origen y localización. Derivan directamente de la célula madre de la médula, CD34+, en 2 líneas diferentes. Una que da origen a monocitos, que en caso de inflamación pueden transformarse en DCs y otra que da origen a los macrófagos fijos y a las DCs residentes en los tejidos y que tienen el fenotipo CD11.

En el organismo se encuentran en diferentes formas: 1) Células en velo, llamadas así porque su citoplasma tiene prolongaciones delgadas que recuerdan un velo (Fig. 7-7). Estas se encuentran en la sangre en tránsito hacia la piel, mucosas u órganos linfoides secundarios. 2) En el bazo, ganglios linfáticos y timo se conocen como células interdigitadas. 3) En la piel como células de Langerhans, que se caracterizan por un organelo especial en

su citoplasma, llamado gránulos de Birbeck, visibles únicamente a la microscopía electrónica. Constituyen un 5 a 8% de las células de la epidermis. 4) En todas las mucosas intercaladas entre las células epiteliales. 5) En todos los órganos, con excepción del cerebro. 6) En el sistema nervioso central los astrocitos son las células presentadoras de Ag y posiblemente pertenecen al mismo sistema.

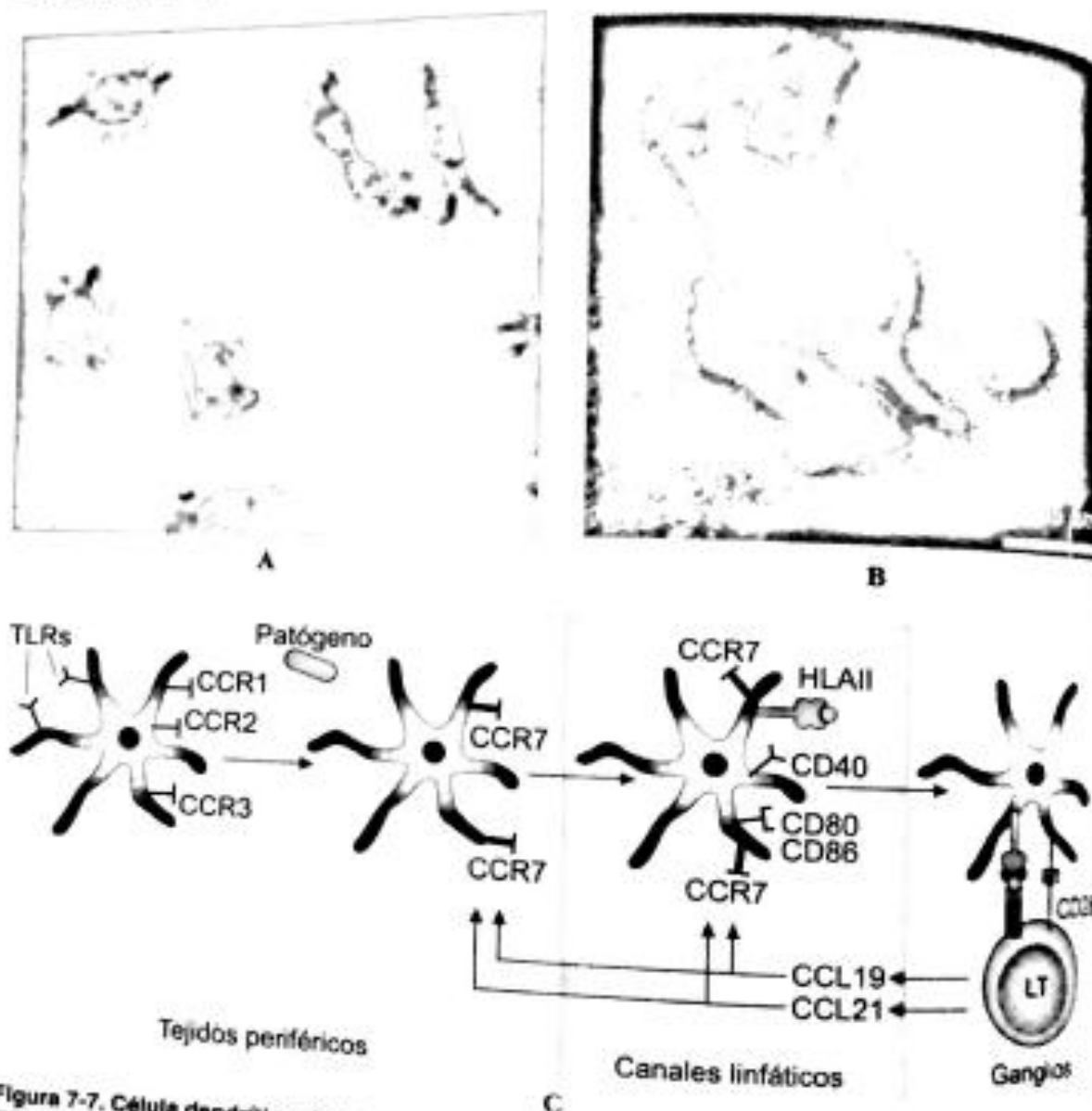


Figura 7-7. Célula dendrítica. A) Célula en velo, en circulación. B) Células dendríticas que abrazan el antígeno presentado (cortesía de los doctores Atzpodien J y Dörner KE. Images in clinical medicine. Immunologic cross talk. N Engl J Med. 1999; 340: 1732). C) Proceso de maduración y migración de las DCs. En los tejidos expresan receptores para quimocinas que les permiten ubicarse en lugares estratégicos. Al hacer contacto con un patógeno pierden esos receptores y expresan CCR7, que interactúa con las quimocinas CCL19 y CCL21, interacción que condiciona su migración al ganglio para presentar los antígenos a los LT, y activarlos.

Las DCs parecen desaparecer durante muchos años porque se confundían en la sangre con monocitos atípicos o deformados y porque para visualizarlos en los tejidos se requiere de colorantes a base de sales de oro o de metales pesados.

Morfología y fenotipo. Tienen una membrana en forma de estrella, con múltiples prolongaciones, en las cuales expresan moléculas de adhesión que las mantienen fijas a las células vecinas así como receptores para manosa, citopinas y quimiopinas.

Funciones. a) Las DCs vigilan el medio ambiente a nivel de la piel y de las mucosas en busca de patógenos, a los cuales capturan y procesan para extraer de ellos las moléculas más inmunogénicas y presentarlas a los LsT en los órganos linfoides secundarios, ganglios y bazo (ver inmunidad celular y órganos linfoides). b) No solo presentan un Ag a LsT, sino que activan estas células. c) Actúan tanto en los mecanismos de inmunidad innata como adquirida. d) Participan en el desarrollo de algunos tipos de tolerancia a moléculas propias. e) Fagocitan cuerpos apoptóticos. f) Activan a las NKs.

Son utilizadas por el VIH para su ingreso al hospedero.

Constituyen las más importantes APC. Si son invadidas por un virus (sarampión, influenza, VIH y de algunas encefalitis) producirán y exportarán a su membrana celular moléculas MHC-I con el Ag respectivo.

Juegan un papel importante en la regulación de la respuesta inmune contra parásitos y según los Ags que éstos le presentan, orientarán la respuesta específica hacia LsTh1 o Th2.

Las DCs capturan Ags por fagocitosis, pinocitosis o endocitosis para lo cual utilizan diferentes receptores, tales como TLR, lectinas tipo C, o receptores Fc para Igs. Estas células tienen la capacidad de diferenciar entre moléculas extrañas y propias y generar tolerancia hacia las últimas. Si fallan en esta función, facilitan la aparición de afecciones autoinmunes.

Los queratinocitos, células aledañas a las de Langerhans de la piel, producen, al in-

gresar, de un Ag, moléculas que modifican el comportamiento de las DCs. Así disminuyen la expresión de las moléculas de adhesión lo que les permiten desprenderse y busca los canales linfáticos que los llevarán a los ganglios linfáticos. Además presentan receptores para las quimiquinas que habrán de orientar su migración hacia los ganglios linfáticos. Por otra parte pierden la capacidad de fagocitar, capturar y procesar otros Ags. Al llegar a los órganos linfoides secundarios se ubican en las zonas T (ver próximo capítulo) y secretan quimiquinas CXCL1 y CXCR4 que atraen LsT. Incrementan la expresión de moléculas de adhesión como ICAM y receptores para quimiquinas. Una vez establecen contacto con los LsT CD4+, les presentan el Ag que traen de la periferia. La activación o maduración de las DCs se hace primordialmente por medio del CD40 y el receptor para el TNF- α que llevarán al citoplasma el mensaje requiriendo para liberar moléculas NF- κ B, importante factor de transcripción que al entrar al núcleo, activa la expresión de genes inmunorreguladores como los de las moléculas coestimuladoras B7 que interactuarán con la CD28 de los LsT para inducir en ellos la producción de IL-2.

Adicionalmente si el Ag que capturan es de origen viral, lo presentarán a través de moléculas MHC-I a los LsT CD8+ que se tornarán citotóxicos para las células infectadas por ese virus. El virus del sarampión, como mecanismo de defensa, tiene la estrategia de desactivar las DCs para frenar su capacidad de producir IL-12 y evitar así la producción de IFN- γ por parte de los LsT.

Ocasionalmente, si al madurar las DCs se genera IL-4, esta citocina podría llevarlas a inducir respuesta Th2 o humoral. Este mecanismo interviene en el desarrollo de las alergias.

Activación. Las DCs pueden ser activadas por factores tanto exógenos como endógenos. Entre los primeros están las moléculas presentes en la membrana o pared de los microorganismos y que se conocen como PAMPs (monosacáridos, lipopolisacáridos y ácido teicoico) a los que reconocen por los TLR. Entre los factores endógenos conocidos como **señales de peligro** están las proteínas de choque térmico y el IFN- α , que denuncian la presencia de infección viral.

Capturado y procesado el Ag, las DCs generan ceramida que breña los mecanismos de captura de Ags y la activación, se desprenden de los queratinocitos u otras células aledañas y migran a los ganglios linfáticos en búsqueda de los Ls a los cuales presentan el Ag.

Circulación. La fijación de las DCs en determinados órganos o tejidos, su liberación, migración a los órganos linfoides secundarios y su circulación dentro de éstos, está controlada por la expresión de receptores CCR 1, 3, 5, 6, 7 y 10 y los ligandos correspondientes que hacen parte de las quimioquinas.

Macrófagos

Como vimos en el capítulo de fagocitosis, los Macs digieren los microorganismos y extraen de ellos los Ags más inmunogénicos para presentarlos al LsT por medio de moléculas del MHC que estudiaremos mas adelante.

Este proceso se cumple en una forma diferente según que los Ags sean de origen externo o interno. Los primeros, provienen de microorganismos que una vez fagocitados, son fragmentados por las enzimas lisosomales que son vertidas al fagosoma y los segmentos más antigénicos son presentados a los Ls CD4+ por moléculas del MHC clase II.

Los Ags de origen interno, una vez generados en el retículo endoplásmico, son procesados en el proteosoma y los péptidos resultantes se acoplan a las moléculas clase I, HLA-I, del MHC, son transportados a la membrana y presentados a LsT CD8+.

Linfocitos B

Estas células pueden reconocer directamente, sin ayuda de los LsTh Ags polimericos, e iniciar de inmediato la producción de Acs contra ellos, pero únicamente de la clase M. Pueden reconocer otros antígenos solubles y una vez tiene lugar este reconocimiento, los complejos Ag-BCR se agrupan en un polo de la célula, son introducidos al citoplasma en donde la proteína antigénica es degradada y los péptidos generados presentados a los LsT que tienen igualmente un receptor especial conocido como TCR (ver capítulo de inmunidad celular). Esta presentación estimula al LT que a su vez produce citoquinas que estimulan al LB a transformarse en célula plasmática productora de Acs.

Células no profesionales presentadoras de Ags. Gracias al estímulo del algunas células, especialmente el IFN γ fibroblastos, células endoteliales, las β del páncreas, células de la tiroides, pueden presentar los Ls Th.

PRESENTACIÓN DEL ANTIGENO

Ags compuestos por carbohidratos pueden activar directamente a los LsB. Los proteos y lipídicos son presentados tanto a los LsB como a los LsT por medio de moléculas especiales ubicadas en la membrana de las células presentadoras de Ags. Estas moléculas se agrupan en dos clases y al parecer han evolucionado de ancestros comunes. Unas se conocen como antígenos de los leucocitos y hacen parte de un sistema genético conocido como Complejo Mayor de Histocompatibilidad, cuya sigla en inglés es MHC. El otro está constituido por las moléculas conocidas como CD1.

Complejo Mayor de Histocompatibilidad MHC

Esta constituido por el locus más polimórfico del genoma humano. Presentan Ags proteicos a los LsT. Apareció en los anfibios hace 750 millones de años y evolucionó en los vertebrados logrando su completo desarrollo en animales de sangre caliente.

Constituyen el principal puente entre la respuesta inmune innata o natural y la adquirida.

Antígenos de los leucocitos. La identificación de Acs contra los glóbulos blancos o aquellos individuos que previamente han recibido transfusiones, permitió establecer la existencia de una serie de Ags presentes en los leucocitos, que se denominaron Ags de los leucocitos humanos (HLA). En animales de experimentación un trasplante tumoral o tisular tiene éxito si el animal receptor presenta ciertas características genéticas que lo semeja al donante, y en caso contrario, tanto el trasplante tumoral como el tisular son fácilmente rechazados, aun cuando se efectúan en animales de la misma especie. El rechazo está relacionado primordialmente con la disparidad



Tres científicos merecieron el Premio Nobel en 1980 por sus trabajos en inmunogenética. **George Snell** descubrió el sistema H-2 en el ratón. **Jona Dausset** descubrió el sistema HLA del humano, el equivalente del H-2 del ratón. **Baruj Benacerraf** descubrió la función del sistema HLA como controlador de las comunicaciones entre las diferentes células del sistema inmune.

entre los Ags de los leucocitos del donante y los del receptor.

La evolución en el conocimiento del sistema ha demostrado su importancia en el funcionamiento del sistema inmune, y ha dejado de ser considerado como un sistema cuya única función parecía ser, hasta hace pocas décadas, la de obstaculizar la realización de trasplantes.

El MHC cumple funciones de reconocimiento, diferenciación y defensa.

Algunos de los dominios o segmentos de las inmunoglobulinas tienen gran similitud estructural con los Ags del MHC y con las moléculas CD1, por lo cual se conoce a este grupo de moléculas como la superfamilia de las inmunoglobulinas.

Dentro del MHC se diferencian tres regiones que agrupan genes llamados de clase I, II y III respectivamente. Los de la clase I generan los Ags HLA-I que colonizan la membrana de casi todas las células del organismo, con excepción de los eritrocitos. Los de la II, generan los HLA II que en condiciones normales únicamente están expresados por los LB, los Mφ y las DCs. Los de la clase III codifican para los factores del complemento. Adicionalmente dan origen a otras moléculas como proteínas de estrés, factor de necrosis tumoral y linfoquinas, que participan en dis-

tintos aspectos de la respuesta inmune y que algunos autores sugieren se agrupen en otra clase, la IV.

Por razones obvias, la experimentación genética sobre el comportamiento de estos Ags se ha adelantado más en el ratón que en el humano. Existen semejanzas importantes, pero no de identidad, entre los presentes en los ratones y en los humanos.

En los seres humanos los genes del MHC están situados en el cromosoma 6. La región está compuesta por 422 genes de los cuales 57% se expresan.

En la clase I se distinguen varios grupos a saber: HLA-A, B, C, E, F, G, H y -J. Dentro de los HLA-II las regiones conocidas son HLA-DR, DQ, DO, DM y DP, que a su vez tienen varias sub-regiones. En la Región III se encuentran C4B, C4a, 21OH, TNF, HSPT 70 y BAT entre otros que codifican diferentes factores del sistema del complemento y varias enzimas de interés en los mecanismos inmunes. La Figura 7-8 muestra el mapa de la parte pertinente del cromosoma 6.

En la nomenclatura de cada alelo se designa el nombre del gen con letras seguidas de un * y de 4 dígitos que indican el alelo. Por ejemplo, DPB1*0101.

Los Ags proteicos sólo son reconocidos por los LB, si las células presentadoras los ex-

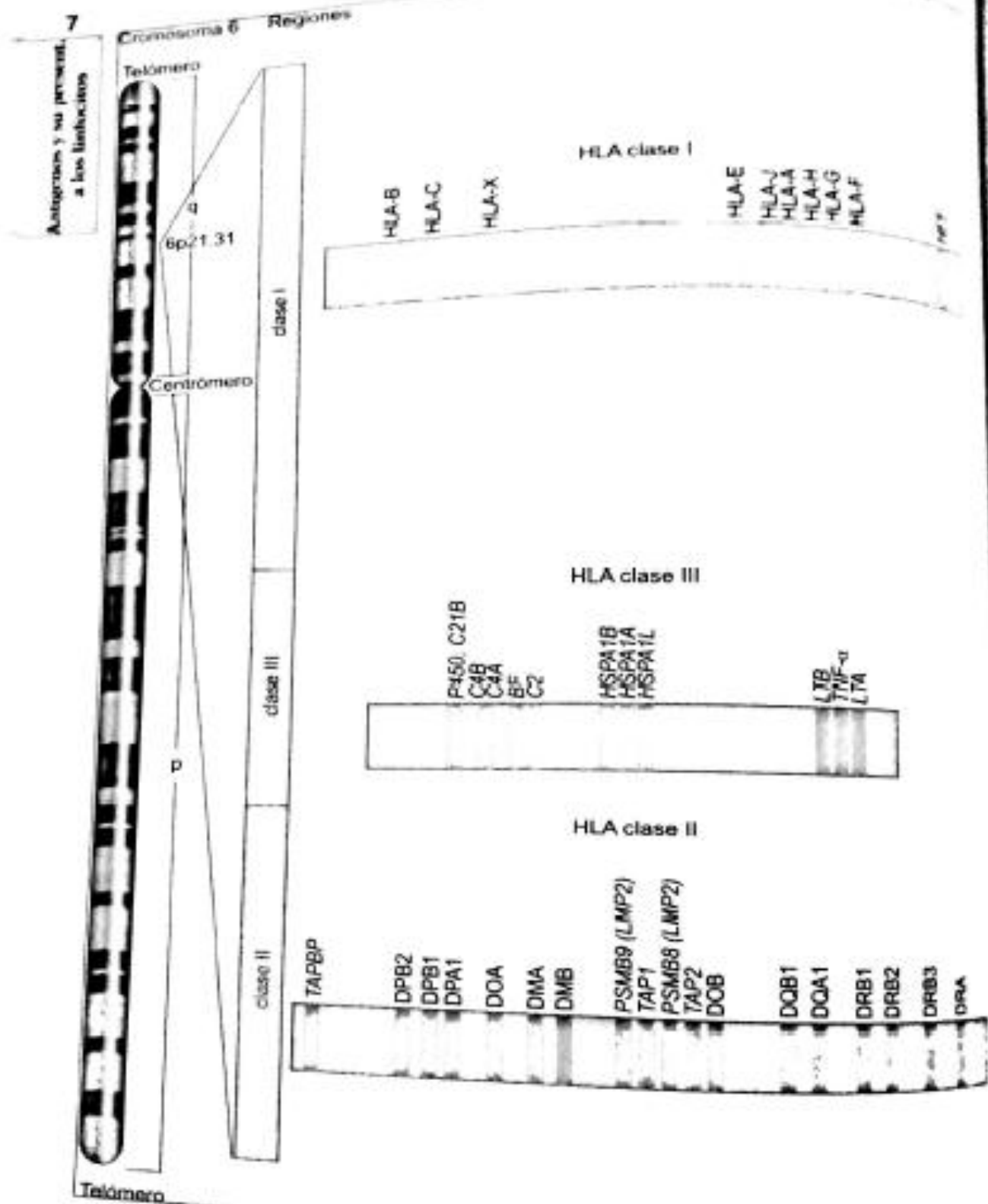


Figura 7-8. Localización y organización del MHC en el brazo corto del cromosoma 6
Este complejo tiene tres regiones. Cada región contiene muchos loci.

ponen por medio de las moléculas HLA. El Ag tiene por un lado la secuencia de aminoácidos que le permite ser reconocido por el HLA y por el otro por el receptor de los LsT.

La conformación de las moléculas HLA parece ser similar en todas ellas y básicamente sus cadenas proteicas forman con sus regiones variables un nicho en el cual capturan al Ag. El nicho está formado por 2 hélices antiparalelas superpuestas a una plataforma de bandas. Las paredes del nicho están formadas por espirales y el fondo por los segmentos variables de las cadenas α y β (Fig. 7-9). En el fondo del nicho hay varios bolsillos en donde encajan diferentes aminoácidos del péptido a presentar.

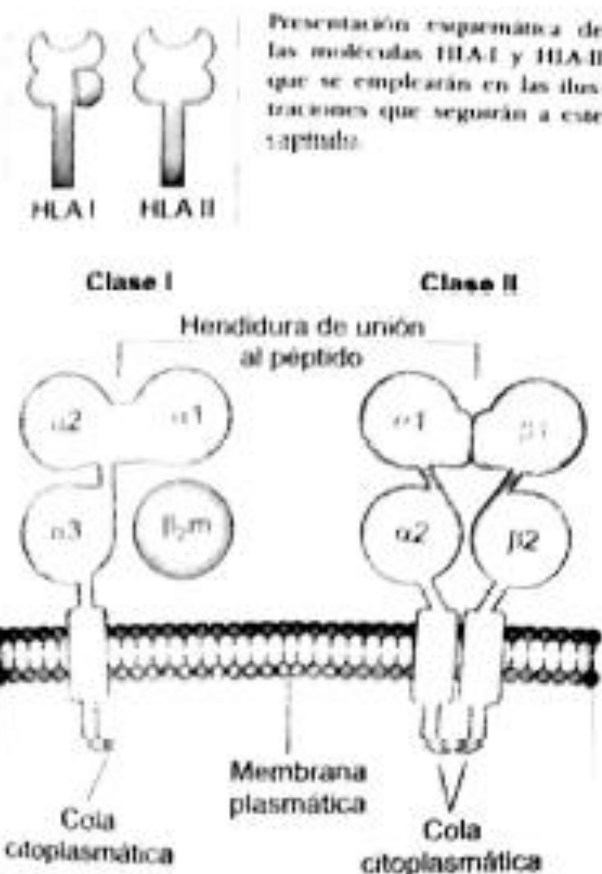


Figura 7-9. Estructura de las moléculas HLA clase I y II. La $\beta 2$ microglobulina ($\beta 2m$) es la cadena liviana de la molécula clase I. La cadena α de la molécula clase I, tiene dos dominios de unión al péptido ($\alpha 1$ y $\alpha 2$), un dominio tipo inmunoglobulina ($\alpha 3$), la región transmembrana (TM) y la cola citoplasmática. Las moléculas clase II tienen cadenas α y β con cuatro dominios: el de unión al péptido ($\alpha 1$ y $\beta 1$), el dominio tipo inmunoglobulina ($\alpha 2$ o $\beta 2$), la región transmembrana y la cola citoplasmática.

a los LsT. Estos a su vez tienen otros en donde se sitúan otros aminoácidos diferentes a los acoplados a los del nicho de la molécula HLA (Fig. 7-10). La especificidad de los del TCR es completa, es decir solo reconoce un determinado Ag en tanto que los de la molécula HLA pueden reconocer varios péptidos similares que difieran en algunos aminoácidos.

En forma similar a las moléculas de inmunoglobulinas las de los Ags HLA son generadas por varios genes.

La expresión de unos, generan los segmentos constantes, C, otros los variables, V, y otros los de unión, conocidos como J, y los de diversidad o D. El entrecruzamiento entre esta diversidad de genes produce un gran número de moléculas diferentes capaces cada una de ellas de presentar un grupo de Ags distintos.

Desequilibrio de ligamento. Es un fenómeno que se presenta con relativa frecuencia dentro del sistema MHC. Algunas combinaciones de genes ocurren con mayor frecuencia de lo esperado. Este fenómeno se denomina desequilibrio de asociación y se acompaña en algunos casos de una mayor susceptibilidad a ciertas enfermedades autoinmunes.

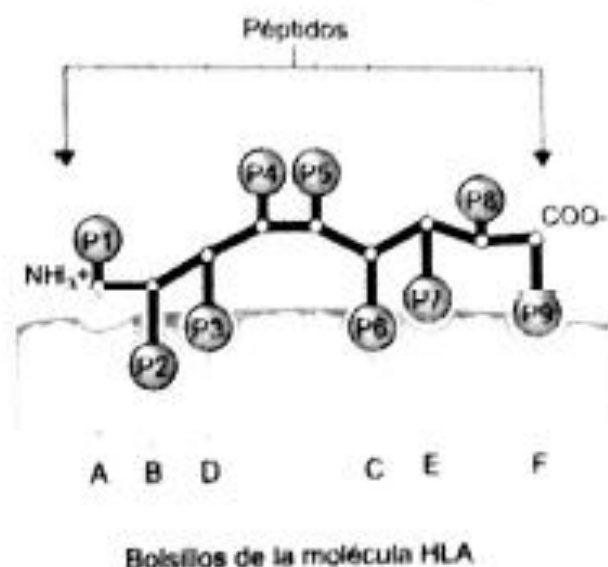


Figura 7-10. Interacciones entre moléculas HLA y los péptidos. Porción longitudinal de la hendidura del péptido en la molécula clase I. Las cadenas de aminoácidos del péptido forman un esqueleto desde P1 hasta P9, que encajan en los bolsillos de las moléculas clase I.

Moléculas MHC clase I

Las moléculas MHC-I (HLA-I) presentan Ags a los $LT\ CD8^+$ originados en la mayoría de los casos en la misma célula y que tienen una longitud de 8 a 11 aminoácidos.

Una vez la molécula HLA-I es sintetizada, su tránsito por el retículo endoplásmico, es dirigida por una serie de moléculas. Una de ellas es una chaperona conocida como calnexina y otra, la cadena $\beta 2$ microglobulina. El complejo formado por estas tres moléculas es llevado al encuentro del péptido que debe luego ser transportado hasta la membrana celular.

Tipos de Ags presentados por moléculas HLA-I. Son péptidos que se originan de proteínas virales sintetizadas en el retículo endoplásmico y procesadas por el **proteosoma**. El plásmico y procesadas por el **proteosoma**. MHC tiene genes que codifican dos proteínas, la LMP-2 y la LMP-7, que en el proteosoma facilitan la degradación de las proteínas virales, generando moléculas de 8 a 11 aminoácidos que son transportados al retículo endoplásmico por otra molécula, la TAP. En el retículo se acopla a las moléculas HLA-I, que los llevan a la membrana celular (Fig. 7-11). Una vez en la membrana son presentados a los receptores de $LT\ CD8^+$.

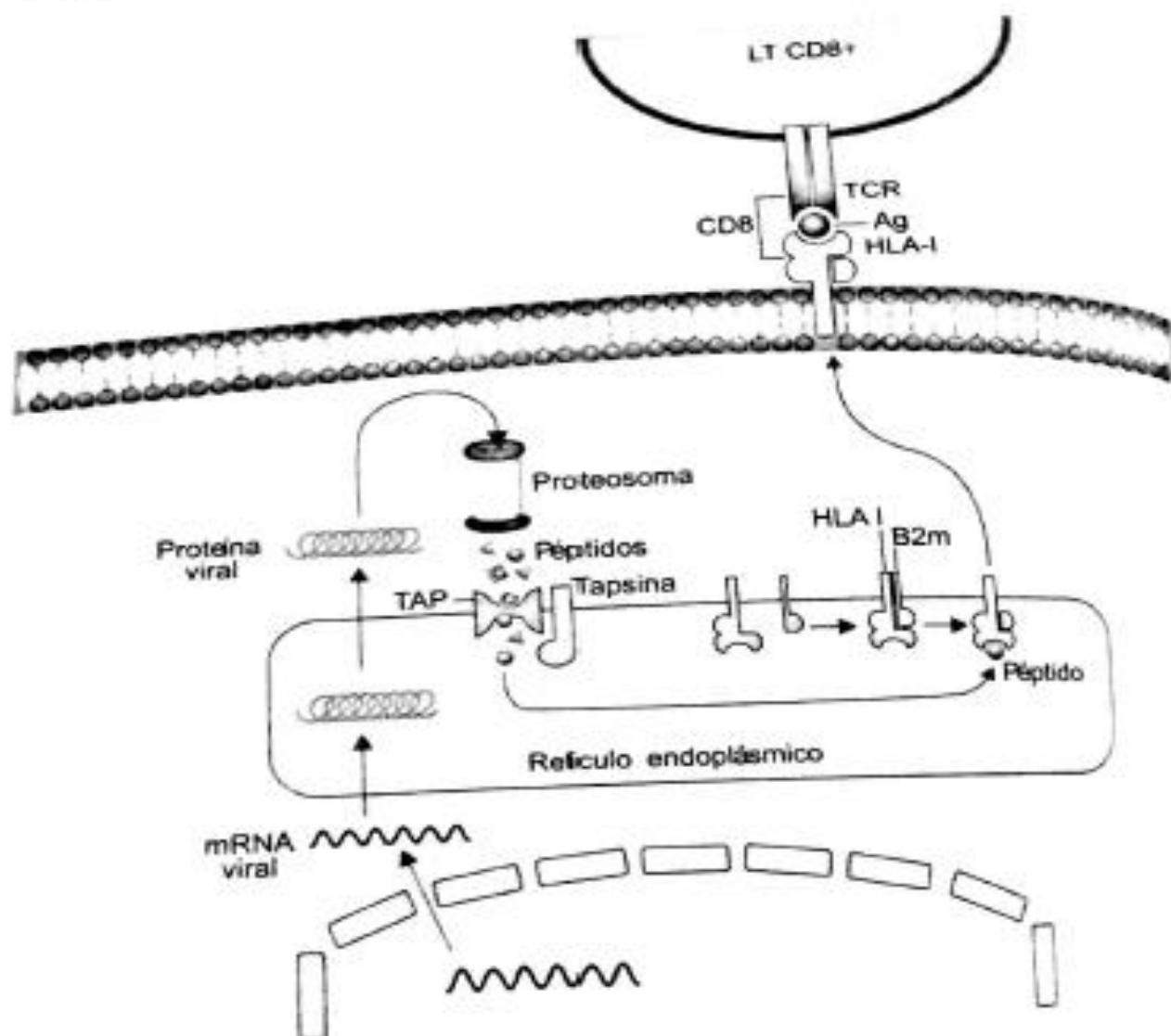


Figura 7-11. Procesamiento de un Ag y su presentación por moléculas HLA-I.

Fig. 7-8 (señal como un microscopio) en el epitelio. La molécula HLA-A2 capta de manera selectiva moléculas HLA clase I.

Clases de moléculas HLA-I. Existen 5 grupos y los principales HLA-A, B, C, llamados clásicos y otros que son menos polimórficos y se conocen menos que son los HLA-E, F, G, H y I. Las funciones de cada distinta no están esclarecidas aún, salvo la del HLA-E que cumple un papel muy importante durante el embarazo.

Esta Ags colonizan la membrana de todas las células del organismo, con excepción de las roquetas. La molécula está constituida por las cadenas, una pesada con 541 aminoácidos para el HLA-A, 538 para el HLA-B y 542 para el HLA-E. Esta cadena tiene cinco segmentos: el primero o distal que termina en un COO, el segundo y tercero, forman un asa cada uno, por uniones disulfuro. En cuarto que se anclan en la membrana de las células y que consta de 15 aminoácidos y el quinto, que es intracitoplasmático, tiene 27 aminoácidos y termina en un radical COOH. Esta cadena se une lateralmente pero no en forma covalente, con una cadena ligera de 12 000 Daítons de peso molecular, llamada $\beta 2$ microglobulina, la producida por genes del cromosoma 15, consta de 99 aminoácidos que forman un asa y terminan gracias a un puente disulfuro, y poseen además gran analogía con la del segmento constante 3 de la IgG.

Se conocen hasta hoy 325 variantes del HLA-A, 992 del HLA-B y 175 del HLA-C.

Las HLA de la clase I A, B, C, pueden reconocerse por métodos serológicos, empleando suero rico en anticuerpos contra alguna de las especificidades del sistema. La clasificación se hace por medio de PCR, empleando sondas específicas para cada alelo.

El IFN incrementa la expresión de los Ags HLA en tanto que la IL-10 la frena con excepción de los HLA-E a los que incrementa.

Función de los Ag HLA-G. Se expresan casi exclusivamente en el tejido placentario, en la interfase materno-fetal, en donde no se expresan ninguno de los otros Ags de las clases HLA-I y HLA-II. Su papel protector en el embarazo se hace frenando la actividad de las células naturales NKs.

En el adulto se encuentra en la cámara anterior del ojo. Adicionalmente y según es-

tudios recientes, el HLA-E se expresa en procesos patológicos como psoriasis, dermatitis atópica, algunas infecciones virales, posiblemente como un mecanismo para frenar procesos inflamatorios.

Los HLA-E protegen igualmente contra la acción de las NKs interactuando con el Ag CD94 y reforzando la acción de los HLA-G, no se sabe si aisladamente o en forma concomitante.

Recientemente se han identificado dos nuevos loci, que hacen parte de la región MIC-1 y que se conocen como MICA y MICB cuya expresión se limita a fibroblastos y células epiteliales como las de la mucosa gástrica. No se expresan ni en la CD4, CD8, o LaB. Su configuración es similar a la de las HLA-I, pero no se unen a la $\beta 2$ microglobulina y actúan como ligando por las NKs. Se han identificado 51 MICA y 13 MICB. No se conoce aún su función y posibles relaciones con enfermedades.

Moléculas MHC clase II

Constituidos por una cadena principal llamada α , de 34 000 kDa que consta de 229 aminoácidos. Esta cadena se une a otra, β de 28 000 kDa de peso molecular. Como la cadena α esta tiene un segmento intramembranal y otro intracitoplasmático (Fig. 7-12).

Al contrario de lo que ocurre con los Ags de la clase I, los de la II se expresan sólo en los LaB, en los M ϕ s, en las DCs, en las de Langerhans, en algunas células endoteliales y en un porcentaje pequeño de subpoblación de LT-h. Su expresión se incrementa, o en algunos casos o se inicia *de novo* por acción del IFN γ . Las demás células del organismo, así como la casi totalidad de los LaT, carecen de estos antígenos de la clase II. En algunos casos, por acción del mismo interferón, células endoteliales o de ciertos órganos, pueden expresarlos, lo que da origen a un ataque de los LaT contra lo propio (ver enfermedades autoinmunes). La clase II está subdividida en varios grupos: los HLA-DR, DQ, DZ, DO, DP, DN y DM. Para los HLA-DR, DQ y DR se conocen varias cadenas α y β . Aún no se ha encontrado expresión de los DZ, lo cual puede significar que son genes incompletos que no se expresan, o que sólo lo hacen en células muy especializadas aún no identificadas. Para los DR se conocen muchas variantes que dan origen a 458 alelos.

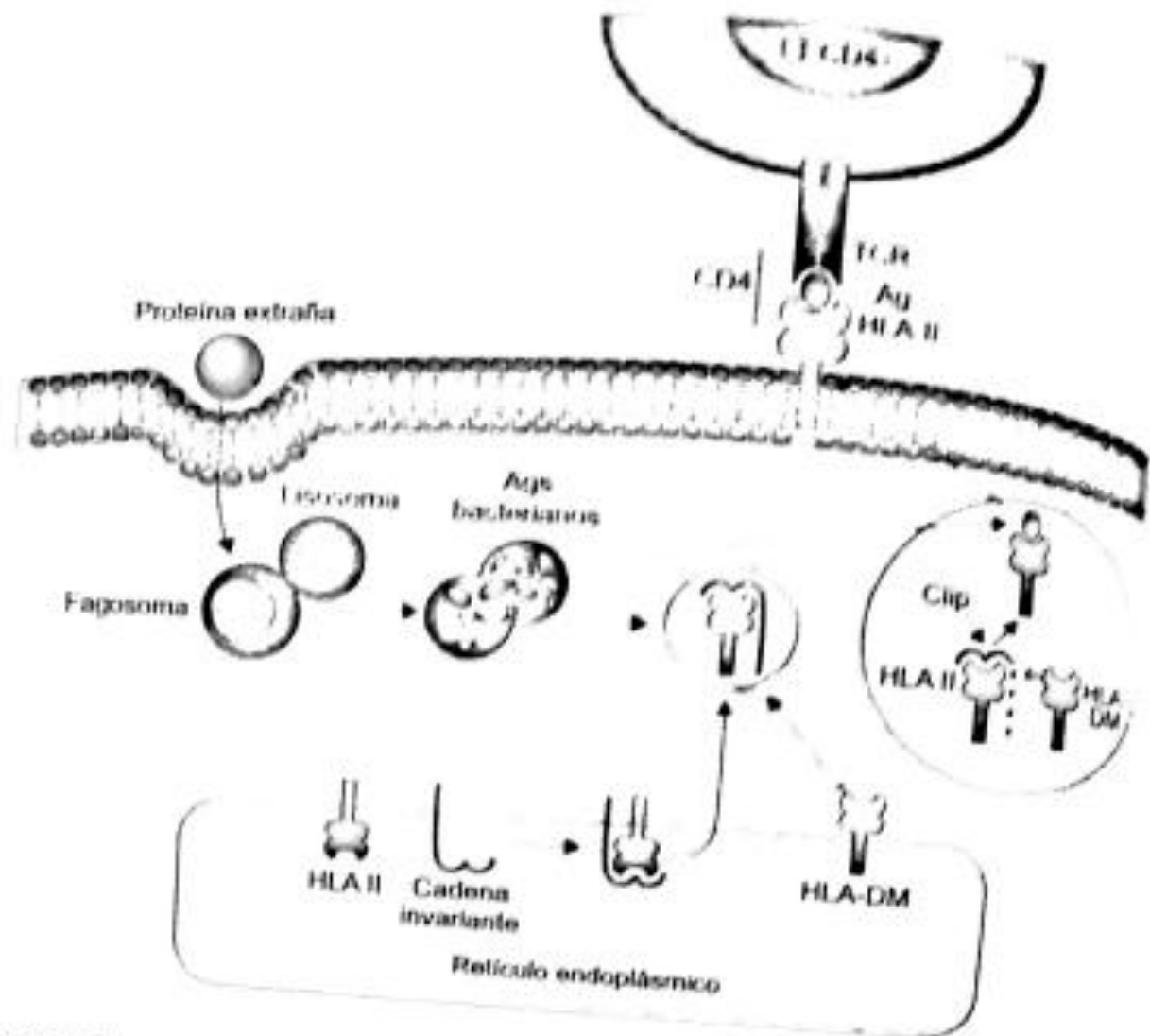


Figura 7-12. Presentación de un Ag por moléculas HLA-II. La cadena invariante evita la unión de péptidos extraños durante el tránsito de la molécula HLA por el citoplasma. El Clip es removido por molécula HLA-DM.

Tipo de Ags que son presentados por las moléculas HLA-II. Estas presentan a los Linfocitos T, antígenos externos que han sido generados en el proceso de la fagocitosis. Los microorganismos que son fagocitados por las APC son ubicados en los fagosomas y degradados por diferentes catepsinas que los sacos lisosomales liberan en el fagosoma. Las catepsinas D, L y S son endoproteasas (hidrolizan uniones químicas internas) y otras, A, B y H, exoproteasas (hidrolizan uno o dos aminoácidos, bien sea del terminal amino como del carboxílico). Por la acción de estas catepsinas se liberan los epítopes que son captados por las moléculas HLA de la clase II y llevados a la membrana para su presentación a los Linfocitos T.

Las moléculas HLA-II se generan en el retículo endoplásmico en donde la hendidura para el Ag es cubierta por una molécula llamada "cadena invariante" que impide que se unan a ella Ags internos durante su formación o tránsito por el citoplasma. A este complejo se une otra molécula chaperona, la calnexina, que facilita el transporte del complejo fuera del retículo endoplásmico. La molécula migra al citoplasma, localiza el endosoma o vacuola en donde está atrapado el Ag externo, se libera de la gran parte de la cadena invariante, menos de una porción llamada CLIP, que posteriormente es removida por otra molécula, la HLA-DM, para que el Ag pueda unirse a la HLA-II y viajar con él a la membrana para poder ser presentado al Linfocito T, a cuyo receptor

está asociado la molécula CD4. Los péptidos presentados por los HLA-II son más largos, 9 a 11 aminoácidos, que los presentados por los HLA-I. La tabla 7-1 resume las principales diferencias entre las moléculas HLA-I y HLA-II.

Función de algunos Ags HLA-clase II

HLA-DP. Están compuestos por 2 loci, el DPA1 y el DPB1 que codifica las cadenas DP α y DP β . Se han reconocido 9 alelos para la primera y 67 para la segunda. Se encuentran en las APCs y estimulan los LsT. Participan en la presentación de Ags de influenza y *herpes simplex* y se han encontrado asociadas a artritis reumatoide juvenil y a infecciones por *Onchocerca volvulus*.

HLA-DO. Este sistema frena la presentación de Ags a los LsT-CD4+ actuando sobre las moléculas HLA-DM a las cuales inhiben impidiendo la liberación de la molécula CLIP con lo cual interfiere en el acoplamiento del Ag a los HLA-clase II.

HLA-DQ. Tienen especial importancia como presentadoras de radicales de gliadina a LsT

presentes en la mucosa del intestino, con la cual se desencadena un proceso inflamatorio que genera la enfermedad celiaca.

Identificación de los HLA clase II. Hoy se dispone de un gran número de sondas diferentes de DNA que reconocen secuencias diferentes de Ags tanto de MHC clase I como II. Esta técnica es de alta resolución y ha desplazado los métodos como la serología y la linfotoxicidad. (Ver capítulo 15).

Ags de la clase III

Los factores C2, C4 y el B de la vía alterna del complemento se originan en genes que están entre los loci HLA-DR y HLA-B. En los haplotipos extendidos, que son aquellos en los cuales se estudia la asociación de un determinado grupo de alelos, los genes del sistema del complemento adquieren importancia por su asociación a ciertas enfermedades como la diabetes. Empiezan a estructurarse haplotipos en los cuales la combinación de HLA-A, B, DR y algunos del complemento pueden indicar no sólo la susceptibilidad a la diabetes sino predecir en qué edad se va ésta a presentar.

Tabla 7-1. Principales diferencias entre HLA I y II.

	Clase I	Clase II
Cadenas que las integran	α β 2-microglobulina	α β
Localización de los sitios de unión para el Ag	α 1 α 2	α 1 β 1
Unión al TCR	α 3 al CD8	β 2 al CD4
Tamaño de los péptidos que reconoce	8-11 aminoácidos	10-30 aminoácidos
Denominaciones	HLA-A HLA-B HLA-C	HLA-DR HLA-DQ HLA-DP HLA-DM
Células que lo expresan	DC, M ϕ LB, end. vascular	Todas las células nucleadas

EL MHC Y LA CLÍNICA

La resistencia de un individuo a determinado microorganismo está "programada" en gran parte por las características de las moléculas del MHC que posea. Parece altamente probable, que en un futuro próximo pueda establecerse contra qué microorganismos es resistente cada individuo. Por lo pronto la importancia de la determinación de estos Ags tiene aplicación práctica en:

Trasplantes. El éxito de un trasplante de órganos tiene relación con el número de Ags del MHC que tengan identidad entre donante y receptor. El trasplante de médula ósea, por ejemplo, requiere un grado muy alto de histocompatibilidad para que tenga éxito. La falta de correlación absoluta entre supervivencia de trasplante y compatibilidad desde el punto de vista del MHC implica la existencia de otros Ags no identificados aún, y que deben desempeñar un papel importante en la superviven-

cia o rechazo del trasplante. (Véase capítulo de Trasplantes)

Transfusión de plaquetas. Las plaquetas son raras en Aps del tipo HLA y la tipificación adecuada del donante puede asegurar una supervivencia mayor a la que comúnmente se obtiene. Los politransfundidos producen Acs contra las plaquetas recibidas. Algo similar ocurre con la transfusión de granulocitos.

Estudios antropológicos. La presencia de los distintos genes del complejo HLA varía con los diversos grupos étnicos. Así, por ejemplo, el HLA-Bw54 es frecuente en los japoneses, el HLA-Bw46 en los chinos y el HLA-A1 en la raza caucásica. El estudio conjunto de los diferentes alelos conocidos hasta el presente facilita el estudio de poblaciones y permite establecer su origen y sus migraciones.

Determinación de paternidad. El empleo del sistema HLA permite descartar la paternidad en el 90% de los casos, y su utilización conjuntamente con la determinación de los grupos y subgrupos sanguíneos, incrementa la posibilidad hasta en el 98% de los casos.

El MHC y enfermedad

Es bien conocida en la clínica la asociación de ciertas enfermedades con determinados Aps de histocompatibilidad, especialmente de los loci y DR. En algunos casos con el A y excepcionalmente con el C. No se conoce aún la explicación para estas asociaciones. Hay varias hipótesis:

1. Mimetismo molecular: parte de la molécula de HLA puede tener la misma secuencia de aminoácidos de una parte de un Ag, p.e. viral, y estar en condiciones de activar a un LT que presente un receptor capaz de reconocer esa secuencia. Varios de los alelos del HLA-DR4 tienen secuencias similares al virus de Epstein-Barr.
2. Expresión anormal de Aps del MHC. En la enfermedad de Graves, cirrosis biliar primaria, alopecia areata y síndrome de Sjögren se expresan diferentes Aps HLA clase II en células de órganos o tejidos normalmente carentes de ellos. Por este

mecanismo es posible el ataque a estos órganos por parte de los LT citotóxicos. Algunos de estos Aps actuarían como receptores para ciertos virus o reaccionarían en forma cruzada con moléculas presentes en determinados microorganismos.

Se han descrito más de 500 enfermedades con grados variables de asociación a diferentes Aps del MHC. Las asociaciones más claras son: HLA-DQB1*0602 con la **narcolepsia** y del HLA-B27 con la **espondilitis anquilosante**. Su presencia implica un RR (riesgo relativo) de > 150 . Recientemente se ha encontrado una asociación importante de este alelo en valvulopatía aórtica. El DQ2 en la **enfermedad celiaca** tiene un RR de > 25 y el DQ6 uno de > 38 con la narcolepsia. Otras asociaciones pueden apreciarse en la Tabla 9-2. Las asociaciones se incrementan al analizar los alelos de determinado Ag HLA. Así, por ejemplo, la **artritis reumatoide** se asocia fuertemente con los DRB1* 0401, 0404, 0405 y 0408, en tanto que el DRB1*0402 confiere resistencia a esta enfermedad.

El **penphigus vulgaris** se asocia en algunos grupos de judíos con el DR4 y el penphigoides con DQB1* 0301. En la **diabetes autoinmune** hay una serie de asociaciones que implican susceptibilidad en las HLA-DQ4 y HLA-DR4 en tanto que otras confieren resistencia.

En la mayoría de los casos la asociación entre determinado HLA y una enfermedad es muy grande, lo cual indica el carácter poligénico de la enfermedad. El estudio de haplotipos extendidos permite encontrar mayores asociaciones. Así en el **lupus sistémico** hay una asociación con HLA-DR3 y DR2, si además el individuo es negativo para C4A del sistema del complemento, el riesgo se incrementa 17 y si resulta ser homocigoto para HLA-DR2 el riesgo se incrementa a 25.

En la enfermedad celiaca las asociaciones más frecuentes son: en un 80% con el HLA-B8 y casi en un 95% con el HLA-Dw3. Recientemente se ha encontrado una mayor asociación con el HLA-DQ2. Otra enfermedad que se asocia con frecuencia a la anterior, la **dermatitis herpetiforme**, tiene igualmente un alto grado de asociación con este mismo Ag.

La **enfermedad de Behçet** con el HLA-B5 y la **psoriasis** al Cw6. Los Aps HLA-A*1

HLA-B18 se encuentran con relativa frecuencia en pacientes con deficiencia del factor C3 del complemento, asociación que se acompaña frecuentemente con la presencia de complejos inmunes. El HLA-B8 con el síndrome endocrino de falla poliglandular, la esclerodermia múltiple que se relacionó inicialmente al HLA-A5, posteriormente se ha encontrado aún con mayor frecuencia en individuos HLA-B7, HLA-D2 y HLA-DRw2. La hemocromatosis tiene una de las más altas asociaciones con el HLA-A3. Las hiperglucemias que se presentan durante el tratamiento con esteroides ocurren en pacientes que tienen Ags HLA-B12. Ver tabla 7-2.

La enfermedad de Graves se presenta en Norteamérica asociada al HLA-B8, mientras que en los japoneses con el HLA-Bw35.

Utilidad clínica de la determinación de los Ags del MHC

La principal aplicación está en el manejo de trasplantes para definir el grado de afinidad entre el donante y el receptor, como veremos en el capítulo correspondiente.

En los estudios medicolegales y para la determinación de paternidad es un instrumento de gran utilidad y lo será aún más con el perfeccionamiento del empleo de las sondas de DNA, que discriminan tanto como las huellas digitales de un individuo.

Desde el punto de vista práctico, en la clínica sólo se justifica solicitar la clasificación de histocompatibilidad para confirmar o descartar diagnósticos en la espondilitis anquilosante, narcolepsia e hiperplasia adrenal congénita y en la enfermedad celíaca. Debe emplearse además para clasificar los familiares de un paciente con hemocromatosis a fin de implantar las medidas preventivas pertinentes en los individuos que resulten ser HLA-A3. En las enfermedades autoinmunes debe descartarse la carencia del C2, C4 y Bf, de la clase III.

Defectos en el MHC

Se inicia el conocimiento de otra patología originada en defectos congénitos del MHC. El síndrome de los linfocitos desnudos para los HLA de la clase II se caracteriza por la imposibilidad de iniciar una respuesta inmune, dado que estas células carecen de las proteínas de membrana que les permitan iniciar el

Tabla 7-2. Enfermedades ligadas al MHC.

Antígenos HLA	Enfermedad	Riesgo relativo
A-2	Malformaciones congénitas	5
A-3	Hemocromatosis	9
A-10	Pénfigo	5
B-5	Enfermedad de Behçet	7
B-8	Miastenia	4
	Lupus sistémico	2
	Enfermedad celíaca	9
	Hepatitis crónica activa	9
B-12	Alveolitis fibrosante	10
B-27	Espondilitis anquilosante	90
	Síndrome de Reiter	35
	Artritis por yersinia	17
	Artritis reumatoidea juvenil	4
Bw-35	Tiroiditis subaguda	17
Cw-6	Psoriasis	36
DR-2	Narcolepsia	100
DR-3	Lupus sistémico	6
	Enfermedad celíaca	75
	Dermatitis herpetiforme	15
	Enfermedad de Addison	9
	Diabetes juvenil	4
	Síndrome de Sjögren	10
DR-4	Artritis reumatoide	4

reconocimiento y/o la presentación de Ags. Por otra parte, como se verá en el capítulo de Complemento, la carencia de genes de la clase III se acompaña de enfermedades de tipo autoinmune y viral.

Ags menores estimuladores de Ls (MIs)

La observación de reacciones fuertes en cultivos mixtos de Ls totalmente compatibles dentro del MHC, llevó al descubrimiento de otros Ags que están ubicados en distintos loci de diferentes cromosomas. Estos Ags inducen respuestas aloinmunes especialmente de tipo celular, tanto *in vivo* como *in vitro*. Adquieren especial importancia en el trasplante de células madres o pluripotenciales por cuanto generan reacciones de trasplante contra huésped. Son proteínas codificadas por diferentes genes. Se conocen varios sistemas de los cuales el más estudiado ha sido el HLA-I.

PRESENTACIÓN DE AGS POR EL SISTEMA CD1

Está constituido por 5 moléculas no polimórficas codificadas fuera del MHC pero que se asocian a la cadena $\beta 2$ microglobulina y que presentan lípidos o glucolípidos, como ácido micólico. Se conocen los CD1a, b, c, d y e. Se originan en genes del cromosoma 1 en el humano. La CD1a se expresa en las células de Langerhans de la epidermis, en tanto que la CD1b y c se encuentran en células de diferentes tejidos como la piel, hígado, riñones, pulmones y órganos linfoides. Como las moléculas del MHC, éstas tienen un nicho en el cual albergan el Ag a presentar el cual puede

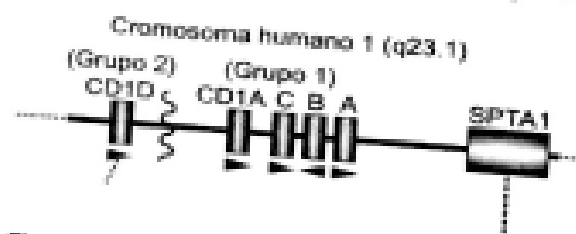


Figura 7-13. Mapa genómico del locus CD1. Los genes CD1 están ilustrados como cajas y la dirección de la transcripción está indicada por las flechas.

tener hasta 78 átomos de carbono (Fig. 7-13). Los CD1 están en la membrana de las DC y de algunos LsB.

Además de presentar Ags, estimulan la maduración de las DC que terminan estimulando a las NKs así como a los LTs y LsB.

Se empieza a definir la función de cada uno de estos subtipos de CD1. Las células de Langerhans de la piel presentan moléculas CD207, lectina conocida también como langerina, que permite el reconocimiento de antígenos lipoprotéicos, *Mycobacterium leprae*, como el lipoarabinomano, para presentárselo a los LsT por medio de la molécula CD1a. La CD1b presenta glicolípidos y la CD1d lípidos propios del organismo como fosfatidilserina. El CD1e no se expresa en la membrana, actúa en el citoplasma para facilitar el procesamiento de Ags glicolípidicos.

OTROS SISTEMAS GÉNICOS Y LA SUSCEPTIBILIDAD A ENFERMEDADES

Grupos sanguíneos

Existen algunas relaciones entre los Ags de eritrocitos y distintas enfermedades. Parece que el grupo O era muy frecuente en la población europea antes del advenimiento de la peste en el siglo XVI, pero la presencia de este grupo implicaba una mayor susceptibilidad a la infección por *Yersinia pestis*, razón por la cual durante la plaga murieron muchos individuos del grupo O. En aquellas islas como Irlanda, Islandia, Córcega y Cerdeña, a donde la peste no llegó, la proporción de personas con eritrocitos O es hoy mucho mayor. La predisposición a ciertas infecciones y a determinados tipos de cáncer está igualmente relacionada con algunos de los antígenos de este sistema.

Existen, además, genes que controlan la expresión de los subgrupos MN, Ss, Rh, Lewis, Kell, Duffy, Kidd y otros. Algunos han demostrado tener relación con resistencia o susceptibilidad a ciertas enfermedades. Así la infección por *Plasmodium vivax* ocurre casi exclusivamente en los individuos cuyos eritrocitos sean Duffy. La carencia total de los Ags del sistema Rh se acompaña de anemias hemolíticas modera-



Karl Landsteiner (1868-1943) Premio Nobel en 1930. Por haber descubierto en 1901 los grupos sanguíneos con lo cual fue posible iniciar el "trasplante" de sangre.

da. La ausencia del Ag K del sistema Kell da lugar a anemias hemolíticas y a anomalías morfológicas de los eritrocitos como acantocitosis y espinocitosis. La ausencia de este mismo Ag en los PMN da lugar a un defecto en la fagocitosis.

LECTURAS RECOMENDADAS

Para mayor información consultar:

<http://www.chi.ac.uk/ingt/hla>

Dirección electrónica para consultas sobre MHC: [WWW.chi.ac.uk/ingt/hla](http://www.chi.ac.uk/ingt/hla).

- *** **Trombetta ES and Mellman I.** Cell Biology of Antigen Processing. *Ann. Rev. Immunol.* 23: 975-1028, 2005.
- *** **Hava DL, et al.** CD1 Assembly and The Formation of CD1-antigen Complexes. *Current Opinion in Immunology.* 17: 88-94, 2005.
- * **Zhou D, et al.** Editing of CD1d-Bound Lipid Antigens by Endosomal Lipid Transfer Proteins. *Science* 303: 523-527, 2004.
- * **Verez-Bencomo V, et al.** A Synthetic Conjugate Polysaccharide Vaccine Against *Haemophilus influenzae* Type B. *Science*

305: 522-525, 2004.

- * **Yewdell JW.** Hide and seek in the Peptidome. *Science* 301: 1354-5, 2003.
- * **Moody DB, et al.** T Cell Activation by Lipopeptide Antigens. *Science*. 203: 527-531, 2004.
- ** **Rudd PM, et al.** Glycosylation and the Immune System. *Science*. 291: 2370-23, 2004.
- ** **McKay DM.** Bacterial superantigens: provocateurs of gut dysfunction and inflammation. *Trends in Immunol.* 22: 497-501, 2001.
- *** **Sher A, Pearce E and Kaye P.** Shaping the immune response to parasites: role of dendritic cells. *Current Opinion in Immunology.* 15: 421-429, 2003.
- * **Aguado B, et al.** Complete sequence and gene map of a human major histocompatibility complex. *Nature*. 401: 921-923, 1999.
- ** **Carosella ED, et al.** HLA-G and HLA-E: Fundamental and pathophysiological aspects. *Immunol Today.* 21: 532-534, 2000.
- ** **Carosella ED, et al.** HLA-G: a shield against inflammatory aggression. *Trends in Immunol.* 22: 553-555, 2001.
- * **Grande III AG and Van Kaer L.** Toppin: An ER chaperone that controls MHC class I assembly with peptides. *Trends in Immunol.* 22: 194-199, 2001.
- ** **Fogg DK, et al.** A cloning Bone Marrow Progenitor specific for macrophages and Dendritic Cells. *Science*. 311: 83-87, 2006.
- * **Hartgers FC, Figdor CG and Adema GJ.** Toward a molecular understanding at dendritic cell immunobiology. *Immunol Today.* 21: 542-545, 2000.
- ** **Bachmann ME, Kopf M and Marsland BJ.** Chemokines: more than just road signs (maduración y migración de la DCs). *Nature Reviews, Immunology.* 6: 159-164, 2006.
- ** **Mellman I and Steinman RM.** Dendritic Cells: Specialized and Regulated Antigen Processing Machines. *Cell.* 106: 255-258, 2001.
- *** **Brigl M and Brenner MB.** CD1 Antigen Presentation and T Cell Function. *Ann. Rev. Immunol.* 22: 817-890, 2004.

- **Geijtenbeek TBH, et al.** Self and Non-self Recognition by C-Type Lectines on Dendritic Cells. *Ann. Rev. Immunol.* 22: 33-54, 2004.
- **Hunger RE, et al.** Langerhans cells utilize CD1a and langerin to efficiently present nonpeptide antigens to T cells. *J Clinical Investigation*, 311, 701-708, 2004.
- *** **Moody DB and Porcelli SA.** Intracellular Pathways of CD1 Antigen Presentation. *Nature Reviews Immunology*, 3: 11-16, 2003.
- *** **Jones EY, Fugger L, Strominger JL and Siebold C.** MHC class II proteins and disease: a structural perspective. *National Reviews Immunology*, 6: 271-282, 2006.
- **Rubinstein P.** HLA Matching for Bone Marrow Transplantation-How Much is Enough? *New Eng J Med.* 25: 1842-1844, 2001.
- ** **De La Salle H, et al.** Assistance of Microbiol Glicolipid Antigen Processing by CD1e. *Science.* 310: 1321-1324, 2005.
- **Stephens HAF.** MICA and MICB genes can the enigma of their polymorphism be resolved? *Trends in Immunology* 22: 378-385, 2000.
- **Watts C.** Antigen Presentation. Losing its Shine in the Absence of GILT. *Science* 294: 1294-1295, 2001.
- *** **Roura-Mir C and Moody DB.** Sorting out self and microbial antigens for CD1. *Microbes and Infection* 5: 1137-1148, 2003.

Ontogenia de los linfocitos y órganos linfoides

8

William Rojas M.

- Origen de los linfocitos
- Órganos linfoides
 - Médula ósea
 - Timo
 - Ganglios linfáticos
 - Bazo

- Morfología de los linfocitos
- Sub-poblaciones
- Circulación
- Ubicación

8
Ontogenia de los
linfocitos y org. linfoides

Los linfocitos (Ls), son las células más importantes de la respuesta inmune adquirida. Están presentes en todos los tejidos, tienen propiedades extraordinarias como son las de aprender nuevos procesos, guardar memoria del programa de estos procesos para activarlos cada que sea necesario, enseñar a otras células mecanismos adicionales de defensa y conservar la capacidad de reproducirse una vez que han llegado a su total madurez para generar clones que amplifican su capacidad específica de defensa.

ORIGEN DE LOS LINFOCITOS

Como las demás células del sistema inmune, los Ls se originan en la médula ósea, uno de los dos órganos linfoides llamados primarios. Los Ls destinados a producir Acs, los LsB, maduran en ese órgano, los encargados de la inmunidad adquirida celular, los LsT, maduran en el timo, el otro órgano linfoide primario. Ambos tipos de Ls al madurar pasan al torrente circulatorio y colonizan los órganos linfoides secundarios, bazo, ganglios linfáticos y acúmulos linfoides de las mucosas en donde establecen contacto con los Ags que los activan y programan para producir Acs o y citoquinas (Fig. 8-1).

Médula ósea

Es un órgano de gran tamaño, 3.000 a 4.000 g que varía de peso de acuerdo con las necesidades del organismo y se encuentra localizado en forma dispersa en el interior de los huesos. Sirve de albergue a la célula madre o pluripotencial, de la cual se originan, la mayoría de las células responsables tanto de la inmunidad innata como de la adquirida.

Los Ls representan del 10 al 20 por ciento de las células de la médula ósea. La actividad funcional de la médula cambia sustancialmente de acuerdo con las demandas. Así, un estímulo antigénico desencadena rápidamente una mayor producción de Ls y de fagocitos (PMN y monocitos, Mon).

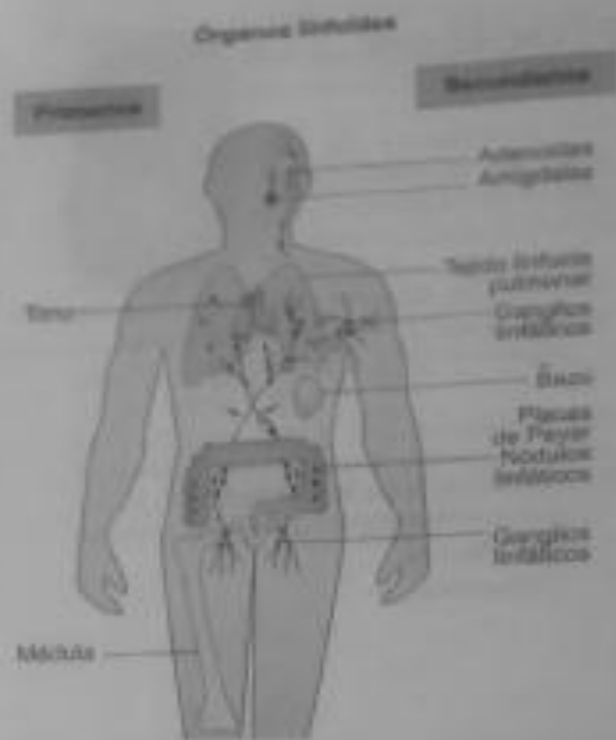


Figura 8-1. Órganos linfoides primarios y secundarios.

La superficie interna de las cavidades de los huesos largos está recubierta por el endostio, constituido por una capa de osteoblastos y osteoclastos sobre las cuales se ubican las células madres, que gracias a su estrecho contacto con áreas especiales en endostio, recibe los estímulos necesarios para dar origen a las líneas eritroide, mieloide y linfóide. El establecimiento de nichos especiales permite la diferenciación de la línea linfóide en 2 rutas, la de los LS^T y la de los LS^B . Las células formadas en la médula traspasan el epitelio de estos senos para poder ingresar al torrente circulatorio (Fig. 8-2).

Los LS que migran al timo para su maduración se conocen como $La\text{-}pro\text{-}T$ y los estudiaremos más adelante.

Origen y maduración de los LS^B . En las aves éstos maduran en un órgano situado en proximidades a la cloaca, conocido como bursa de Fabricius. Curiosamente este órgano se pierde en la evolución posterior y en los vertebrados la maduración de los LS^B tiene lugar

primero en el hígado, en la vida temprana y luego en la misma médula ósea durante el resto de la vida.

El proceso por el cual una célula plasmática de la médula se diferencia hacia la línea extracelular y por contacto célula a célula, con los componentes del estroma medular. Los diferentes estadios de desarrollo dan lugar a características fenotípicas y funcionales distintas. Se inicia por efecto de la $IL-7$ y $IL-6$ de la médula. Se han identificado más de 20 proteínas de membrana en los LS^B que aparecen secuencialmente como puede apreciarse en la Fig. 8-3.

La célula madre es $Kit^+ SCAT^+$, al adquirir la molécula $FLT3$ se hace generadora de la línea linfóide. Posteriormente expresan las moléculas $B220$ y $CD43$ con la cual se convierte en célula pre-proB y en un siguiente paso de maduración se hace $CD19^+$ y $CD24^+$, en cuyo caso se denomina $L\text{-}proB$. Posteriormente expresa en su membrana moléculas de inmunoglobulina M, que actuarán como receptores para Ag , etapa en la cual el LS se llama inmaduro. En un paso final expresará además de la IgM , moléculas de IgD , convirtiéndose en LS maduro, apto para migrar a los órganos linfoides secundarios, ganglios y timo, donde esperará a que le sea presentado un Ag compatible con su receptor IgM . Si ésto ocurre, pierde la IgD e inicia su transformación en célula plasmática.

Son necesarios varios factores solubles para lograr la mencionada maduración del LS , siendo los más importantes el $CXCL12$, que es una quimioquina y que permite la adhesión y contacto de la célula madre a las células del endostio; otra molécula importante es la $IL-7$ producida por diferentes células a nivel de la médula.

Un nuevo concepto que ha permitido un mejor estudio del origen de las diferentes líneas de linfocitos y de células plasmáticas es la aparición de nichos, o segmentos especiales del endostio que cubre la superficie ósea que gracias a características especiales con el mismo de desarrollo no está adecuadamente esclarecido, permite la expresión de moléculas de adhesión y la producción de factores

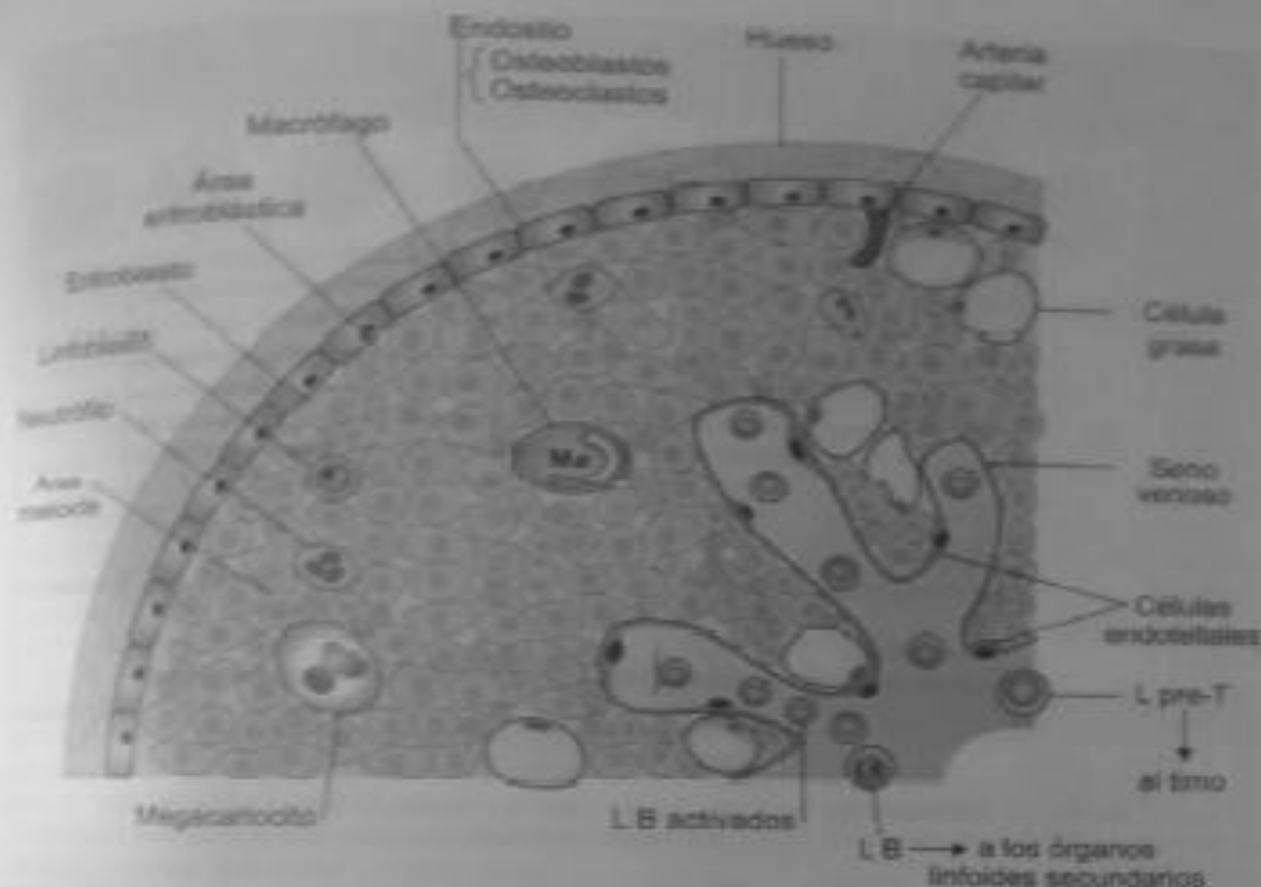


Figura 8-2. Médula ósea. Sobre el endostio se asientan las células pluripotenciales o madre, que da origen a las áreas mieloide, eritroida, megacariocítica y eritrocítica. Los LB se originan y maduran en ella y una vez concluida en células plasmáticas; muchas de ellas regresan y se ubican en la médula en donde inician la producción de diferentes clases de Acs. Los LB salen como células pre-T, migran al timo en donde maduran.

de maduración que inducen la formación de las líneas II y LB.

En el proceso de maduración de los LB ocurre una selección similar a la que se venía dando al evaluar la maduración de los LT, proceso gracias al cual se conservan los clones de células con potencialidad de reaccionar eventualmente contra Acs externos, en tanto que por selección negativa son destruidos aquellos con capacidad de reconocer los Acs propios del organismo. Sólo un 75% de los LB inmaduros sobreviven a estos procesos de selección.

De la médula estos LB migran hacia los ganglios linfoides secundarios en donde finalmente, o por medio de una sub-población de LT, los ayudadores o Th, (del inglés helper), reciben al Ag que las células presentadoras han llevado a esos órganos. El estímulo

de la presentación de un Ag las transforman en células plasmáticas, productoras de Acs específicos contra el Ag responsable de su generación.

Cuando el LB se activa por contacto con un Ag, pierde la IgD de membrana.

La mayoría de los LB que son programados en los ganglios linfáticos por su contacto con un Ag específico, retornan a la médula en donde cumplen su función de productoras de anticuerpos contra ese Ag. Otros colonizan las mucosas.

Un 5% de los LB expresan la molécula CD5 y constituyen una subpoblación conocida como LB-1 que tienen la característica de generar Acs de la clase IgM contra ciertos microorganismos en forma espontánea, es decir sin necesidad del estímulo de LT o Th. Estos Acs

	Célula linfocito precursor	L Pro-B	L Pre-B	LB inmaduro	LB inmaduro	LB activado	LB de memoria	Célula plasmática
MHC II								
CD10								
CD19								
CD20								
CD21								
CD22								
CD23								
CD25								
CD34								
CD30								
CD40								
CD45								
CD72								
PCA-1								

Figura 8-3. Moléculas de los LsB. Se presentan las más importantes, de las muchas que se expresan en la membrana de los LsB según el estado de maduración en que se encuentren.

se denominan Acs naturales y hacen parte de la inmunidad innata.

La carencia de determinada kausa de timona impide la maduración de los LsB y en consecuencia no pueden producir Acs, lo cual genera una forma de inmunodeficiencia conocida como agammaglobulinemia primaria. Ver capítulo 25 de inmunodeficiencias primarias.

El timo

Construye el órgano central de la inmunidad celular. Está ubicado en la parte superior del mediastino anterior. Se origina en el tercero y cuarto arcos faringeos durante la sexta u octava semana de la gestación, tiene una gran actividad en la vida embrionaria y alcanza su mayor tamaño en el periodo perinatal, casi igual al del tamaño del corazón del feto, llegando a pesar 40 g a la edad de 7 años. De ahí en adelante pierde tamaño y hacia los 30 años pesa sólo 12 g, pero contrariamente a lo aceptado hasta hace poco, continúa siendo un órgano con actividad durante toda la vida del individuo, actividad que puede incrementarse

cuando se requiere producción de más LsT. La circulación de los Ls a través del timo es muy activa: se ha demostrado que en el ratón, por ejemplo, pasan por el timo cada 24 horas entre 50 y 100 millones de estas células.

Es un órgano constituido por células epiteliales que emiten prolongaciones que se unen entre sí formando una estructura esponjosa en cuyo interior se localizan los LT tímicos que se originan en la médula ósea por efecto de las IL-3 e IL-7 que hacen que la célula madre caracterizada por el Ag de membrana CD34, inicie la producción de linfoblastos generadores de Ls. Algunos de éstos, por efecto de la IL-7 adquieren una molécula de membrana, la CD7 que les permite reconocer al timo como el órgano en el cual deben ubicarse. Naturalmente esto implica que en los capilares del timo debe existir otra molécula con la cual interactuar para poder entrar al parénquima del órgano. El L que entra a él, tiene además en su membrana el Ag CD45, que es una fosfatasa proteica de tirosina, enzima indispensable para su maduración y para la regulación

de sus funciones. Los Ia que entran al timo surgen dentro de él por influjo de las quimiocinas CCL21 y CCL25 que interactúan con los receptores CCR7 y CXCR4 (ver tabla 12-2 del capítulo 12).

De la estructura epitelial salen prolongaciones que rodean los vasos sanguíneos para formar una cápsula o doble barrera que evita la entrada de células linfoides que no hayan adquirido, en la médula ósea, los receptores de membrana afines a los receptores del endotelio de los capilares venosos del timo. Las células epiteliales poseen moléculas HLA-II, que presentan a los timocitos Ags propios de las células propias del organismo.

Tanto en la cortical como en la zona medular hay Mφs que se encargan de fagocitar los restos de los innumerables timocitos que mueren en los procesos de selección que veremos más adelante.

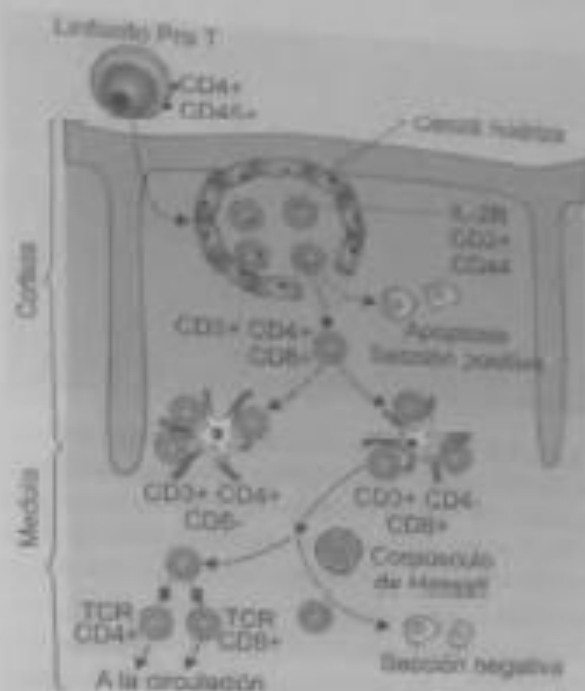
En la medular hay presencia de células dendríticas, DCs, corpúsculos de Hassall, a los que recientemente se les ha asignado la función de inducir el desarrollo de una subpoblación de LsE; además de células mieloides, que tienen similitud antigénica con los músculos estrados y parece que tengan importancia en el desarrollo de la miastenia gravis (Fig. 8-4).

tan pronto el L pro-T ingresa a residir en el timo, adquiere otra proteína de membrana llamada como CD2, que hace parte del conjunto de moléculas llamadas integrinas, que tienen que ver con la adherencia de los Ia a las células presentadoras de antígenos y se transforman en Ia ore-tímicos.

Los timocitos sufren un proceso de desarrollo que incluye tres eventos importantes: generación de los receptores T para antígenos, eliminación de las clones autorreactivas, y división en subpoblaciones con capacidad funcional diferente.

La "unidad de diferenciación" o maduración está integrada por las células linfoides y por las epiteliales "inductoras" del cambio que se derivan del ectodermo y que forman bolsas en las que por un corto período de tiempo permanecen los timocitos, estructuras que son conocidas como "células nodrizas" (Fig. 8-4).

Generación del receptor para Ags de los LsE, TCR. El proceso de maduración se acom-



TIMO		LINFOLITACION	
CD3- CD4+ CD4+ HLA-I+	CD3+ CD8+ CD8- HLA-II+	→	CD3+ CD4+ HLA-II+ LTh
CD3- CD4+ CD4+ HLA-I+	CD3+ CD8+ CD8- HLA-I+	→	CD3+ CD8+ HLA-I+ LT-CTx

Figura 8-4. Estructura del timo. En la parte superior, un esquema de la estructura y curso de los linocitos en su proceso de maduración durante su tránsito de corteza a médula. En la inferior, el desarrollo de los CD4+ y de los CD8+.

paña de la expresión de CD44, molécula de adhesión y del receptor para la IL-7, pero hay ausencia de las CD4 y CD8 por lo cual se denominan células doble negativas. Simultáneamente hay una reorganización del genoma que le permitirá a las células expresar muchos receptores diferentes gracias a la adecuada recombinación de los genes de las distintas porciones de las cadenas que constituyen el TCR y expresar simultáneamente las CD4 y CD8 con lo cual pasan a ser doble positivas y se inicia el proceso de selección de los timocitos que habrán de diferenciarse a linocitos T maduros (Fig. 8-5).

Selección positiva. Consiste en la elección de los timocitos que tengan la capacidad



Figura 8-3. Células nodrizas. Las células nodrizas (DCs) transmiten información a los linfocitos T. Los linfocitos T reciben información para su proceso de selección y maduración. Microscopía electrónica de barrido. Cortesía del Dr. K. Hirokura, Laboratory Investigation, 1998.

de reconocer las moléculas HLA de las células del estroma y de las DCs y que le presentan los Ags propios del organismo. Los linfocitos que con sus TCR reconocen débilmente esos Ags son seleccionados y reciben señales de supervivencia en tanto que aquellos cuyo TCR es defectuoso o no reconocen los Ags presentados no son seleccionados y por el contrario son inducidos a morir por apoptosis. Ver capítulo 14. Con este mecanismo son destruidos el 95% de los timocitos.

Selección negativa. Este el proceso tiene lugar en la zona medular en donde las DCs presentan nuevamente Ags propios y aquellos timocitos que reaccionan ávidamente con ellos son destruidos para evitar que al madurar y salir del timo puedan reconocer y atacar las células propias del organismo. De no ocurrir este proceso se desarrollarían afecciones auto-destructivas o autoinmunes. Durante esta selección se destruyen más del 90% de los timocitos. Algunos, con afinidad limitada contra lo propio, no son destruidos y entran posteriormente a la circulación, pero se mantienen reprimidos por una sub-población especial de LsT reguladores o supresores y únicamente bajo determinados procesos, no totalmente esclarecidos aún, se activarán y atacan lo propio generando afecciones autoinmunes.

Durante el crecimiento de la línea linfocítica, la IL-3 induce la aparición de una eruma en ciertas células precursoras de linfocitos T; la

20-A-SDH, que reduce la progesterona a testosterona-20-alfa-hidroprogesterona-4-en-2-ona. Su ausencia es responsable de una inmunodeficiencia (ver capítulo 25).

Generación de sub-poblaciones de LsT

Una serie de procesos secuenciales e irreversibles llevan a la generación de grupos celulares con diferente fenotipo que cumplen distintas funciones. Los Ls que sean CD4^+ CD8^- , que en adelante llamaremos LsT CD4^+ o LsT-H , reconocen moléculas HLA-I y adquieren en su membrana el Ag CD28 , tendrán actividad lítica sobre algunas células infectadas por virus, los linfocitos con gran afinidad por los HLA-II se convertirán en CD4^+ CD8^- , que se conocen como LsT CD4^+ o LsT ayudadores o LsT-H (del inglés helper) (Fig. 8-4). Los corpúsculos de Hassall producen una linfopoyetina, conocida como TSLP y expresan la quimiocina CCL22 que atrae a Ls que tengan el receptor CCR4 para inducir su transformación en linfocitos con el fenotipo CD4^+ CD25^+ que se conoce con el nombre de: reguladores, LsT o LsT-R que cumplen la función especial de hacer "silenciosos" aquellos LsT capaces de reconocer lo propio, pero que no fueron destruidos en el timo.

Todos los Ls de estas sub-poblaciones expresan la molécula CD3 , marca de maduración y que señala a aquellos LsT con capacidad de reconocer un Ag determinado y reaccionar contra él. Otro grupo de LsT expresan un receptor constituido por cadenas α y β diferentes a las α y β de las sub-poblaciones mencionadas y que carecen además de las moléculas CD4 , CD8 . Se conocen como Ls $\gamma\delta$ y al salir del timo reconocerán Ags lipoproteicos y hacen parte de la inmunidad innata como ya lo mencionamos en el capítulo 4.

Linfocitos post-tímicos

El timo "exporta" varios millones de clones de LsT maduros diferentes, capaces cada uno de ellos de reconocer determinado Ag. Antes de este reconocimiento son llamados Ls vírgenes. LsT , a pesar de su grado avanzado de desarrollo, no son células terminales y conservan la capacidad de multiplicarse en la periferia.

Cuando son programados en el grupo linfático o en el hazo por el Ag presentado por las DCs y por los Msc que began a el primarios de la periferia, cambian sus moléculas

de adherencia y sus receptores para quinonas, lo que les permite ingresar a los tejidos y a órganos no linfoides para enfrentarse al Ag. Es así como expresan selectina L, CD44 y quemoquinas CCR5, CCR6 y CCR7. Tanto los LaTh como los LaT-Cir que salen a la circulación son CD45+ y están en capacidad de reconocer y ser estimulados por un Ag que les sea adecuadamente presentado.

MORFOLOGÍA DE LOS LINFOCITOS

El L es una célula a la que hasta hace apenas cuatro décadas no se le conocía función específica, pero que en realidad es una de las de mayor jerarquía en el organismo, sólo superada por la neurona; es capaz de reconocer Ags específicos, "aprender" "guardar información" "enseñar a otras células". Sus características más importantes son la especificidad en el reconocimiento de Ags y la capacidad de guardar memoria del primer contacto con ese Ag.

La primera célula de esta línea, el linfoblasto, se reproduce con gran cantidad en la médula ósea, 10^{10} en veinticuatro horas. Un hombre de setenta kilos posee en su organismo 1 500 g de La, si se incluyen los que están en circulación y los que han ocupado los diferentes órganos linfoides.

El L es una célula esférica de 8 a 12 micras de diámetro con un núcleo discretamente ovoide que ocupa el 90% del volumen de la célula y está formado por densos gránulos de cromatina, que se tiñen intensamente de púrpura con los colorantes utilizados comúnmente en hematología. El citoplasma de la célula es pequeño, forma un anillo alrededor del núcleo y se tiñe de azul claro (Fig. 8-6). La movilidad de las células es muy diferente a la de los granulocitos y su traslación se hace por prolongaciones citoplasmáticas en el sentido del movimiento de la célula, dando lugar a la formación de una imagen que se ha llamado en espejo de mano.

Las distintas organelas celulares están presentes en el L, pero en forma más o menos rudimentaria; el aparato de Golgi es escaso, se encuentran algunos ribosomas libres y en ocasiones un esbozo de retículo endoplásmico; los microtúbulos y las microfibrillas están presentes pero en menor cantidad que en los

oT, como corresponde a su menor capacidad de movilidad; en la membrana celular poseen un pequeñas prolongaciones en forma de espinas.

El funcionamiento de los LaT y LaTh se pudo esclarecer inicialmente gracias a los estudios realizados en los aves, pues la existencia en ellas del timo y de la Bursa permite la resolución fisiológica de cualquiera de estos órganos y el estudio de los cambios funcionales del sistema linfático producidos por la falta de uno u otro tipo de La.

La reseción del timo, si se hace tempranamente, en el periodo perinatal, interfiere notablemente con el sistema inmune celular. El crecimiento se ve muy comprometido y la aptitud en la de un animal caparictico. Por otra parte, se hace muy susceptible a infecciones producidas por parásitos, hongos, virus y algunas bacterias que tienen la característica de reproducirse dentro del Ma.

En los animales timoectomizados no rechazan los trasplantes de órganos o tejidos, y en los órganos linfoides se aprecia atrofia de ciertas áreas que normalmente son ocupadas por los linfocitos T.

Por el contrario, si se preserva el timo y se reseca la Bursa, el crecimiento del animal es aparentemente normal, rechaza el trasplante de órganos o tejidos, pero será muy susceptible a las infecciones bacterianas por falta en la producción de Abs, responsabilidad de los LaB.

ÓRGANOS EN DONDE SE PRODUCE EL ENCUENTRO CON LOS ANTÍGENOS

Los LaB que maduran en la médula y los T que lo hacen en el timo, migran a los órganos linfoides secundarios, ganglios linfáticos y bazo, en donde le son presentados los Ag contra los cuales deben reaccionar.

La función principal de estos órganos es la de facilitar el encuentro entre las células presentadoras de Ags y los LaT y LaB. En ellos se inicia la respuesta inmune específica. Veamos estos órganos.

Ganglios linfáticos

Se trata de pequeños órganos en forma de riñón, situados estratégicamente en las vías

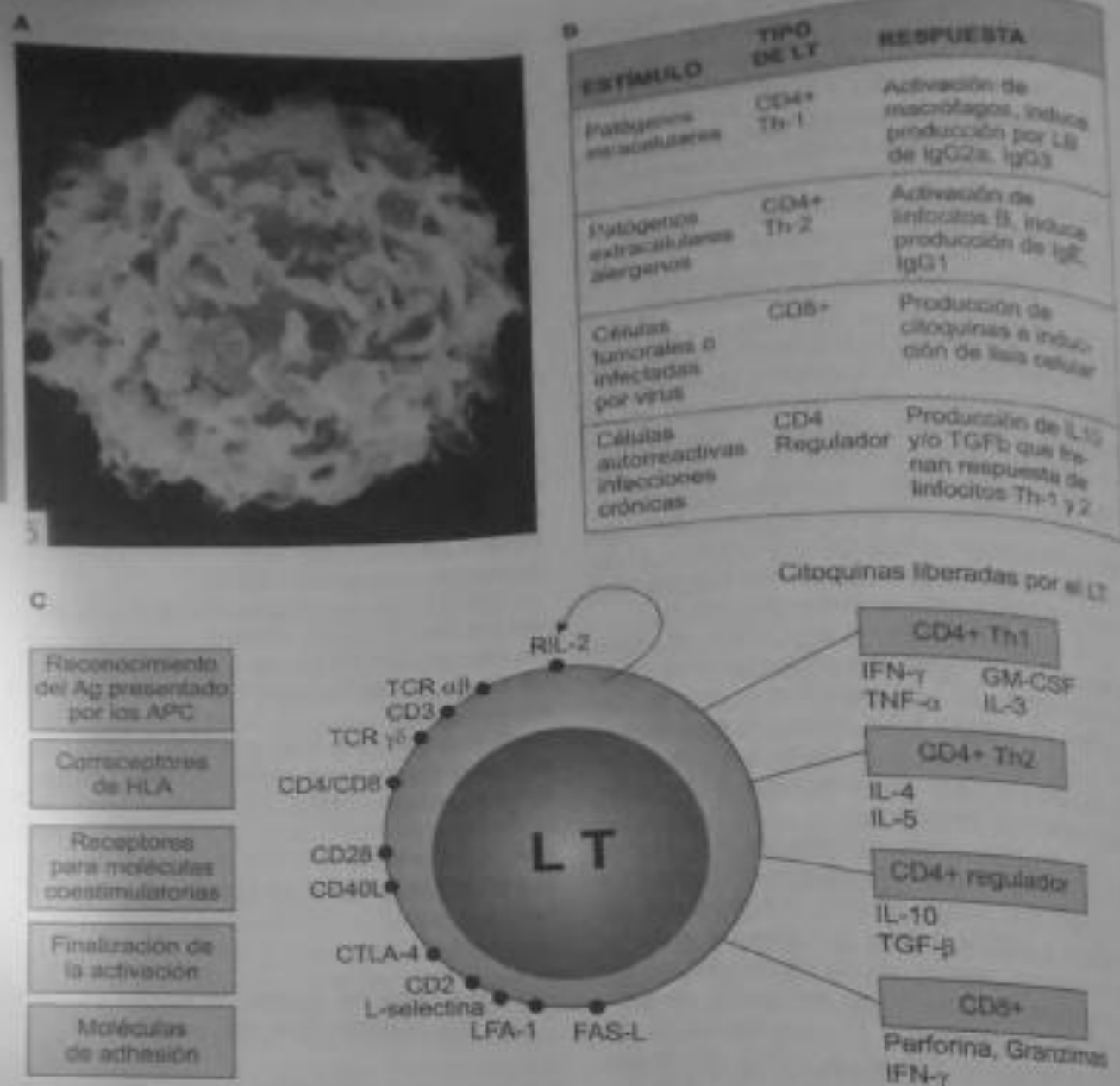


Figura 8-6. Características de un LT. A. Microscopía electrónica y de luz. **B.** Subpoblaciones y sus respuestas. **C.** Moléculas de membrana y citoquinas producidas por ellas.

de drenaje de canales linfáticos de la mayor parte de los territorios y órganos del cuerpo humano. Por su parte convexa drenan canales portadores de la linfa, moléculas proteicas y DCs provenientes de la periferia que traen los Ags que han capturado y procesado en la piel o las mucosas. Durante el tránsito por el ganglio, la linfa sufre un proceso de filtración, gracias al cual se retienen las partículas extrañas que son fagocitadas por los Mφs o reteni-

das por las DCs. El antígeno traído o retenido por las DCs es presentado en forma pautada para asegurar el estímulo antigénico adecuado y prolongado sobre los Ls. Otras células, las dendríticas reticulares, poseen receptores Fc (para anticuerpos) y C1q, para C3b (del complemento), gracias a los cuales pueden retener complejos inmunes formados por la unión de Ag y Ac. El estroma reticular sirve de soporte a un gran número de Mφs y Ls.

Los **La** ocupan zonas especiales del órgano dependiendo si son **LaT** o **LaB**. Los **LaT** se encuentran primordialmente debajo de los senos subcapsulares y, en forma más abundante, en la parte profunda de la corteza, zonas que se conocen como **timodependientes**; los **LaB** ocupan la parte superficial de la corteza, formando agrupaciones conocidas como **folículos linfoides** (Fig. 8-7).

Dentro del ganglio se encuentran unas estructuras especiales, los **folículos linfoides** que son nódulos de 1 a 2 mm de diámetro con un centro germinal. En animales protegidos de contacto con microorganismos desde el nacimiento, estos son pequeños o pueden estar ausentes. Su tamaño y número aumenta con los contactos antigénicos repetidos y crecen durante el proceso que dure un estímulo determinado. En esta etapa, los **LaB** proliferan y se diferencian en **LaB** de memoria o en células plasmáticas que migran al centro del ganglio linfático para iniciar la producción de los anticuerpos. Los folículos linfoides se encuentran, además de los ganglios linfáticos, en el bazo y en los nódulos linfáticos de las mucosas del tracto digestivo, respiratorio y genitourinario. Cuando se presenta un estímulo antigénico, aumentan de tamaño debido a la proliferación acelerada de células linfoides, dando origen a los **centros germinales** (ver capítulo 10).

La información sobre la entrada de un "agresor" o **Ag** extraño puede llegar al ganglio linfático por dos vías diferentes, bien por los canales aferentes o bien por las venas postcapilares. Por los linfáticos que drenan los tejidos adyacentes al ganglio llegan **DCs** a presentar a los **LaT** vírgenes, los **Ag**s capturados en la periferia.

Por la segunda vía llegan los **Mos** y presentan a los **LaT** el **Ag** que previamente han aprendido a reconocer y que están por lo tanto programados para reaccionar rápidamente contra él.

Por los canales linfáticos eferentes salen los **LaT** y **B** programados, que llegan a la circulación sanguínea a través de las venas subclavas y del canal torácico que reúne a todos los canales linfáticos. De la circulación sanguínea pasan al tejido por donde entró el **Ag** responsable de su activación.

El ganglio linfático es un órgano de filtro para la linfa, almacén de **La**, centro de producción de **Acs** y de citoquinas y generador de la de memoria.

El bazo

Es un órgano de función mixta: hematológica e inmunológica. Desde el punto de vista hematológico sirve de órgano de reserva de eritrocitos, es el encargado de destruir las células sanguíneas desreguladas, y es productor de factores importantes en el mecanismo de la coagulación. Desde el punto de vista inmune representa un filtro que atrapa los **Ag**s que hayan entrado directamente al torrente circulatorio o que, al proliferar en los tejidos, sobrepasen la barrera inmune representada por los canales y los ganglios linfáticos.

La cantidad de **La** que pasan por el bazo en un tiempo determinado supera a la que circula por los demás órganos linfoides. El bazo responde muy bien a la presencia de **Ag**s timoindpendientes, aquellos contra los cuales se producen **Acs** sin la colaboración de los **LaT** que por lo general son de la clase **M**. (Ver Inmunidad Humoral) Produce **tifina**, tetra péptido importante en el estímulo de la fagocitosis. Es un órgano especialmente eficiente en la remoción de microorganismos opsonizados con factores del complemento en tanto que el hígado remueve en forma preferencial los recubiertos con **Acs**. Es importante en la defensa contra hemófilos y neumococos. La esplenectomía predispone a septicemias severas por estas bacterias.

Los **LaB** del bazo son pobres en **IgD** y en **CD25**. Al contactar a un **Ag** migran a la pulpa blanca donde generan folículos linfoides y producen grandes cantidades de **IgM**.

También tiene actividades de inmunidad celular.

La constitución del bazo es esponjosa y dentro de ella se distinguen dos tipos de estructuras, la pulpa roja y la pulpa blanca (Fig. 8-8 y 8-9).

En la **pulpa roja** predominan las funciones hematológicas. Sirve de reserva de eritrocitos, los depura de restos de organelas y los destruye cuando han cumplido su ciclo vital de 120 días. Está formada por senos y cordones de Billroth. Los senos están constituidos por células cilíndricas organizadas en parde-

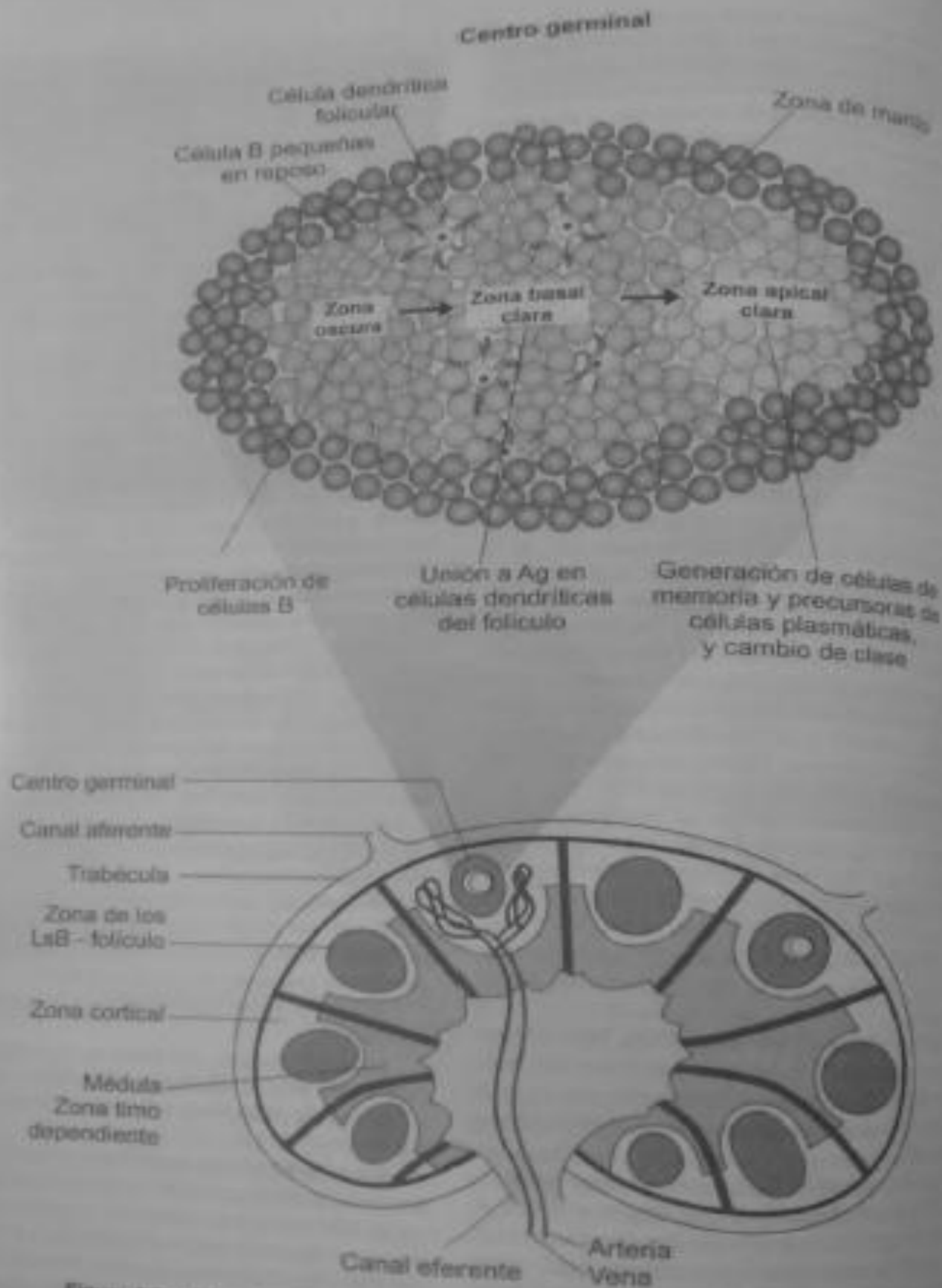


Figura 5-7. Estructura de un ganglio linfático. En la parte superior las células constituyen un centro germinal.



Figura 8-8. Estructura del bazo. Cada arteria o segmento se rodea de una arteria rodeada de la cual se ubica la pulpa blanca formada por LaT y Ma. La arteria desemboca en varios venos. Luego se encuentra la pulpa roja en donde se encuentran los LaT rodeados de Ma. Por la vena salen del bazo las diferentes células y Aa generadas en él.

los, que dejan perforaciones o espacios libres entre ellas de 2 mm, a través de los cuales tienen que pasar los eritrocitos. Como al envejecer se hacen rígidos y no logran pasar por las fenestraciones por lo cual son destruidos; si están alterados se les quita la parte afectada. En los muelles de Billroth, las células reticulares forman una red que alberga Ma, la células plasmáticas y células reticulares.

La pulpa blanca cumple principalmente funciones de tipo inmune: "filtra" la sangre que pasa por el bazo, reteniendo los Aa que escapan de la red linfática o que ingresan directamente al torrente circulatorio. Alrededor de la arteriola se encuentran los LaT y más a la periferia los centros germinales ricos en Ma, LaB y DCs.

Los espacios entre las pulpas roja y blanca están llenos por el llamado tejido marginal, rico en eritrocitos y la en tránsito de la pulpa roja a la blanca.

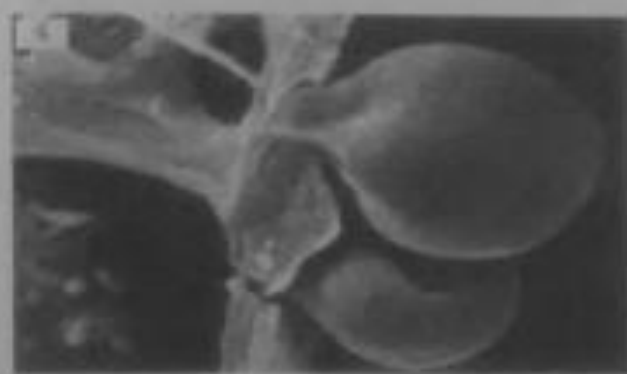
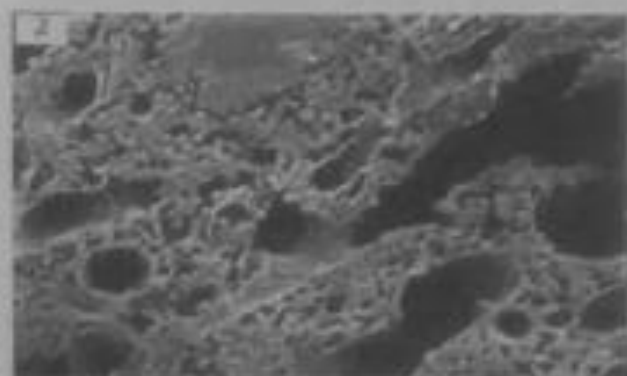
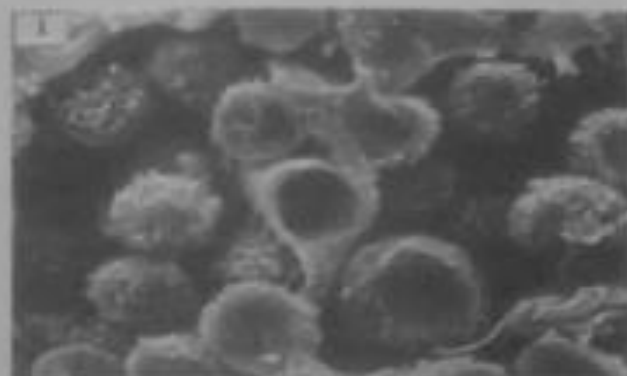


Figura 8-8. El bazo al microscopio electrónico. 1) Pulpa blanca, arteria rodeada de linfocitos. 2) Senos y cordones de la pulpa roja. 3) Un macrófago interactuando con un L. 4) Eritrocitos en su paso por las fenestraciones de la pared de un seno venoso. Cortesía de los Drs. T. Fujit y M. Koshimizu, Universidad de Nagoya, Japón.

En las PP hay IsT pero predominan los IsB, concentrados en los centros germinales o zonas B. Éstos están programados para la

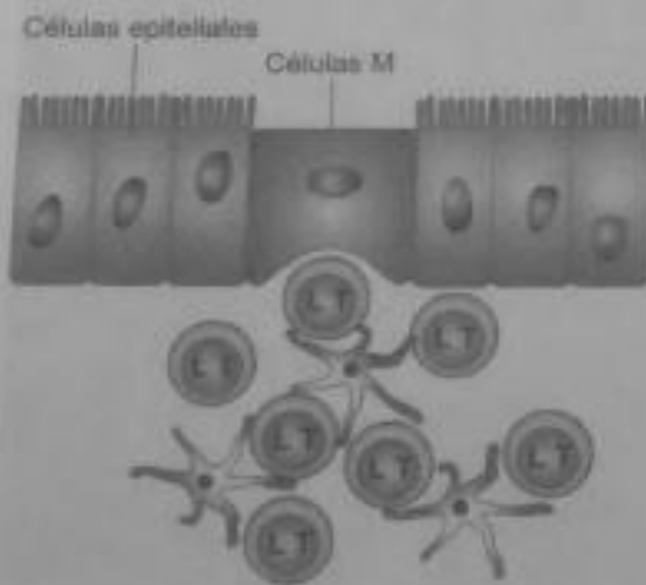


Figura 8-10. Placa de Peyer. La célula M en el centro establece contacto directo con linfocitos y células dendríticas que reciben la información de los microorganismos que la célula captura de la luz intestinal.

La proporción de LsT ayudadores presentes en estos acúmulos linfoides es superior a encontrado en la sangre y cumplen la función de asegurar un adecuado estímulo a los B para la producción de IgA.

Tejido linfóide nasofaríngeo o NALT. Conocido también como anillo de Waldeyer, incluye las amígdalas, las adenoides y gran número de acúmulos linfoides. Son ricos tanto en IgA como en IgG. A ese nivel se produce IgA. Su estratégica localización parece indicar una función

importante en relación con la regulación de la defensa contra Ags que puedan entrar por la vía oral. No obstante, hasta el presente no ha sido posible precisar el papel que desempeñan en los mecanismos inmunológicos.

ÓRGANOS LINFÓIDES TERCIARIOS

Epitelio intestinal

Algunos inmunólogos dan esta denominación a las estructuras linfoides intraepiteliales. Otros a las neoformaciones linfoides que se generan en los procesos inflamatorios crónicos. Hay crecientes indicios que en el intestino maduran los *Ta* con un tipo de receptor llamado TCR $\gamma\delta$ que estudiamos en la sección de inmunidad innata y que tienen importancia en el manejo de los Ag lipoproteicos que llegan al organismo por la vía oral.

Linfocitos interepiteliales

La presencia de *Ta* entre las células de las mucosas así como en la piel, es muy marcada y en algunos complementan a ese nivel su maduración gracias a citoquinas producidas por los queratinocitos. Estos *Ta* pueden ser de tipo $\alpha\beta$ y $\gamma\delta$. El número de estos últimos se incrementa en la piel, en casos de lepra y de leishmaniasis mucocutánea.

La piel de un adulto contiene 4 billones de *TaT*. Son igualmente abundantes en el epitelio del árbol respiratorio y mucosa genitourinaria. En el capítulo de Inmunidad celular se ampliarán los conceptos sobre la importancia de estos *Ta*.

Los *Ta* que en condiciones normales infiltran la piel y las mucosas son en su gran mayoría *TaT*.

La piel como órgano inmunológico. La piel, además de servir de barrera mecánica, cumple funciones inmunológicas específicas por parte de varias de sus células.

Los queratinocitos, por ejemplo, tienen similitud morfológica y funcional con las células epiteliales del timo y participan en la maduración de los *TaT* que circulan por la piel, gracias a la producción de IL-1 y de una hormona similar a la timopoyetina.

Las células de Langerhans, por su parte, pertenecen a la familia de las DCs y son ex-

celentes presentadoras de Ag a los *TaT*. Constituyen del 2 al 8% de las células de la epidermis, son las únicas que en la piel poseen en su membrana Ag HLA-DR y receptores para el complemento así como Fc. Tienen la función de captar Ags que se ponen en contacto con la piel para llevarlos a los ganglios linfáticos. Las células de Langerhans estimulan la producción de *TaT* ayudadores. Además son productoras de IL-3.

Las células de Granstein son una subpoblación de células dendríticas resistentes a la luz ultravioleta y que en su contacto con los *TaT* inducen la formación de *TaT* supresores.

CIRCULACIÓN DE LOS LINFOCITOS

Los *Ta*, una vez que han madurado en los órganos primarios, entran en circulación para buscar en los órganos linfoides secundarios los Ags contra los cuales deben reaccionar atraídos por la quimioquina CC-7, para la cual tienen el receptor específico, CCR-7. Una vez lo encuentran se activan y se convierten en células efectoras y de memoria que inician un segundo ciclo de circulación para ir a ubicarse en el sitio en donde ha tenido lugar el ingreso de Ags y poder cumplir la función de defensa. Esta circulación está controlada por moléculas de adherencia presentes en sus membranas las cuales interactúan con otras conocidas como adhesinas ubicadas en los epitelios cuboides de las venas post-capilares tanto de los ganglios como de las PP y de los territorios en donde haya tenido lugar un proceso inflamatorio.

A su vez los Ags solubles y los capturados por DCs y por Mφs viajan por la linfa y por los vasos sanguíneos a ubicarse en los ganglios linfáticos y en el bazo.

La linfa circula por los canales linfáticos, estructuras tubulares formadas por una capa delgada de células endoteliales, que se mantienen colapsados, pero que ante el aumento de líquidos extracelulares en procesos inflamatorios se distienden y dan entrada a los líquidos, que llevan Ags solubles. Expresan la molécula CCL21 que permite el ingreso a ellos de las DCs activadas. Los canales poseen válvulas, que los dividen en las unidades funcionales, llamadas linfangiones, lo cual permite

que los linfocitos y las partículas capturadas en la periferia de todos los tejidos sean conducidos en una corriente unidireccional hacia los ganglios linfáticos (Fig. 8-11).

Esta, linfa, esos Ags solubles, esos DCs y esos Ls llegan a los ganglios regionales por los canales linfáticos aferentes.

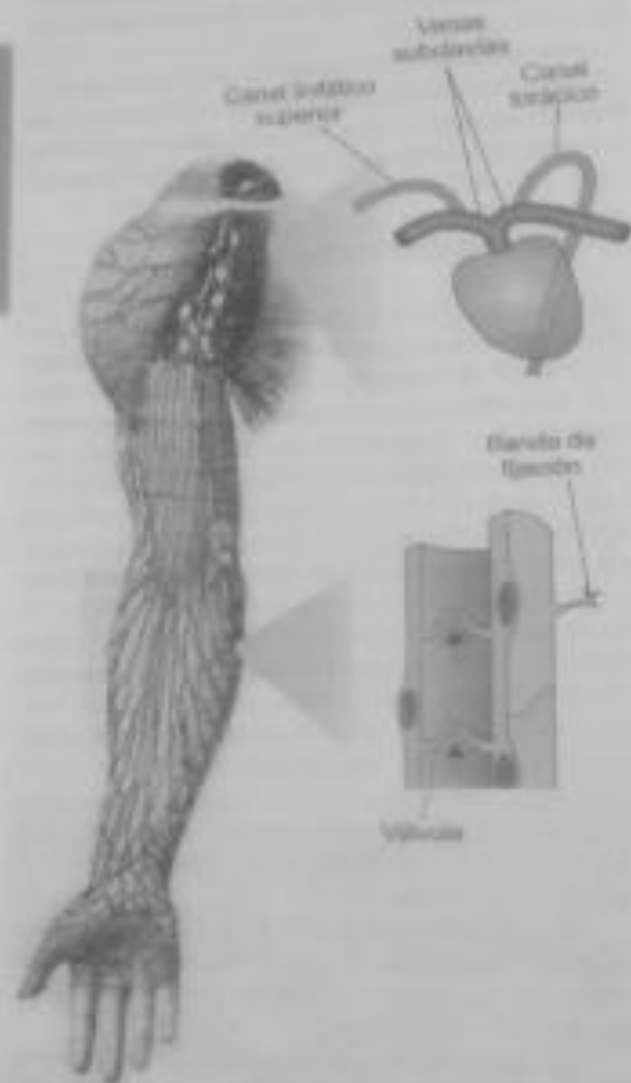


Figura 8-11. Sistema linfático. Canales linfáticos de miembros superiores que drenan a los ganglios linfáticos de la axila. Los canales linfáticos que salen de los ganglios regionales desembocan en el canal linfático superior o en el canal torácico para entrar luego a la circulación sanguínea. Los canales linfáticos tienen válvulas que impiden el retorno de la linfa y permiten el flujo a tal medida que los linfocitos permanecen peristalticos.

Los LsT vírgenes, pues que no han tenido contacto con el Ag para el cual poseen un receptor específico, inician su circulación en los órganos linfoides primarios, entran al torrente circulatorio, pasan luego a los ganglios linfáticos a donde son atraídos por las quimioquinas CCL21 y CCL19 producidas por las Ls selectina L se une a la adreína PNA, un glicoproteína, unión que lo fija e induce su paso al parénquima del ganglio para tratar de establecer contacto con la DC presente en la periferia y que pueda tener el Ag para el cual tienen receptor.

La salida de los Ls activados hacia la periferia está controlada por la molécula exitosa-1-fosfato. La carencia de ésta o su antagonización con el fármaco FTY720 ocasiona la acumulación de Ls en el ganglio, esto es linfopenia periférica. Si el L vírgen no encuentra el Ag para el cual tiene receptor, reingresa a la circulación general saliendo de los capilares eferentes de los ganglios que drenan hacia las venas subclavas o el canal torácico para ingresar nuevamente al torrente circulatorio recirculando por el ir a la búsqueda del Ag u otro ganglio linfático. Este ciclo de circulación dura varias horas. (Fig. 8-12).

Si el L es activado por la captura de un Ag, modifica su patrón de receptores de membrana para quimioquinas, expresando los CCR4 y CCR6, así como el de moléculas de adhesión para poder ingresar a los tejidos.

Las DCs estimula en los CD8+ la expresión bien del CCR9 que le permite reconocer la quimioquina CCL25 que los llevará al intestino o bien el CCR4 que al unirse a la quimioquina CCL17 y CCL22 les facilita la llegada a la piel.

Otros Ls vírgenes permanecen en circulación menos de media hora e ingresan al hemo igualmente en búsqueda de DC o de Mφ que puedan presentarle un Ag. Este ciclo por el hemo dura 7 horas.

En forma similar los LsB activados por un Ag, modifican la expresión de los receptores de quimioquinas para poder ingresar a diferentes tejidos.

Si la DC del ganglio o del hemo presenta el Ag, la unión al L se facilita por la presencia de moléculas MADCAM-1, ICAM-1 e ICAM-2 que se unen a las presentes en el L que se activan y convierten en LsT de memoria. Estos salen por

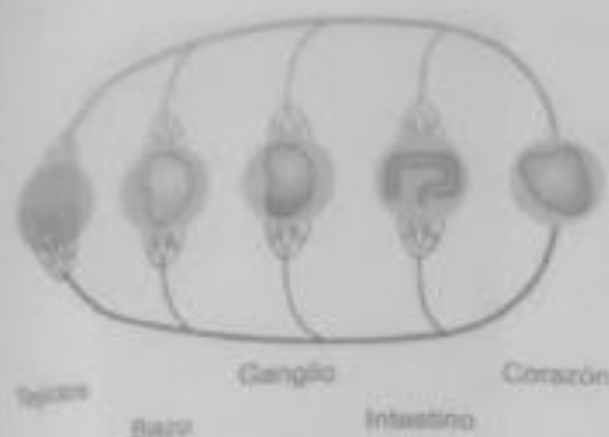


Figura 8-12. Circulación de los linfocitos. Estos salen de la médula, entran a la circulación sanguínea, pasan al seno, reingresan a la circulación en parte de los órganos linfoides secundarios, en donde son activados y vuelven nuevamente a la circulación para ir a los tejidos en busca del Ag responsable de su activación.

los canales eficientes, para alcanzar el conducto torácico, entrar a la circulación sanguínea general y según las moléculas que expresen en su membrana, interactuar con las adhesinas presentes en los vasos de la piel, las diferentes mucosas u en otros tejidos. En las PP la adhesina principal es la molécula MadCAM-1. Para entrar a la piel, expresa un receptor para la selectina E, la CLA-1. (Fig 8.12). Otros Ls expresan migraínas que les permiten interactuar con la cadherina E de las células epiteliales de la piel y de las mucosas y ubicarse entre ellas como la interepiteliales.

En la Figura 8-12 se puede apreciar los porcentajes aproximados de las diferentes subpoblaciones de Ls que circulan en la sangre.

No todo L puede entrar a cualquier órgano linfático. Su ingreso está controlado por la interacción de moléculas de membrana.

En los procesos inflamatorios el número de células cuboides del endotelio de las venas postcapilares se incrementa, por efecto de ciertas citoquinas, para facilitar el paso de Ls a determinados territorios como las membranas sinoviales articulares. Esto ocurre en la artritis reumatoide.

LECTURAS RECOMENDADAS

- ** Wilson A and Trupp A. Bone-Marrow haematopoietic stem-cell niches. (Revisión)

article). *Nature Reviews Immunology* 6: 95-106, 2006.

- ** Miyasaka M and Tanaka T. Lymphocyte Trafficking Across High Endothelial Venules: Dogmas and Enigmas. *Nature Reviews Immunology* 4: 366-370, 2004.
- *** Nagasawa T. Microenvironmental niches in the bone marrow required for B-cell development. *Nature Reviews Immunology* 6: 107-116, 2006.
- ** Takahama Y. Journey Through the Thymus: stromal guides for T-cell development and selection. *Nature Reviews Immunology* 6: 127-135, 2006.
- ** Ley K and Kansas GS. Selectins in T-cell recruitment to non-Lymphoid Tissues and Sites of Inflammation. *Nature Reviews Immunology* 4: 1-11, 2004.
- * Blackburn CC and Manley NR. Developing a new paradigm for thymus organogenesis. *Nature Reviews Immunology* 4: 278-289, 2004.
- ** Cantor HL. Reviving suppression? *Nature Immunology* 5: 247-248, 2004.
- * Jain RK and Padera TP. Lymphatics Make the Break. *Science* 299: 209-210, 2003.
- *** Tarlinton D. Germinal centers: form and function. *Current Opinion in Immunology* 10: 245-251, 1998.
- ** Aloisi F and Pujol-Borrel R. Lymphoid neogenesis in chronic inflammatory diseases. *Nature Reviews Immunology* 6: 205-217, 2006.
- * Rothenberg HV. The Thymic Regulation: Hidden in Plain Sight. *Science* 307: 858-859, 2005.
- ** Petrie HT. Cell Migration and Control of Post-Natal T-Cell Lymphopoiesis in the Thymus. *Nature Reviews Immunology* 3: 850-857, 2003.
- ** Scharfetter P, Tammela T, Kerkkainen MJ and Alitalo K. Lymphatic Vasculature. *Trends in Immunology* 25: 110-116, 2004.
- *** Charo IF and Ransohoff RM. Mechanisms of disease: The many roles of Chemokines and Chemoattractants. Receptors in inflammation. (Revisión sobre circulación de linfocitos). *NEJM* 354: 610-621, 2006.

Linfocitos T e inmunidad celular

9

Damaris López H.
William Rojas M.

- Generalidades
- Reconocimiento del Ag
 - Receptor para Ags de los LsT, TCR
 - Correceptores de las moléculas HLA
- Activación de los LsT
 - Moléculas coestimuladoras
 - Sinapsis inmunológica
- Expansión clonal
- Generación de subpoblaciones de LsT
 - LT CD4+ o ayudador (LT-h)
 - Células T reguladoras
 - Linfocitos citotóxicos, Ctx
 - Linfocitos T de memoria
 - Linfocitos T $\gamma\delta$
 - Células NKT
- Cooperación de los LsT con los LsB
- Circulación de los LsT
- Citoquinas producidas por los LsT
- Finalización de la activación

La respuesta inmune celular está mediada por la acción directa de los linfocitos timodependientes, por sus productos, o por otras células efectoras activadas por ellos. Constituye uno de los sistemas más dinámicos y articulados, encaminado a proteger al hospedero de patógenos que superaron las barreras y los mecanismos de defensa de la inmunidad innata. Es un sistema que de manera fisiológica elimina clones autorreactivos para evitar respuestas autoinmunes. Debido a esto, la respuesta celular al igual que todo el sistema inmune debe distinguir entre lo propio y lo no propio, y entre lo perjudicial e inocuo, para prevenir respuestas innecesarias o autodestructivas.

A lo largo de la evolución, la inmunidad celular ha desarrollado las siguientes características: selectividad o capacidad para discriminar, especificidad en el reconocimiento del Ag, especialización en la respuesta, cooperación con otras células, autorregulación y capacidad de desarrollar memoria.

GENERALIDADES

Las características generales y funciones de la inmunidad celular aparecen en la Fig. 9-1. Ante un primer encuentro con un Ag, la respuesta del LT virgen se puede dividir en varias fases, que pueden tomar de 7 a 14 días para desarrollarse:

1. Reconocimiento del Ag
2. Activación del LT
3. Expansión clonal
4. Función efectora de las subpoblaciones de LsT
5. Finalización de la respuesta
6. Desarrollo de memoria

Ante un segundo encuentro con el mismo Ag, el LT necesitará menos Ag para activarse.



Peter C. Doherty. Compartió con R.M. Zinkernagel el premio Nobel de Medicina en 1996.

Rolf M. Zinkernagel. Premio Nobel en 1996 por su descubrimiento sobre la especificidad de la inmunidad celular.

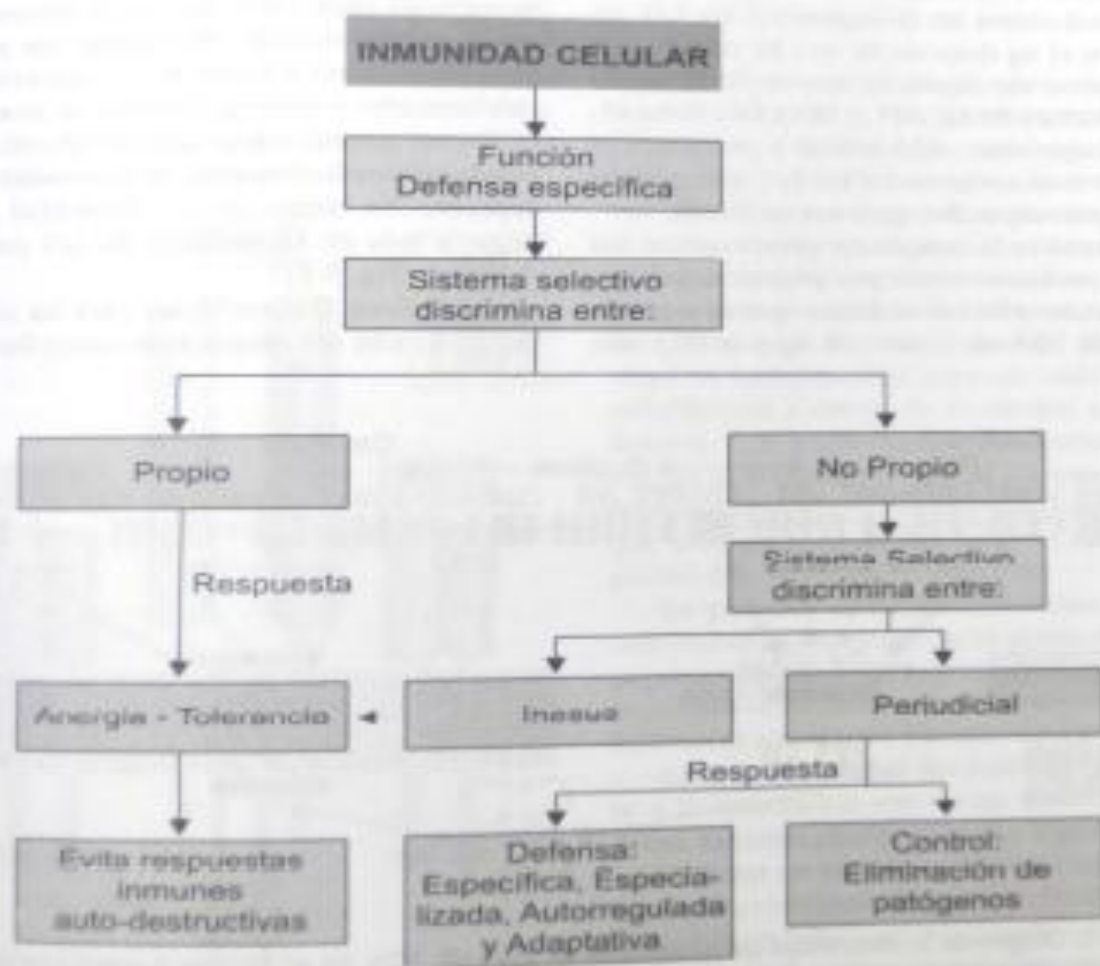


Figura 9-1. Características de la inmunidad celular.

menos dependiente de coestimulación y su fase de activación se desarrollará más rápido.

Los protagonistas de la inmunidad celular son los LsT , veamos sus características en cada fase de la inmunidad celular, así como el tipo de respuesta que desencadenan para defender al hospedero y responder al encuentro con un Ag .

RECONOCIMIENTO DEL ANTÍGENO

Después de la maduración de los LsT en el timo, los LsT vírgenes circulan permanentemente por la sangre e ingresan a los órganos linfoides secundarios, heno, ganglio y nódulos linfoides en busca de un Ag . Dentro de estos órganos, el LT establece contacto pasajero con un gran número de células dendríticas, pero solo se detiene y estrecha la unión con la que le presente el Ag compatible con su receptor.

Como vimos en el capítulo 7 los LsT reconocen el Ag después de que ha pasado por un proceso de digestión dentro de la célula presentadora de Ag (APC), $M\phi$ y DC. Estas células fragmentan, seleccionan y presentan el péptido más antigénico a los LsT que poseen el receptor específico para esa molécula.

La molécula antigénica presentada a los LsT está constituida por péptidos, una pequeña cadena de aminoácidos que se une a la molécula HLA de la APC. El Ag y el HLA son

reconocidos por el LT gracias a un receptor especial llamado, receptor de los LsT o TCR.

Los LsT que participan en la inmunidad innata como los LsT γ δ y las NKT , también poseen TCR, pero no reconocen péptidos sino lípidos presentados por una molécula similar al HLA-I, conocida como $CD1$.

Receptor para Ag s de los LsT , TCR

Como vimos en el capítulo anterior, durante el proceso de maduración, los LsT adquieren el receptor para el reconocimiento del Ag compuesto por dos cadenas α β o γ δ . Estas cadenas son muy polimórficas y poseen un sector o dominio variable (V) y varios constantes (C). Entre ellos se interpone un dominio de unión (J) (de joint). La cadena β tiene además un segmento adicional de diversidad (D). El dominio V tiene tres sectores hipervariables en donde la secuencia de aminoácidos cambia generando una gran cantidad de receptores diferentes específicos para cada Ag . En el genoma humano existen más de 250 fragmentos génicos para las cadenas V, J y D, los cuales sufren recombinación somática durante el desarrollo de los LsT para producir genes VDJ o VJ , razón por la cual se incrementa la diversidad de receptores. Se estima que la diversidad puede llegar a más de 10 millones de LsT con TCR distintos (Fig. 9-2).

Los genes que codifican para las cadenas del TCR están distribuidos en cuatro locos, los

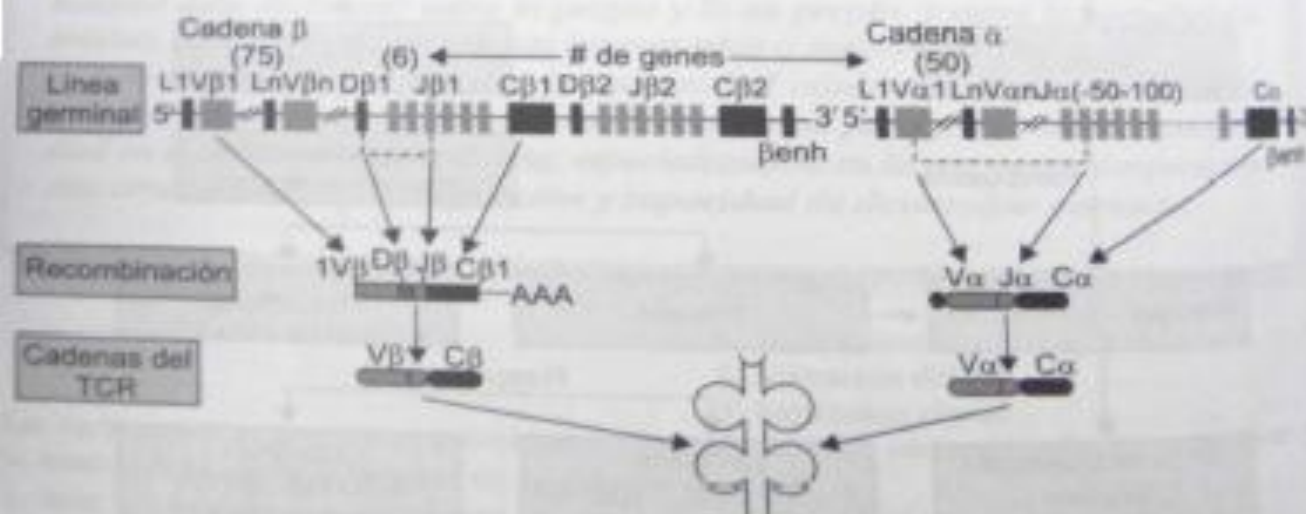


Figura 9-2. Origen de la diversidad de receptores de los LsT , TCR. En el genoma humano hay una gran cantidad de segmentos génicos agrupados en diferentes locos. La recombinación entre uno de cada uno de ellos conduce a la generación de las cadenas β y α que al unirse forman el TCR.

TCRA y TCRD en el cromosoma 14 y los TCRB y el TCRG del cromosoma 7. Las diferentes recombinaciones somáticas de los genes de estos locos por efecto de nucleasas y ligasas, más la adición de nuevos nucleótidos por la enzima deoxirribonucleotidiltransferasa o la eliminación por exonucleasas, genera la gran variedad de receptores T.

El TCR es un receptor de membrana sin segmentos intracitoplasmáticos que no reconoce al Ag en su forma natural; reconoce péptidos lineales que han sido procesados y presentados en el contexto HLA-I o HLA-II. Para transmitir las señales de activación se asocia a una molécula llamada CD3, que está integrada por 3 cadenas diferentes: gamma, delta y epsilon ($\gamma\delta\epsilon$), agrupadas como heterodímeros $\gamma\epsilon$ y $\delta\epsilon$ (Fig. 9-3). Adicionalmente al CD3, el TCR está asociado a un homodímero de cadenas ζ , CD 247, cuya porción intracitoplasmática es responsable de transmitir al interior del LT, el mensaje de que al TCR se ha unido un Ag. Tanto las cadenas del CD3 como las cadenas ζ asociadas al TCR poseen en sus segmentos intracitoplasmáticos, motivos de activación dependientes de tirosina (ITAMs), que al ser fosforilados inician la activación de los LT.

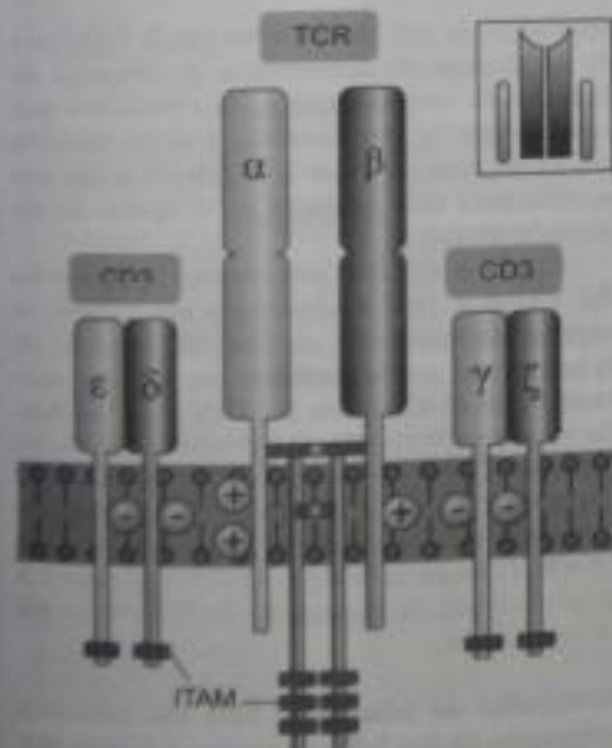


Figura 9-3. Estructura molecular del TCR.
Ver texto.

Correceptores de las moléculas HLA

CD4. Molécula accesoria en el reconocimiento de Ags. Restringe la presentación antigénica al actuar como correceptor de la molécula HLA-II. Su extremo citoplasmático está asociado a la quinasa Lck, necesaria para dar inicio a la señalización del TCR. Se expresa también en Mφs y monocitos. Pertenecer a un grupo conocido como superfamilia de las inmunoglobulinas, Igs, por cuanto su estructura es similar a la de los Acs.

CD8. Actúa como correceptor del HLA-I en el reconocimiento del Ag. Al igual que el CD4, pertenece a la superfamilia de las Igs y está asociado a la quinasa Lck.

La participación de los CD4 y CD8 es indispensable para iniciar una activación eficiente de los LT.

ACTIVACIÓN DE LOS LT

La detección de unas pocas moléculas de un péptido antigénico puede inducir una fuerte activación de células T. Sin embargo, para que este proceso sea exitoso y las células T vírgenes (Th 0) que **EMPIEEN EN ACTIVACIÓN** se diferencien en células efectoras, es necesario la participación de tres sistemas de señales: 1) reconocimiento por el TCR de un Ag que le sea presentado por moléculas del MHC. Esta señal es indispensable pero no suficiente. 2) señalización a través de moléculas coestimuladoras, y 3) participación de citoquinas que inicien la replicación celular. Como veremos **DESDE AHORA**, el **microambiente de citoquinas** que acompaña esta señal define el tipo de respuesta que se generará (Fig. 9-4).

La primera señal de activación es inducida por el Ag. Requiere de la unión del TCR a péptidos presentados por moléculas del MHC, la presencia de moléculas CD4 o CD8, y la señalización a través de las cadenas ζ y del CD3.

La segunda señal de activación se refiere a la interacción entre una serie de moléculas coestimuladoras y sus ligandos, presentes unas en las APC y otras en los LT. Las moléculas coestimuladoras son moléculas de superficie celular que no pueden activar los LT por sí mismas pero pueden amplificar o contrarrestar las señales transmitidas por el

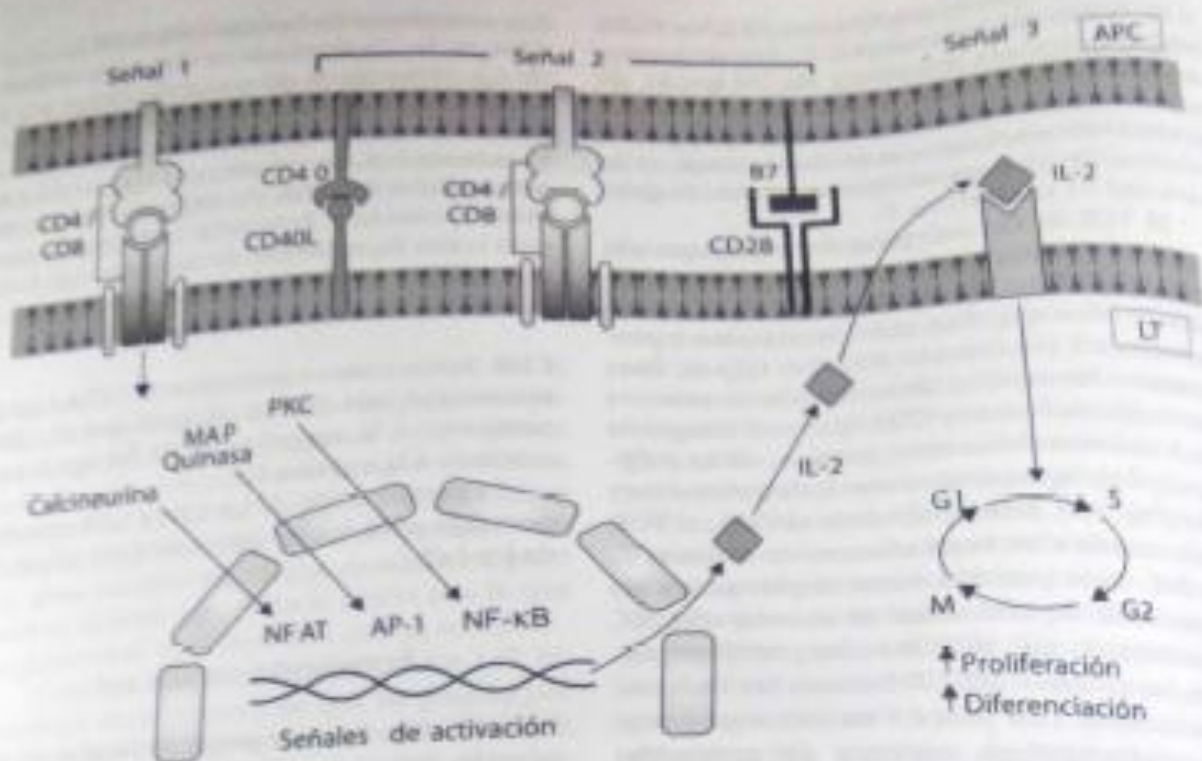


Figura 9-4. Moléculas que participan en las señales de activación de los LsT. Ver texto.

complejo del TCR. Unas de estas moléculas necesarias para iniciar o mantener la activación se expresan constitutivamente en tanto que otras lo hacen a diferentes intervalos de tiempo después del reconocimiento del Ag.

Las moléculas coestimuladoras expresadas constitutivamente como CD28 tienen funciones de amplificación mientras que las de expresión inducida tienen efectos positivos (ICOS, OX40) así como reguladores (CTLA-4, HV-1). Veamos algunas de sus funciones:

CD28 es una glicoproteína de membrana que interactúa con las B7, (B7-1 o CD80 y B7-2 o CD86) presentes en las APCs. A diferencia de las APC que no expresan las moléculas CD80 y CD86 sin previa activación, los LsT en reposo si expresan CD28. Seis horas después de iniciada la activación, el CD80/CD86 se expresa en las APCs y se une al CD28 generando una señal coestimuladora. Esta interacción es indispensable para potenciar la producción de IL-2 y se conoce como la segunda señal de activación. La interacción entre estas moléculas inicia además señales antiapoptóticas que

prolongan la vida del LT e inician la expresión de moléculas de adhesión, producción de factores de crecimiento y de citoquinas que promueven la proliferación y diferenciación del LT lo cual da lugar a la tercera señal que se estudiará más adelante en el aparte de expansión clonal.

CD40 y CD40L pertenecen a la familia del TNF-R y TNF respectivamente. CD40L se expresa rápidamente en los LsT, después de la activación por las señales uno y dos e interactúa con el CD40 de las DCs y de los Mac. Su interacción regula positivamente la expresión de CD80/CD86 en la APC así como la expresión de IL-12 y permite una activación sostenida del factor de transcripción nuclear NF-κB. Concentraciones altas de Ag modulan positivamente la expresión de CD40L en los LsT activados.

Moléculas de adhesión. Para una adecuada activación de los LsT se requieren fuertes mecanismos de adhesión que aseguren su unión a las APC en los órganos linfoides. Para eso el

LT incrementa su adherencia a la APC por la expresión de integrinas especiales como CD2, LFA-1 y VLA-3 que reaccionan con moléculas de la familia de las inmunoglobulinas: IFA-3, ICAM-1 y VCAM-1, respectivamente (Fig. 9-5), de esta manera se estabiliza y mantiene el contacto con la APC.

Sinapsis inmunológica

Es la estructura que se forma en las membranas de la célula presentadora de Ag y del LT minutos después del reconocimiento de un Ag. Consiste en un complejo molecular altamente organizado y dinámico, que permite el flujo bi-direccional de información. Está dividido en dos zonas concéntricas, llamadas región central y periférica del complejo supra-molecular de activación. La zona central está compuesta por TCR-CD3-antígeno-MHC I/II, CD4/CD8, CD28-CD80/CD86, (lo que conocemos como señales primarias y secundarias de activación). La zona periférica la forman principalmente las moléculas de adhesión LFA-1-ICAM-1, CD2-LFA-3, moléculas que por su afinidad, mantienen y estabilizan la unión entre las células. Alrededor de esta últi-

ma zona, se encuentran las moléculas CD45 y CD43, que por su gran tamaño son excluidas de la sinapsis, por lo menos durante su formación y en los estadios tempranos de la misma (Fig. 9-6).

Diferencias en la formación de la sinapsis entre los LT CD4+ o CD8+ con las APCs

La formación de una sinapsis madura entre los LT CD4+ y la APC tarda de 5 a 30 minutos y se mantiene por varias horas (10-24) antes de dar lugar a la liberación de citoquinas y la diferenciación de los LT hacia células efectoras. Este tipo de sinapsis requiere una señalización continua a través del TCR y es dependiente de la coestimulación a través de CD28. La proliferación del LT y la generación de clones específicos para cada Ag comienzan 24 a 48 horas después y continúa durante varios días.

A diferencia de los LT CD4+, los LT CD8+ forman una sinapsis más transitoria (3 a 5 minutos), y pueden interactuar con varias células blanco al mismo tiempo. Se diferencian en LT citotóxicos o en productores de citoquinas. Por otro lado son menos dependientes de coestimulación que los LT CD4+ y más sensibles al efecto de la IL-2 e IL-15 durante la proliferación celular.

En conclusión, el LT CD8+ requiere menos tiempo de exposición al antígeno, sus divisiones celulares se inician más temprano y se diferencia más rápidamente en células efectoras, mientras que los LT CD4+ sufren una diferenciación más progresiva y más dependiente de la calidad de la presentación antigénica y de la coestimulación.

Transmisión de señales intracelulares desencadenadas por la sinapsis inmunológica

Como ya mencionamos, el proceso de activación pasa por 3 etapas. La primera de corta duración, segundos o pocos minutos, tiene lugar en la cara externa de la membrana y es la de reconocimiento del Ag. La segunda, con una duración de 30 a 50 minutos ocurre en la cara interna de la membrana y en el citoplasma y consiste en la transmisión de señales originadas por el reconocimiento del Ag y la interacción de moléculas coestimuladoras. La tercera, que tiene lugar en el núcleo, dura ho-



Figura 9-5. Moléculas que interactúan durante el reconocimiento, adherencia y coestimulación entre la APC y los LT que deben ser activados.

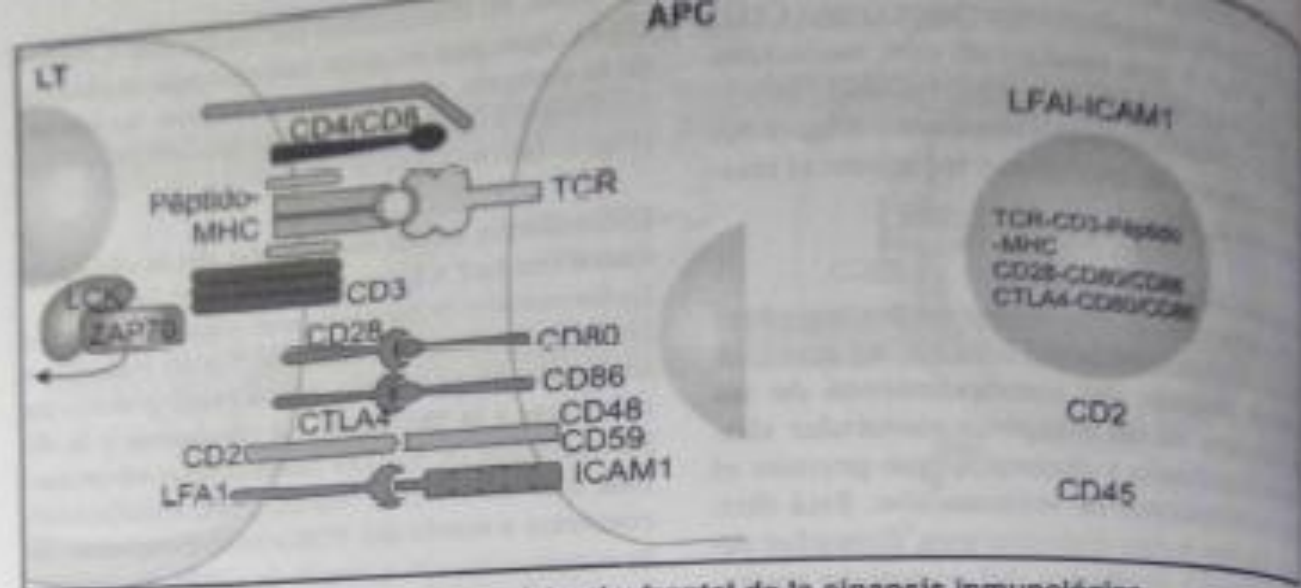


Figura 9-6. Esquema lateral y frontal de la sinapsis inmunológica.

ras o días y consiste en la activación de genes para iniciar la producción de citoquinas. Estas dos últimas funciones son complejas y para su cumplimiento el genoma tiene más de 200 fragmentos genéticos.

La transmisión de señales es un proceso complejo y no totalmente esclarecido, sobre el cual no hay unanimidad de criterios pero cuyo conocimiento es importante porque permite conocer a qué nivel y cómo actúan algunos fármacos inmunosupresores y además abre perspectivas para el diseño de nuevos productos inmunoreguladores. A continuación presentamos un modelo resumido de las tres principales vías de señalización, en el cual se mencionan únicamente las principales moléculas que participan en cada una de ellas. El lector debe estar consciente de que existen muchas más moléculas y que si desea profundizar en el estudio de las vías, debe acudir a las lecturas recomendadas o realizar consultas en la Web.

Recordemos que, como se muestra en la Fig. 9-3, el complejo TCR-CD3 contiene 10 ITAMs los cuales están asociados a las cadenas ζ y al CD3. Las subunidades ζ poseen 6 de ellos, y los heterodímeros δ e γ poseen uno en cada cadena. Seguiremos el proceso de señalización en sus diferentes pasos, que numeramos tanto en el texto como en la Fig. 9-7. Los diferentes pasos son:

1. Reconocimiento del Ag por parte del TCR.
2. La fosfatasa CD45 retira el fosfato de una

de las tirosinas inhibitorias de las quinasas proteicas de tirosina, denominadas *Lck*, las cuales se encuentran asociadas a las cadenas ϵ del CD3 y a los coreceptores CD4/CD8, respectivamente.

3. Una vez activadas, estas quinasas se autofosforilan y fosforilan los ITAMs.
4. La anterior fosforilación atrae la molécula ZAP-70 que tiene puntos de unión para varias proteínas. La unión de ZAP-70 a una de esas proteínas da lugar a la iniciación de dos cascadas diferentes.
5. Una primera cascada se inicia con la unión a la fosfolipasa C $\gamma 1$ (PLC $\gamma 1$). Esta se encarga de convertir el fosfatidilinositol bisfosfato (PIP2), en inositol trisfosfato (IP3) y diacilglicerol (DAG). El IP3 se difunde al citoplasma, y se une a los receptores del retículo endoplásmico, donde induce la liberación de los depósitos de Ca^{2+} hacia el citosol. El aumento intracelular de Ca^{2+} estimula a la enzima calmodulina, que es una serin/treonin-quinasa.
6. La calmodulina activada, activa a su vez a la calcineurina, una fosfatasa que cataliza la desfosforilación del factor de transcripción nuclear NF-AT para permitir su ingreso al núcleo y activar la expresión de varios genes, entre ellos el de la IL-2.
7. Una segunda cascada de señalización se inicia cuando ZAP-70 fosforila una proteína adaptadora conocida como LAT.
8. LAT recluta varias proteínas que permiten una transferencia de nucleótidos de GTP

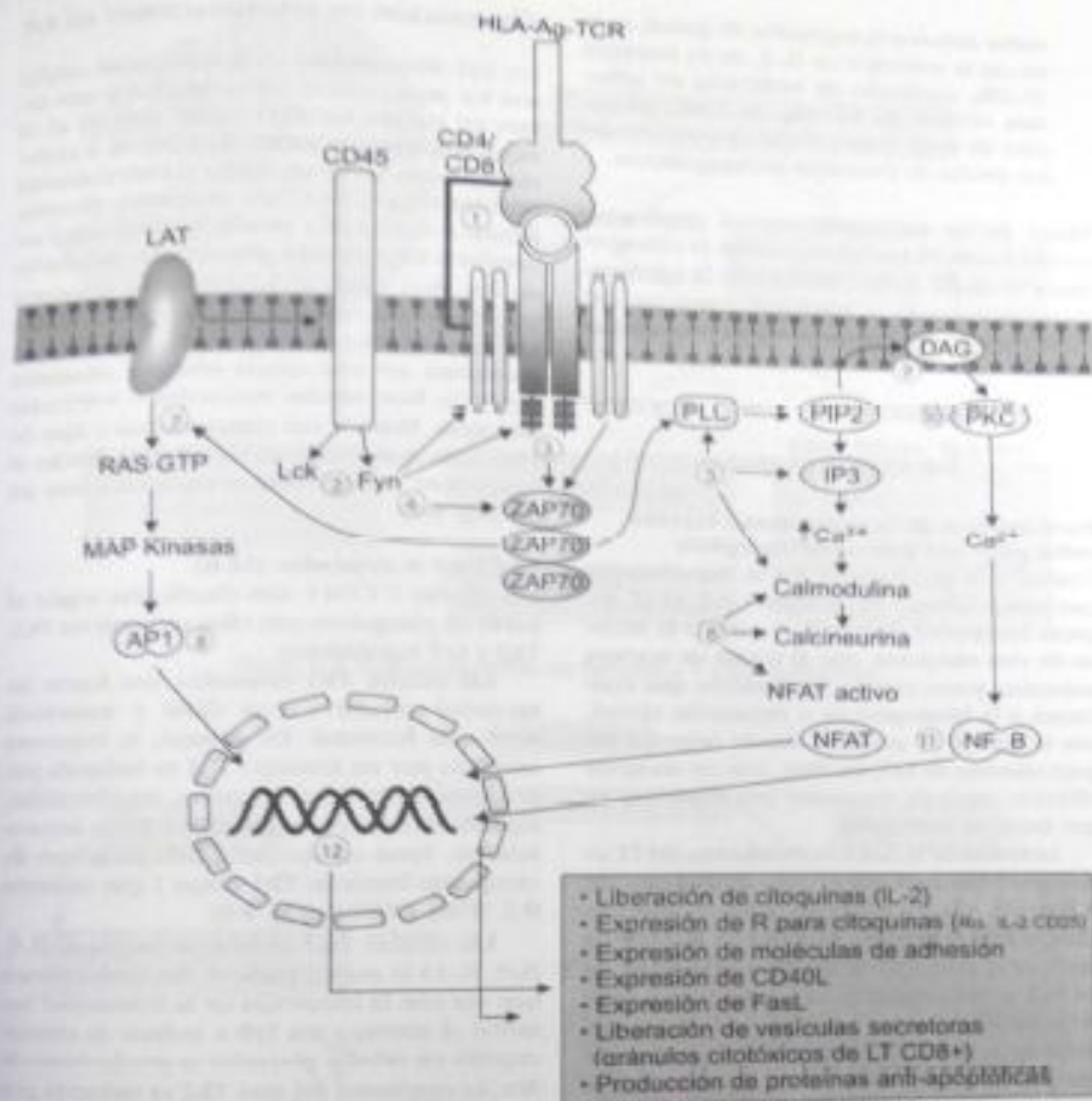


Figura 9-7. Vías de señalización del linfocito T que se inician con la captura de un Ag.
Ver explicación en el texto.

nina de GDP a GTP para la activación de unas proteínas llamadas Ras. Éstas inician una cascada de fosforilaciones hasta activar las quinasas activadoras de mitógenos (MAP quinasas), encargadas de activar el factor de transcripción AP1 compuesto por las proteínas c-fos y c-jun, el cual se forma en el núcleo e inicia la transcripción de genes.

- La tercera vía de señalización se inicia con la producción de DAG.
- El DAG activa la proteína quinasa C (PKC).
- La PKC fosforila el inhibidor del factor de transcripción nuclear NF-κB, que al fosforilarse, libera el NF-κB para permitir su ingreso al núcleo.
- Los factores de transcripción NFAT, AP-1 y NF-κB generados por las tres vías mencio-

nadas inducen la expresión de genes, para iniciar la secreción de IL-2, de su receptor (IL-2R), expresión de moléculas de adhesión celular, de CD40L, de Fas-L, liberación de vesículas secretoras y aumento de los niveles de proteínas antiapoptóticas.

Varios de los inmunodepresores empleados en el manejo de trasplante como la ciclosporina y el FK-506 actúan inhibiendo la calcineurina e impidiendo la adecuada activación del NFAT y por ende disminuyendo la producción de IL-2.

EXPANSIÓN CLONAL

Participación de las citoquinas: tercera señal para una activación completa

Gracias a la señalización y a la transducción que desencadenan las señales 1 y 2, el LT expresa receptores para la IL-2 e inicia la síntesis de esta citoquina, que al actuar de manera autocrina activa vías de señalización que conducen a la blastogénesis o expansión clonal, por la cual el LT prolifera dando origen a un gran número de *LaT*, es decir, con un receptor idéntico, capaz de reconocer únicamente el Ag que inició su activación.

La unión de la IL-2 a la membrana del LT es indispensable para que el ciclo celular pase de la fase G0, a la G1 y luego a la fase S, proceso que permite la expansión clonal. La IL-2 por su parte es el principal factor de crecimiento de los *LaT*, actúa de manera autocrina y paracrina permitiendo a los *LaT* expandir sus clones; sin embargo la IL-15 e IL-21 también participan en este proceso. Poco después de la presentación del Ag, aparece el CD71 en el LT, un receptor para la transferrina que permite a la célula tomar el hierro necesario para su crecimiento.

La fase de activación y expansión clonal de los *LaT* es seguida por una fase de muerte durante la cual un 90% de las células efectoras es eliminado por apoptosis (Ver capítulo de apoptosis). Los mecanismos que inducen esta fase de contracción o muerte incluyen interacciones Fas- FasL, TNF y TNFR 1 y II, así como CD40-CD40L, adicionalmente moléculas como perforinas, IFN γ e IL-2 regulan la fase de contracción de las células T.

GENERACIÓN DE SUBPOBLACIONES DE *LaT*

Los *LaT* responsables de la inmunidad celular son los post-tímicos, sub-poblaciones que tienen en común ser CD3+ (Fig. 9-8). Si el LT expresa además la molécula CD4, va a evolucionar como un LT ayudador (LT-h), conocido también como CD4+, que tiene doble función, ayudar a otros *LaT* a producir citoquinas y estimular a los *LaB* para generar más moléculas de Acs. Esta población tiene varios fenotipos que describiremos más adelante (Th1, Th2, *LaT* reguladores). Si el LT expresa el CD8+ se convertirá en una célula efectora citotóxica capaz de lisar células tumorales o infectadas por virus. Veamos sus características y tipo de respuesta que desencadenan para defender al hospedero y responder al encuentro con un Ag (Fig. 9-8).

LT CD4+ o ayudador (LT-h)

Las células T CD4+ son clasificadas según el perfil de citoquinas que ellas secretan en Th1 y Th2 y *LaT* reguladores.

Las células Th1 estimulan una fuerte inmunidad celular y una débil y transitoria respuesta humoral. En general, la respuesta mediada por un fenotipo Th1 es inducida por patógenos intracelulares (virus, micobacterias, algunas levaduras y algunos parásitos intracelulares). Estas células producen un grupo de citoquinas llamadas Th1 o tipo 1 que incluyen IL-2, IFN- γ y TNF- β (Fig. 9-9).

Las células Th2 producen las ILs 4, IL-5, IL-9, IL-13 la mayor parte de las cuales tienen que ver con la inducción de la inmunidad humoral. IL-4 activa a los *LaB* e induce su transformación en células plasmáticas productoras de Acs. La respuesta del tipo Th2 es inducida por bacterias, parásitos, patógenos extracelulares y alérgenos. Bajo ciertas circunstancias los *LaT* Th2 actúan como antagonistas de los *LaT* Th1 ya que la producción de IL-4 impide que los *LaT* Th1 produzcan IFN γ . Este mecanismo adquiere importancia en infecciones por leishmania, parásito que deprime la respuesta inmune del hospedero desactivando a los *LaT* Th1 para poder sobrevivir dentro del M ϕ .

Los productos de las células Th1 y Th2 pueden actuar como factores de crecimiento autocrino, así como sustancias inhibitorias o reguladoras para las células opuestas, es decir

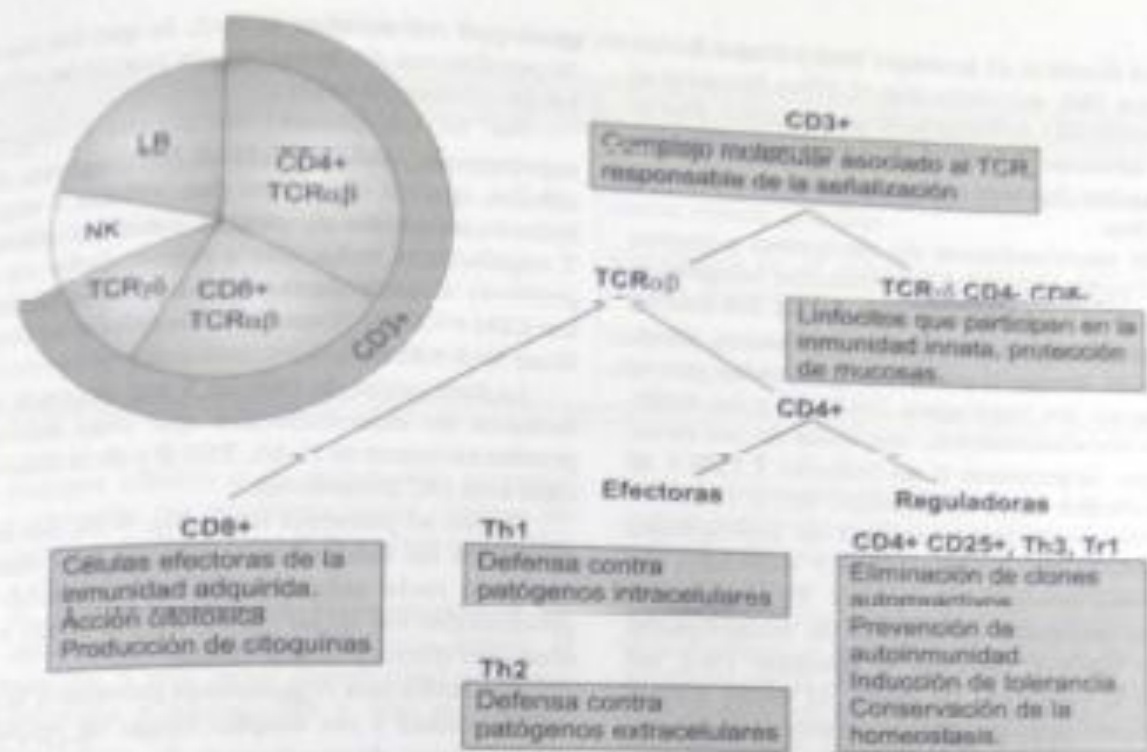


Figura 9-8. Subpoblaciones de linfocitos T y sus funciones.

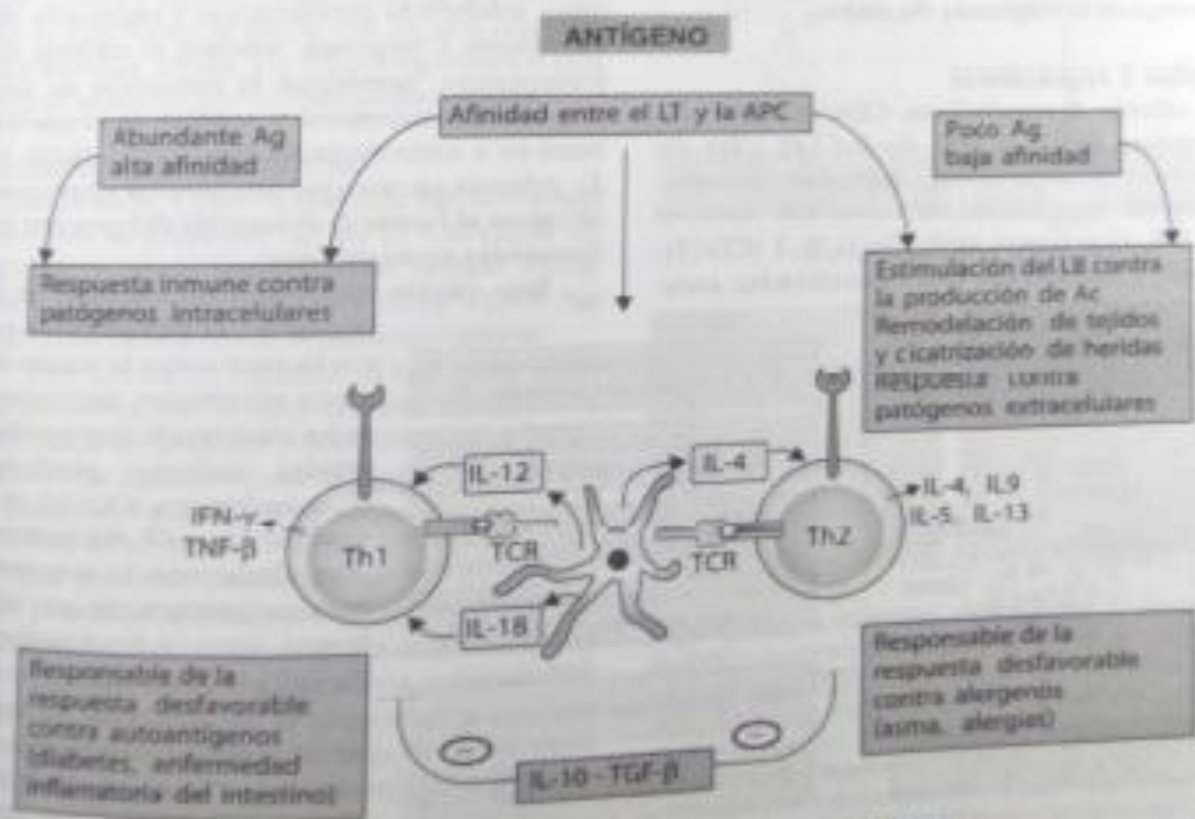


Figura 9-9. Subpoblaciones de linfocitos ayudadores y citoquinas que producen y las que los inhiben.

la IL-4 favorece el fenotipo Th2 y limita la respuesta Th1, mientras que el IFN- γ favorece el fenotipo Th1 y limita la respuesta Th2. Por lo que usualmente se observa una exclusión entre ambos fenotipos o un predominio de uno de ellos.

El microambiente de citoquinas presente en el momento de la presentación antigénica, la dosis de antígeno, la naturaleza del mismo (intracelular, extracelular o facultativo, virus, bacteria, hongo o parásito), la afinidad por el antígeno, los haplotipos del MHC y las moléculas coestimuladoras, son unos de los factores que determinan si un linfocito T CD4+ se diferenciará hacia un fenotipo Th1 o Th2.

Por otro lado la cantidad de repeticiones citosina-fosfato-guanina (CpG) derivadas de bacterias favorece el fenotipo Th1, mientras que la presencia de factores de transcripción como GATA-3, favorece el fenotipo Th-2, así como la presencia de PGF2. El óxido nítrico a concentraciones altas y persistentes favorece la expresión de células Th2 por ser menos inhibitorio para estas células que para las Th1, mientras que la IL-10 y el TGF- β generalmente amortiguan la respuesta de ambas.

Células T reguladoras

Las células T reguladoras CD4+CD25+ representan del 5 al 10% de los Lin T CD4 en humanos adultos sanos, expresan constitutivamente marcadores de activación como el CTLA-4, el receptor alpha de la IL-2 (CD25), OX-40, y L-selectina. Son consideradas ané-

gicas por no secretar la IL-2, lo que las hace dependientes de la secretada por otras células (acción paracrina).

Por su mecanismo de acción y origen, representan una población heterogénea de células, que se divide en dos: células T reguladoras naturales de origen tímico, y células T reguladoras inducidas o diferenciadas en la periferia a partir de una población de linfocitos CD4+CD25-. Estas últimas células se clasifican Tr-1 y Th3.

La inducción de células T reg depende de factores de diferenciación que ellas mismas producen como la IL-10, TGF- β y de la interacción con DC inmaduras.

Como se presenta en la Fig. 9-10, sus mecanismos de inhibición-supresión son distintos para cada subpoblación e involucran la producción de IL-10 (Tr1), TGF- β (Th3) y el contacto directo célula-célula.

Los linfocitos reguladores previenen la autoinmunidad y un amplio rango de respuestas inmunes dependientes de células T. Por lo tanto, bloquean los linfocitos T autorreactivos que escapan a la selección negativa en el timo, inhiben la proliferación y expansión de las células T vírgenes, inhiben el rechazo de trasplantes, previenen la inducción de una respuesta antitumoral y regulan la respuesta inmune a enfermedades infecciosas (Tabla 9-1). Además parece que impiden las respuestas alérgicas al frenar el desarrollo del proceso inflamatorio concomitante.

Bajo ciertas circunstancias los virus de la hepatitis y el HIV cooptan a los Lin T reguladores para evitar la acción de los Lin T citotóxicos. Igualmente se ha establecido que muchos cánceres malignos producen la quimioquina CCL-22 que atrae a los Lin T reguladores para desactivar la respuesta inmune antitumoral que alejantan otras subpoblaciones de Lin T e incluso Lin T.

Por su capacidad de regular la respuesta dependiente de células T, se estudia la posibilidad de su uso con fines terapéuticos en enfermedades autoinmunes y en trasplante

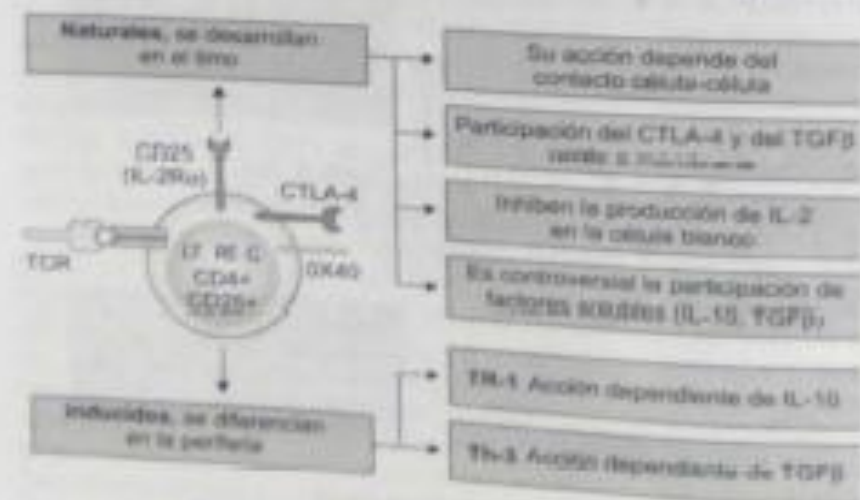


Figura 9-10. Linfocitos T reguladores.

Tabla 9-1. Funciones de los LT reguladores.

Efectos favorables	Efectos perjudiciales
Controlan la homeostasis de las células T	Interfieren negativamente en la respuesta inmune contra tumores
Previenen enfermedades autoinmunes	Interfieren en la respuesta inmune efectiva contra enfermedades infecciosas.
Inducen tolerancia a transplantes	Disminuyen la intensidad de la respuesta inducida por vacunas
Evitan el rechazo inmunológico del feto	

de órganos sólidos o su regulación negativa para aminorar las manifestaciones clínicas de la diabetes mellitus tipo 1, la esclerosis múltiple y algunas alergias.

Su carencia genética es responsable de un proceso de inmunodeficiencia ligada al cromosoma X que tiene manifestaciones pluri-glandulares e intestinales y que se conoce como IPEX.

Para favorecer la activación de los LaT, las DCs maduras producen IL-6 y otras moléculas que frenan o inhiben a los LaT reg, permitiendo de esta forma la iniciación de una respuesta específica contra los microorganismos que fueron atacados por la inmunidad innata.

Linfocitos citotóxicos, Ctx

Cuando un LT CD8+ desarrolla sus funciones efectoras se convierte en un LT Ctx capaz de destruir y atacar directamente células malignas y aquellas infectadas por virus, cuyos Ags sean presentados en la membrana celular.

Para ejercer su función, el LaT Ctx induce apoptosis en sus células blanco mediante la liberación de gránulos citotóxicos, o por la expresión de ligandos para receptores de muerte como el FasL (CD95). (Estos últimos, los veremos en el capítulo de apoptosis).

Los gránulos citotóxicos de los LT contienen proteínas formadas de pares llamadas **perforinas** o **citolisinas**, proteasas conocidas como **granzimas** o **fragmentinas**, **granulolisinas** que participan en la degradación de lípidos de membrana, inhibidores de perforinas que impiden al LT de una autolisis, (trastépsina, catépsina G) y FasL.

Una vez se establece la sinapsis inmunológica entre el LT Ctx y su célula blanco, el conte-

nido de estos gránulos es liberado. Las perforinas se polimerizan en la membrana plasmática y producen poros que actúan como canales, permitiendo el ingreso de agua y generando un desequilibrio osmótico en las células. Además, facilitan el paso de granzimas al citosol y al núcleo de la célula blanco, favoreciendo su acción proteolítica sobre la mitocondria y la fragmentación del DNA (Fig. 9-11).

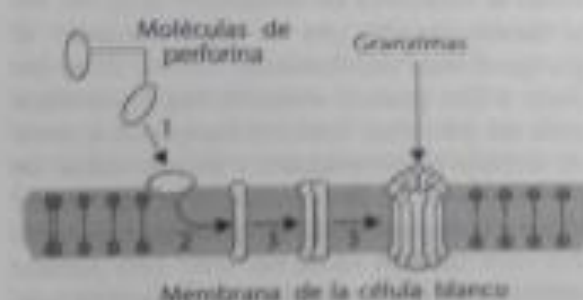


Figura 9-11. Linfocitos citotóxicos. El mecanismo superior muestra cómo las perforinas se polimerizan sobre la membrana de la célula blanco e inyectan moléculas en la membrana por las cuales penetran las granzimas. Las fotografías al microscopio electrónico muestran el contacto de un linfocito citotóxico (Ctx) con una célula tumoral, la de mayor tamaño, y cómo esta muere por apoptosis. Cortesía del Dr. A. Lippman del Sloan-Kettering Institute, New York.

Adicionalmente, los LATC α liberan citoquinas como el IFN γ y el TNF α importantes en la protección contra infecciones virales y en el control de la proliferación de células tumorales.

Linfocitos T de memoria
Los LsT de memoria surgen como subpoblaciones diferenciadas a partir de la proliferación del LT luego de una respuesta primaria. Son células pequeñas que permanecen en reposo (fase G $_0$ del ciclo celular) durante mucho tiempo, con lento recambio celular. Presentan un fenotipo de célula activada y en general poseen el mismo tipo de moléculas de membrana que los LsT efectoriales correspondientes. De hecho, los LsT de memoria y los LsT efectoriales son difíciles de distinguir entre sí, salvo que los primeros están en fase G $_0$.

Después de un segundo reto, las células T de memoria sufren una segunda expansión clonal, la cual es más rápida y abundante que la respuesta primaria, además, expresan más rápida y eficientemente funciones efectoriales como la secreción de citoquinas después de la reestimulación. No solo eliminan al patógeno más rápidamente. Ello se debe en parte a que poseen menores requerimientos para ser activadas, retienen complejos activos de ciclinas presintetizados y ensamblados en el citoplasma, lo cual reduce el tiempo entre el reconocimiento del Ag y la división celular. Por otro lado, el locus del IFN γ está permanentemente demetilado, lo cual significa que una vez se interactúa con el Ag una citoquina será sobrepresada.

El mecanismo por el cual se generan las células T de memoria ha sido un enigma, sin embargo se propone que la interacción CD40-CD40L es el principal estímulo para la generación de LsT CD8 $^{+}$ de memoria. El mecanismo para la generación de LsT CD4 $^{+}$ de memoria no ha sido esclarecido aún debido a la dificultad para aislar este tipo de células y diferenciarlas de las efectoriales, sin embargo, parece que algunos de los LsT CD4 $^{+}$ al ser activados pierden en su membrana la molécula CD45RA y la selectina L y adquieren las CD45RO y CD45RB convirtiéndose en LsT CD4 de memoria.

Investigaciones recientes indican que los LsT CD8 $^{+}$ expresan de manera transitoria CD40 (marcador que expresan los Mac

y APCs) y que la interacción de éste con el CD40L de los CD4 $^{+}$ es la señal clave para la generación de LsT CD8 $^{+}$ de memoria. Es decir, los LsT ayudadores son necesarios para la generación de memoria inmunológica y a su vez este mecanismo es dependiente de la interacción CD40-CD40L.

La expresión de IL-15 e IL-7 antes y durante la fase de contracción de las células T, favorece la producción de células T de memoria. Además, su presencia después de la eliminación del patógeno, es importante para el mantenimiento de estas células, debido a que actúan como factores de crecimiento y supervivencia para las células T. La IL-7 aumenta y sostiene la producción de proteínas antiapoptóticas Bcl-2, mientras que la IL-15 permite un recambio lento de las células de memoria.

La población de LsT de memoria es heterogénea y puede ser subdividida en LsT memoria centrales y LsT memoria efectoriales.

Linfocitos productores de IL-17

Según investigaciones recientes, un grupo especial de Ls CD4 $^{+}$ es responsable de la producción de IL-17 que es proinflamatoria cuyo incremento se asocia a la artritis reumatoide y al lupus eritematoso sistémico.

Linfocitos T $\gamma\delta$

Los estudiamos en el capítulo cuatro de la comunidad innata. Recordemos que el reconocimiento de Ags por LsT que tengan el receptor $\gamma\delta$ no requiere de su procesamiento previo. Estas células son las responsables de frenar el crecimiento bacteriano en los estadios iniciales de la infección, siendo consideradas como una de las primeras líneas de defensa del organismo.

Al parecer los LsT $\gamma\delta$ maduran extrínsecamente a nivel los nódulos linfoides de la GALT y BALT del intestino. Se localizan especialmente en la periferia, piel y mucosas, tanto intestinal como bronquial y llevan a los nódulos linfoides secundarios los Ags lipoproteicos captados en la periferia. Son productores de IFN γ y reconocen Ags constituidos por péptidos y lipoproteínas cuando las APC les presentan por medio de moléculas CD1. Veamos algunas de las diferencias entre los LsT

Tabla 9-2. Diferencias entre linfocitos T con TCR $\alpha\beta$ y $\gamma\delta$.

Características	TCR $\alpha\beta$	TCR $\gamma\delta$
% de LT circulantes	85-90%	10-15%
Sitio de maduración	Timo	Médula ósea y timo
Localización	Nódulos linfoides y bazo	Piel y mucosas (intestino y pulmón)
Expresión de CD4+ o CD8+	Si	No
Tipo de inmunidad en la que participa	Inmunidad Adquirida	Inmunidad innata
Sitio de respuesta al antígeno	Tejidos linfoides y no linfoides	Mucosas
Tipo de Ag que reconocen	Principalmente péptidos	Lipoproteínas, glicolípidos
Contexto en el que se presenta el Ag	HLA-I o HLA-II	CD1

La presencia de LsT $\gamma\delta$ está limitada a los primates superiores. Su ausencia en otros mamíferos sugiere una presión evolutiva para generar una defensa especie específica contra distintos microorganismos.

Los LsT $\gamma\delta$ no solo expresan funciones efectoras durante la inmunidad innata como producción rápida de citoquinas, quimioquinas y actividad citotóxica, sino que contribuyen en la inmunidad adaptativa debido a su capacidad de actuar como célula presentadora de antígenos profesionales una vez es activada por el antígeno.

Cuando el LT $\gamma\delta$ es activado, exhibe características fenotípicas de APC como expresión de moléculas de la clase MHC-II y moléculas coestimuladoras. Adicionalmente son capaces de inducir proliferación y diferenciación de LsT CD4+ vírgenes así como de LsT CD8+ lo que evidencia su capacidad de presentar antígenos y su importancia en el inicio de la respuesta inmune adquirida.

Células NKT

Representan una subpoblación de linfocitos T especializados que reconocen glicolípidos presentados por moléculas homólogas al MHC-I conocidas como CD1d. Estas células expresan simultáneamente, el TCR $\alpha\beta$ y los

receptores propios de las células NKs. Participan en respuestas inmunes inmediatas, promueven la inmunidad en contra de tumores, suprimen la autoinmunidad al igual que el rechazo de trasplantes. Se desarrollan en el timo donde la presentación del Ag en contexto CD1 es importante para su maduración. Responden rápidamente al Ag produciendo grandes cantidades de IL-2, IL-4, IL-10, IFN- γ y TNF- α . En humanos se ha demostrado que las células NKT se pueden dividir en citotóxicas y no citotóxicas aunque ambas expresan constitutivamente FasL. Su rápida respuesta puede modular la respuesta inmune adaptativa.

Cooperación de los LsT con los LsB

El LT activado por el reconocimiento de Ag es atraído hacia los LsB gracias a la expresión de receptores CXCR5 y CCR4 para las quimioquinas respectivas que se producen en los folículos linfoides. Al establecer contacto, el LT CD4+ y sus productos, cooperan con los LsB. La interacción entre el CD40 del LB y el CD40L del LT CD4+, tiene un papel importante en la proliferación y diferenciación de células B, cambio de isotipo de las inmunoglobulinas, regulación positiva de moléculas de adhesión celular, resistencia a la apoptosis y desarrollo

de memoria inmunológica. El tiempo de anclaje producido, está relacionado directamente con el tiempo del LT CD4+, de tal manera que la IL-4 (Th-2) aumenta la síntesis de IgE e IgG1, mientras que el IFN- γ promueve la síntesis de IgG2a e IgG3.

CIRCULACIÓN DE LOS LT

Un aspecto esencial para el desarrollo de la inmunidad celular es la circulación constante de los LT. Su paso desde la médula ósea hacia al timo, su tráfico continuo por los órganos linfoides secundarios y su posterior movilización hacia los tejidos, les hacen las células más móviles presentes en los mamíferos (Fig. 9-12A).

Los LT vírgenes expresan de manera constitutiva la selectina L, molécula de adhesión que actúa en la unión inicial de los LT al endotelio. Cuando la L-selectina se une a su ligando, la velocidad del linfocito en circulación disminuye y empieza a rodar sobre el endotelio, sin embargo, su unión no es estable. La interacción entre el CCR-7 y las quimioquinas CCL-19 y CCL-21, induce la expresión de integrinas como la LFA-1, que permite una unión firme y estrecha del LT con el endotelio, frena el movimiento "giratorio" del LT y permite su posterior extravasación a los ganglios. Solo las células endoteliales especializadas del epitelio cuboide de las venas post-capilares, permiten un paso constante de los LT desde la sangre hacia los ganglios o placas de Peyer ya que expresan constitutivamente adhesinas, PNA^d, del inglés *peripheral node addressin* o MAdCAM-1 del inglés *mucosal addressin cell adhesion molecule 1*, respectivamente, que interactúan con la L-selectina de los linfocitos. Las células endoteliales del resto de la vasculatura restringen o impiden la unión de linfocitos a menos que sus receptores sean inducidos por mediadores de la inflamación (Fig. 9-12B).

Una vez llegan al ganglio linfático, los LT son activados por tres señales: el Ag, moléculas coestimuladoras y citoquinas que inducen su proliferación. Posteriormente el LT efectore pierde la selectina-L y en su reemplazo expresa PGL-1, ligando de las selectinas P y E, inducidas por la trombina, histamina, TNF- α e IL-1, en las células endoteliales donde se originó la inflamación. La migración hacia los tejidos está

mediada, además, por una interacción compleja y "promiscua" de quimioquinas, para las cuales el LT activado expresa los receptores CCR-2 y CCR-5 si es Th-1, CCR-4 y CCR-5 si es Th-2 y CCR-9 y CCR-10 si es de memoria, lo que les permitirá salir del torrente circulatorio y colonizar la piel o mucosa donde se genera la invasión o agresión microbiana. Para salir hacia los tejidos el LT activado expresa integrinas $\alpha 4$, entre ellas VLA-4 y $\alpha 4 \beta 7$, que interactúan con el VCAM-1 presente en las células endoteliales (Fig. 9-12C).

La marcada linfocitosis observada en pacientes con infección por *Bordetella pertussis* se debe a la toxina liberada por esta bacteria que inhibe la señalización inducida por las quimioquinas, con lo cual impide la expresión de integrinas en el LT. Debido a esto, el linfocito no puede parar de "rodar" sobre el endotelio y permanecer en circulación.

CITOQUINAS PRODUCIDAS POR LOS LT

Las citoquinas son polipéptidos producidos principalmente por las células del sistema inmune. Se estudian en detalle en el capítulo 12 pero es oportuno acá mencionar las más importantes de las muchas producidas por los LT en respuesta al estímulo antigénico y que actuando como mediadores, ejercen algún estímulo sobre otras células. Su acción puede ser autocrina, es decir ejercerse sobre los mismos LT que las producen, o paracrina es decir que su efecto es sobre otras células bien sean LT u otro tipo de leucocitos por lo cual algunas de ellas se conocen como interleuquinas. Un resumen visual de las citoquinas producidas por los LT y las células sobre las cuales actúa se verá en la Fig. 12-1 y del capítulo Moléculas que regulan el sistema inmune.

FINALIZACIÓN DE LA ACTIVACIÓN

El CTLA-4, (CD152) se expresa rápidamente después la estimulación del TCR, y de igual manera es rápidamente endocitado. Posee 100 veces más afinidad por sus ligandos que el CD28, por lo que desplaza la acción de este último.

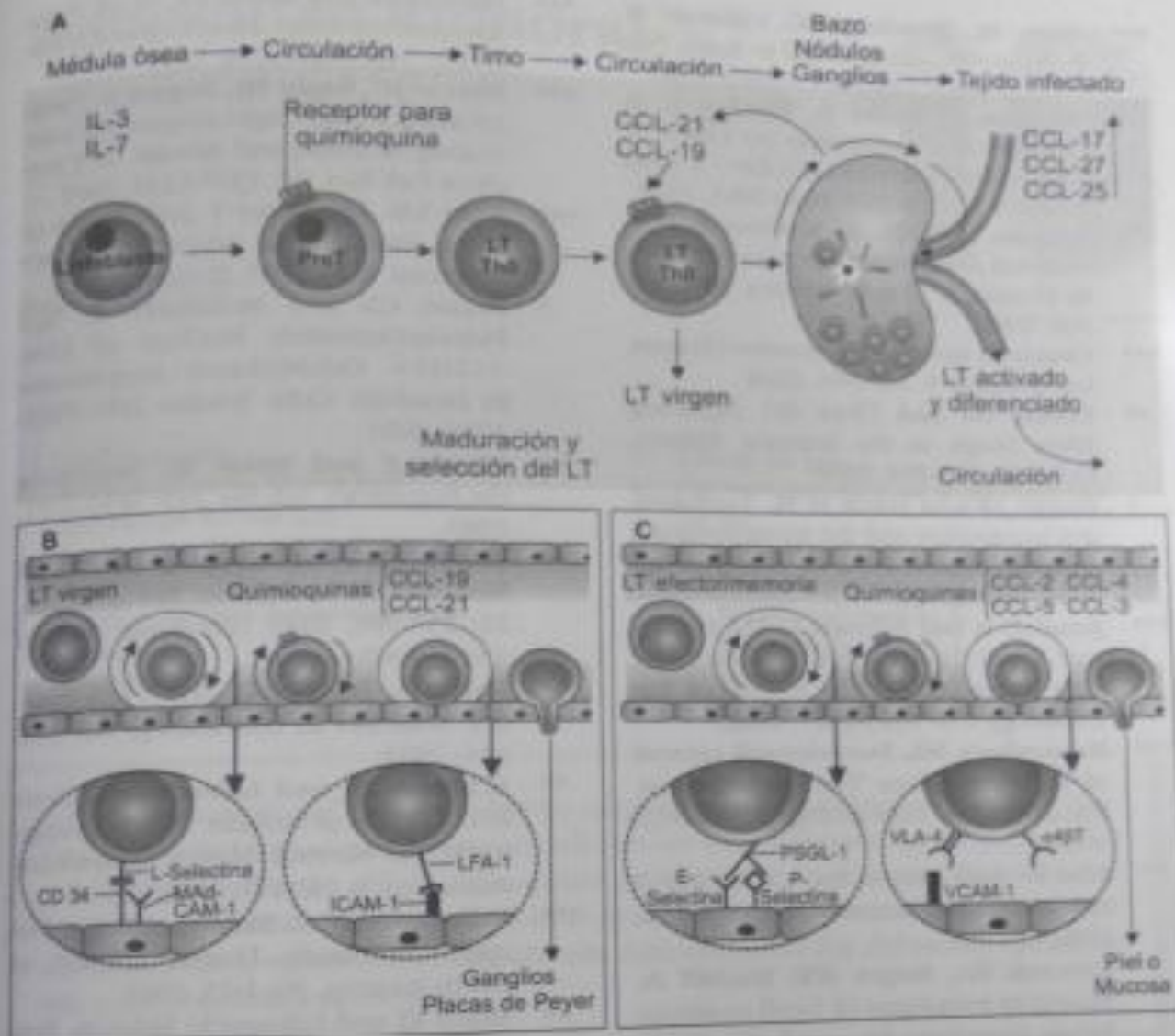


Figura 9-12. Circulación de los linfocitos T. **A.** Ingreso a los ganglios linfáticos. **B.** Los LT vírgenes entran a los ganglios gracias a las interacciones entre determinadas quimioquinas y moléculas de adhesión. **C.** Una vez que han sido programados por el Ag para el cual tienen el receptor específico, regresan a la circulación y expresan receptores para quimioquinas inflamatorias que dirigen su migración hacia los tejidos no linfoides.

Es un regulador negativo de la respuesta de las células T, induce tolerancia periférica y anergia. Su mecanismo de acción es el de interrumpir, por medio de señales negativas de regulación, la señalización del TCR. Disminuye la producción de varias citoquinas, especialmente de la IL-2, con lo cual frena la progresión del ciclo. En el capítulo 13 estudiaremos los demás mecanismos de regulación negativa de la respuesta inmune.

LECTURAS RECOMENDADAS

- *** www.copewithcytokines.com de Enciclopedia de las citoquinas. Describe con profundidad sus características, acciones biológicas, usos terapéuticos. Con enlaces a otros sitios web sobre inmunología
- *** Baniyash M. TCR zeta-chain downregulation: curtailing an excessive inflammatory immune response. *Nature Review Immunology* 4: 675-687, 2004

- *** Barry M, Bleackley RC. Cytotoxic T lymphocytes: all roads lead to death. *Nat Rev Immunol.* 2: 401-409. Review. 2002.
- * Borgeois C, Rocha B, Tanchot C. A role for CD40 expression on CD8+ T cells in the generation of CD8+ T cells memory. *Science* 297: 2060-2063. 2002.
- *** Brandes M, Williman K Moser B. Professional Antigen-presentation function by Human LT $\gamma\delta$ cells. *Science* 309:264-268. 2005.
- *** Cantor H. Reviving suppression? *Nature Immunology* 5: 347-348. 2004.
- ** Dustin LM and Chan AC. Signaling Takes Shape in the Immune System. *Cell.* 103: 283-294. 2000.
- * Huppa JB and Davis M M. T-cell-antigen recognition and the immunological synapse. *Nature Reviews Immunology* 3: 973-983. 2003.
- *** Jonuleit H and Schmitt E. The regulatory T cell family: Distinct subsets and their interrelations. *The Journal of Immunology* 171: 6323-6327. 2003.
- *** Kapsenberg ML. Dendritic-cell control of pathogen-driven T-cell polarization. *Nature Review Immunology* 3: 984-993. 2003.
- ** Kim SV and Flavell RA. CD8 α and T cell Memory. *Science* 304: 529-531. 2004.
- * Kroczeck RA, Mages HW, Hutloff A. Emerging paradigms of T-cell co-stimulation. *Curr Opin Immunol.* 16: 321-7. Review 2004.
- * Lanzavecchia A and Sallusto F. Regulation of T Cell Immunity by Dendritic Cells. *Cell.* 106: 263-266. 2001.
- *** Lieberman J. The abc of granule-mediated cytotoxicity: New weapons in the arsenal. *Nature Review Immunology* 3: 361-370. 2003.
- * Mackay Ch R and von Andrian U. Memory T Cell-Local Heroes in the Struggle for Immunity. *Science.* 291: 2323-2324. 2001.
- *** MacKay IR and Rosen FS. T-Cell Proliferation and Migration. *New England J. Medicine.* 343: 1021-1034. 2000.
- *** Mercer JC, Ragin MJ, August A. Natural killer T cells: rapid responders controlling immunity and disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 37: 1337-1343. 2005.
- *** Mills KH. Regulatory T cells: friend or foe in immunity to infection? *Nat Rev Immunol.* 4: 841-855. Review. 2004.
- * Pasare Ch and Medzhitov R. Toll Pathway-Dependent Blockade of CD4+CD25+ Cell-Mediated Suppression by Dendritic Cells. *Science* 299: 1035-1036. 2003.
- ** Powrie F and Maloy KJ. Regulating the Regulators. *Science* 299: 1036-1039. 2003.
- ** Pribila JT et al. Integrins and T-Cell Mediated Immunity. *Ann. Rev Immunol.* 22: 157-180. 2004. (Excelente revisión con 150 referencias).
- ** Rocha B, Tanchot C. CD8 T cell memory. *Seminars in Immunology* 16: 305-314. 2004.
- ** Schlums KS and Lefrancois L. Cytokine Control of Memory T-Cell Development and Survival. *Nature Review Immunology* 3: 269-278. 2003.
- *** Vallejo AN et al. Biology of T lymphocytes. *Rheumatic Disease Clinical of North America.* 30: 1-23. 2004.
- * Wood KJ and Sakaguchi Shimon. Regulatory T cells in Transplantation tolerance. *Nature Reviews Immunology* 3: 199-210. 2003.
- ** Dong Chen. Diversification of T-helper cell lineages: Finding the family of IL-17 producing cells. *Nature Reviews Immunology.* 6: 329-333. 2006.
- ** Cohn M. Whiten T-Suppressors. If they didn't exist we have to invent them. *Cells Immunol.* 227: 81-92. 2004.
- *** Jiang H and Chess L. Regulation of Immune Responses by T Cells. *NEJM.* 354: 1166-1176. 2006.

William Rojas M.

- Definiciones
- Receptor de Ag de los LsB
- Activación de los LsB
- Formación y función de los centros germinales, CG
- B como células presentadoras de Acs
- Anticuerpos
- Estructura de las Igs
- Clases de Igs
- Control genético de la producción de Igs
- Función de las Igs
 - Immunoglobulina M
 - Immunoglobulina G
 - Immunoglobulina A
 - Immunoglobulina D
 - Immunoglobulina E

La segunda rama del sistema inmune adquirido es la inmunidad humoral que se caracteriza por el encuentro de LsB con un determinado Ag, su activación y transformación en célula plasmática productora de Acs específicos contra el Ag que lo activó. Estos Acs bloquean microorganismos o toxinas, activan el complemento y refuerzan la fagocitosis. Estudiaremos las diferentes clases de Acs y sus funciones específicas.

DEFINICIONES

Inmunidad humoral es un mecanismo adquiriendo de defensa ejercido por los LsB gracias a sus productos de secreción, los anticuerpos, Acs, llamados también inmunoglobulinas, Igs que actúan específicamente contra el Ag que los genera al activar el LB que presente el receptor adecuado.

Anticuerpos. Se conocen también como inmunoglobulinas, son moléculas glucoproteicas producidas por células plasmáticas, derivadas de LsB, que tienen la característica de reaccionar específicamente con determinado Ag.

Los Acs ayudan al control de infecciones por microorganismos extracelulares y su fun-

ción se cumple directamente al neutralizar el Ag, toxina o microorganismo o indirectamente al incrementar la fagocitosis y/o activar la vía clásica del complemento. La producción de Acs contra Acs propios puede desencadenar procesos autoinmunes. En el capítulo 8 estudiamos la ontogenia de los LsB, en este veremos su funcionamiento.

RECEPTOR DE AG DE LOS LsB - BCR

Todo LB maduro posee en su membrana de $0,5$ a $1,5$ por 10^5 moléculas de IgM fijas a través de su porción Fc. Los segmentos variables de las cadenas pesadas y livianas se orientan hacia el medio ambiente de la célula para poder



Gerald M. Edelman (1929). Premio Nobel 1972, compartido con Porter. Estableció la estructura tridimensional de la molécula de IgG.



Susumu Tonegawa (1938). Premio Nobel en 1987. Por sus trabajos el origen de la diversidad de la Acs, gracias a la redistribución de los genes.



Rodney R. Porter (1917-1995). Premio Nobel 1972 por sus trabajos encaminados a establecer la estructura química de las Igs por medio de la fragmentación química y análisis de los residuos obtenidos.

captar un Ag. Son específicas, es decir, cada LB tiene una determinada IgM que puede reaccionar únicamente con un Ag y no con otros. La eventual reacción de un Ag con un LB implica un proceso de selección de aquellos LB que por programación genética produjeron la molécula de IgM. La Ig de la membrana difiere

discretamente de la Ig secretada por las células plasmáticas. La IgM de membrana tiene 20 aminoácidos más que la secretada como Ac.

El BCR está conformado además por un homodímero de cadenas Igs y otro de IgL que están ubicados alrededor de la IgM de membrana. Estas moléculas se conocen también como IgM- α CD79a e IgM- β CD79b. En su segmento intracitoplasmático tiene un dominio de activación basado en tirosina conocido como ITAM que informa al citoplasma del LB cuando un Ag se ha unido a la IgM (Fig. 10-1). Este segmento es el responsable de activar la quinasa de tirosina para iniciar la señalización requerida para la eventual transformación en célula plasmática productora de Acs.

Los LB presentan en su membrana moléculas de IgD que evitan la tolerancia del LB a Ags externos. La tolerancia que el sistema inmune adquiere frente a los Ags propios de cada organismo parece deberse, al menos en parte, a que los LB del feto carecen de IgD y pueden hacerse tolerantes.

Otros receptores de membrana

Además del receptor para el Ag, el LB presenta otros a saber:

1. Receptores Fc para las Igs G por los cuales recibe señales de control.

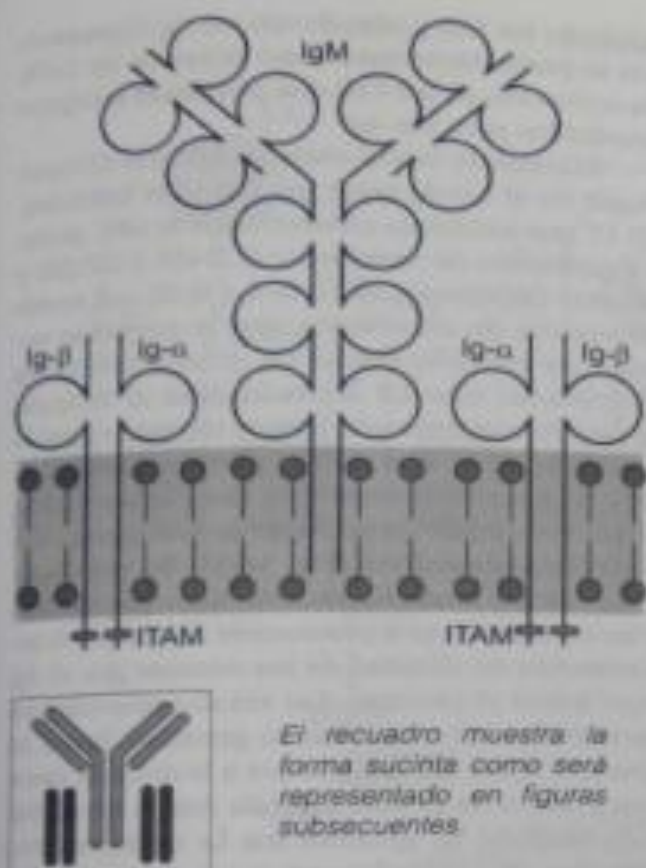


Figura 10-1. Estructura molecular del receptor de los LsB para Ags.

2. Moléculas del MHC por medio de las cuales presenta Ags a los LsT.
3. Receptores para las IL 2, 4, 5 y 6.
4. Receptor CD21 para fracción C3b del complemento.
5. El receptor CD 23 para la IgE.
6. Receptor CXCR5 para la quimioquina CXCL13 producida en el estroma del bazo, y CCR7 para CCL21 producido en los ganglios linfáticos.

ACTIVACIÓN DE LOS LsB

Los LsB tienen receptores para Ags no proteicos, como polisacáridos, que se conocen también como timo-independientes y que les permiten unirse a ellos en la periferia o en la circulación. También tiene receptores para Ags proteicos gracias a los cuales pueden reconocer los presentados por la DC a nivel de los ganglios linfáticos y del bazo, con la ayuda de los LsTh. Además tiene receptores para lipoproteínas.

El LB que sea activado directamente por los Ags timo-independientes, polisacáridos

o lípidos, generará Acs únicamente de la clase M.

Cuando el Ag es proteico, además del estímulo antigénico, el LB debe recibir de los LsTh una serie de señales, por medio de interleuquinas, que hacen que la célula entre en la fase S del ciclo reproductivo y forme un clon. Se aprecia en ellos un aumento de tamaño que se debe a la acción de la IL-5, factor de crecimiento de los LB, (BCGP), y que es producida por los LsTh. Con la ayuda de la IL-6 se transforma luego en célula plasmática productora, inicialmente de Acs de la clase IgM, pero que rápidamente pasarán a ser de clase G, con mayor afinidad por el Ag.

Otros LsB se transforman en células de memoria que se ubican en la zona subcapsular de los ganglios linfáticos, punto estratégico para vigilar una eventual llegada del mismo Ag que los generó. La mayoría de las células plasmáticas migran de los ganglios a la médula ósea o a la zona basal de las mucosas en donde serán productores de diferentes clases de Acs.

La unión del BCR con el Ag inicia en el citoplasma la fosforilación de varias moléculas proteicas lo cual constituye la señal primaria responsable de la proliferación que generará un clono de Ls con capacidad de reconocer únicamente el Ag que inició la activación. Adicionalmente gracias a señales antiapoptóticas se prolonga la vida del L y se incrementa la expresión de moléculas HLAII y de otras moléculas coestimuladoras. La producción de Acs puede incrementarse hasta en 1.000 veces, por el efecto de moléculas como el C3b que se une al CD19 y constituye la señal secundaria de activación del LB. Estas moléculas poseen una larga proyección intracitoplasmática con 9 tirosinas que permiten la fosforilación de moléculas conocidas como Syk, Fyn y Lyn. Este complejo C3b-CD19 actúa en los LsB como las moléculas CD4 y CD8 en los LsT.

Una proteína especial, **BLIMP1**, induce la transformación de los LsB activado en células plasmáticas.

La célula plasmática deja de expresar las moléculas CXCR5 y CXCR7 e incrementa la de la CXCR4. De esta manera, al liberarse del contacto con las DCs y los LsTh, en el centro germinal, puede migrar a los cordones medulares de los ganglios.

La Fig. 10-2 muestra varias de las moléculas que intervienen en la activación del LB y en la iniciación de vías de señalización necesarias para activar o generar factores de transcripción.

La célula plasmática es de mayor tamaño que el LB, presenta hipertrofia del retículo endoplasmático para dar cabida a una gran cantidad de ribosomas encargados de la producción masiva de Acs, miles de moléculas por segundo (Fig. 10-5). La producción de Acs se caracteriza por su especificidad, cantidad, clase, isotipo y afinidad. La especificidad por determinado Ag le permite reconocerlo entre 10^8 moléculas diferentes. La cantidad de Acs producida permite medir la magnitud de la respuesta. Por su clase se determina si estará ubicado en la sangre, en los tejidos o en las mucosas según sean IgM, IgG o IgA, respectivamente. Su isotipo y afinidad definen su función biológica.

El LB activado produce además de Acs, varias citoquinas como IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10 e IL-12, varios IFNs y GM-CSF. No produce IL-2.

Respuesta primaria

Se denomina así la resultante de la activación de un LB virgen, (aquel que no ha tenido contacto con un Ag) y que inicia 7 a 10 días después del contacto, la producción de Acs de la clase IgM de especificidad baja, respuesta que suele ser pasajera y con una duración de pocas semanas.

Respuesta secundaria

Es aquella que se genera cuando un LB de memoria encuentra por segunda vez el Ag que lo generó. Esta respuesta es más rápida, ocurre de 24 a 72 horas después del contacto con el Ag, genera Acs de otra clase distinta a la IgM, por lo general IgG con mayor especificidad por el Ag. Esta respuesta es de mayor duración a la primaria (Fig. 10-4).

FORMACIÓN Y FUNCIÓN DE LOS CENTROS GERMINALES

Dentro de los órganos linfoides secundarios, (bazo y ganglios linfáticos) hay acumulos de LB que se conocen como nódulos linfoides.

Cuando los Dcs y Mas llevan un Ag capturado en la periferia, se inicia con la ayuda de LaB la activación de los LB que posean el receptor específico para ese Ag.

El contacto inicial entre las APC y el LB tiene lugar en el borde entre los folículos linfoides. El LB que establece contacto con la APC genera moléculas de membrana (CD40L y CD28) y secreta citoquinas, (IL-2, IL-4 e IL-5), así como moléculas de adherencia, que le permiten establecer contacto con el LB, presentarle el Ag y activarlo. Este LB activado pasa al folículo y prolifera generando una zona oscura en la periferia de lo que será el centro germinal, CG, y posteriormente una zona central más clara en donde tiene lugar la transformación en célula plasmática (Fig. 10-5). En ese lugar ocurren las mutaciones somáticas que definirán la clase de Ac a producirse así como el incremento de afinidad de los mismos por el Ag que inició el proceso. Las células plasmáticas generadas salen del centro germinal hacia la parte central del ganglio y/o a la médula ósea para iniciar la producción de Acs. A nivel del CG también se generan los La de memoria, algunos de los cuales permanecen en el ganglio en tanto que otros migran a otros órganos linfoides terciarios.

Los folículos linfoides del bazo y de las placas de Peyer también se transforman en centros germinales con la llegada del Ag y con la influencia de varias citoquinas.

Parece que las células dendríticas foliares que expresan CR1, CR2 y CR3 captan y retienen Acs por meses o años gracias a lo cual la respuesta inmune contra ciertas infecciones es de muy larga duración.

LaB de memoria

Una vez que el Ag es destruido, las células plasmáticas responsables de la producción de Acs entran en apoptosis. Los LB vírgenes que no han tenido contacto con el Ag para el cual están programados a reaccionar, tienen en su membrana gran cantidad de moléculas CD44 y de selectina L, en tanto que los de memoria pierden casi por completo estas moléculas. Los LaB pueden seguir tres caminos diferentes, hacerse tolerantes a los Ag propios, convertirse en células plasmáticas productoras de Acs, o tornarse en células de memoria (Fig 10-6).

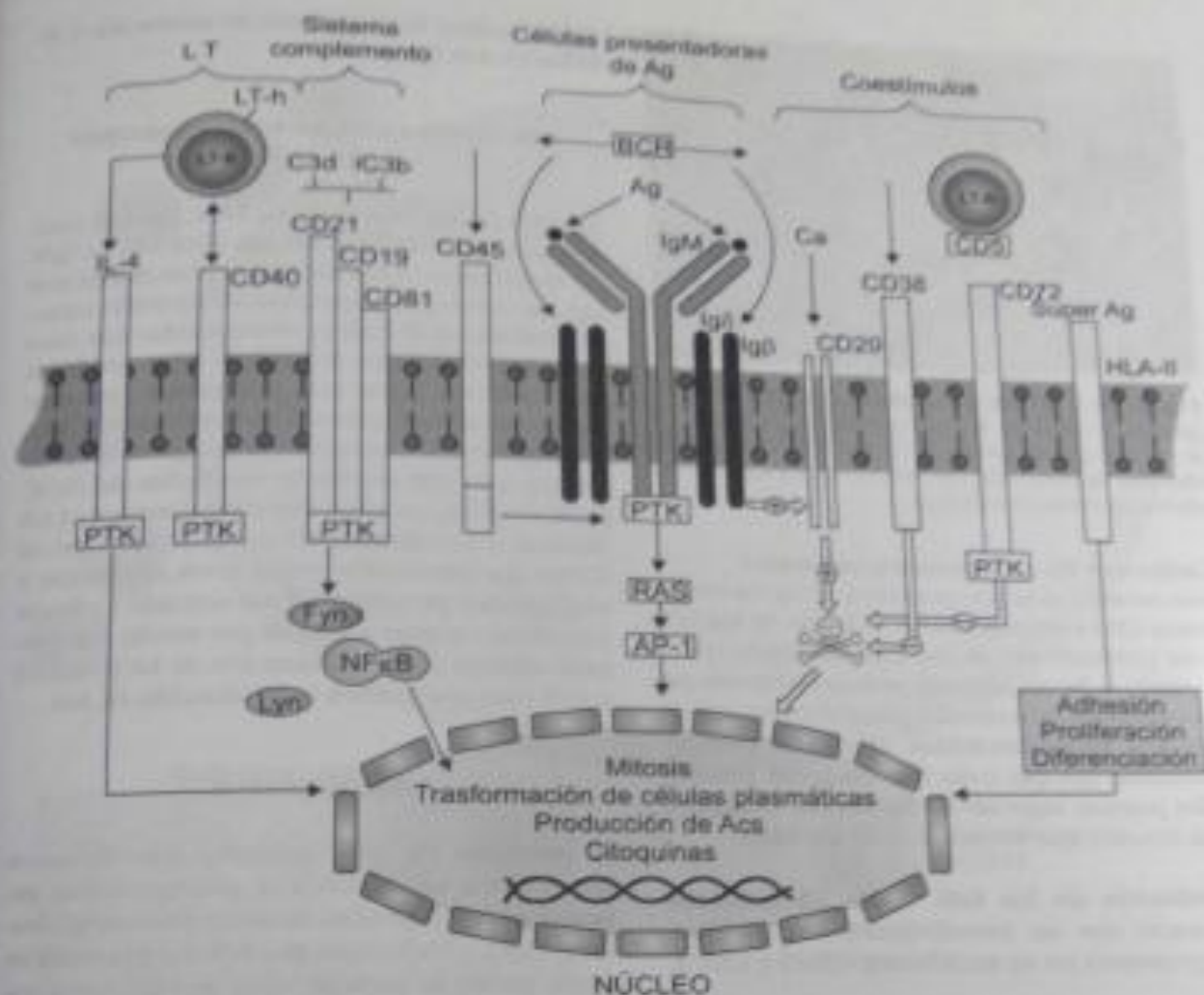


Figura 10-2. Las diferentes vías de activación de los LsB. En el centro, la unión del Ag presentado al BCR inicia en el citoplasma una vía de señalización con la fosforilación de diferentes quinasas proteicas de tirosina, PTK. Esta fosforilación incrementa el ingreso de calcio por el canal especial para el CD20. Simultáneamente por medio del coestimulador CD45 se incrementa la fosforilación de la PTK. En el citoplasma la cascada de señalización prosigue con la activación de diferentes moléculas proteicas como RAS y MSRK, vía por la cual se activa la mitosis de la célula para generar un clono de LsB específicos para el Ag que inició el proceso. En el lado izquierdo se aprecia las vías de estimulación iniciadas por los LsTh por medio de la IL-4 y de los factores derivados de la activación del factor C3 del sistema del complemento que interactúan con el IL-4L, y las moléculas CD 40, 21, 19 y 81, inician otra vía de señalización que termina generando el NFκB. Este ingresa al núcleo, e inicia la producción de Acs y de citoquinas. Al lado derecho, se puede apreciar el efecto que sobre los LsB que han cumplido su función ejercen las moléculas CD38, y 72 que los inducen a la apoptosis. Finalmente en algunos casos los superantígenos bacterianos pueden iniciar otra vía de señalización actuando sobre moléculas HLA-II.

En los sitios donde se inició la agresión que dio origen a los Acs que fueron llevados a los órganos linfoides secundarios, se generan quimioquinas que los atraen e inducen su ingreso a los tejidos para estar atentos a un eventual

reingreso del mismo Ag que las generó. La Fig. 10-7 muestra las quimioquinas y los receptores que al interactuar conducen tanto a las células de memoria como a las células plasmáticas a determinados territorios y no a otros.

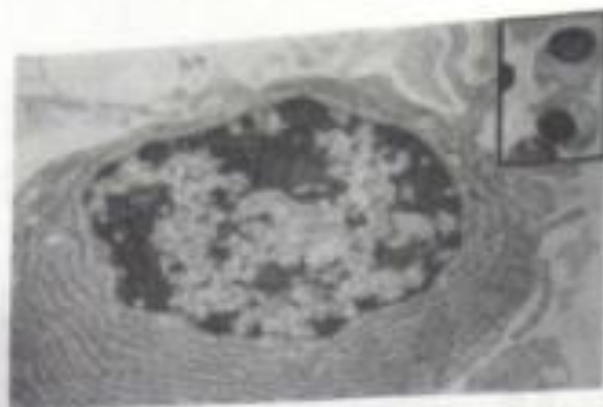


Figura 10-3. Célula plasmática. Aspecto morfológico de la célula al microscopio de luz, recuadro, y al microscopio electrónico. En este último se puede observar la hipertrofia del retículo endoplásmico en donde se producen los Acs.

Linfocitos B1 o timo-independientes

Son reconocidos por presentar el Ag de membrana CD5 y no requieren de la ayuda de los LsT para producir Acs. Ya los mencionamos en el capítulo 4. Se encuentran primordialmente en las cavidades peritoneal y pleural y son activados por lipopolisacáridos. Producen primordialmente IgA que evita que bacterias comensales puedan ingresar al organismo. Cumplen una función que recuerda la de los Ls γ 5.

Inhibición de los LsB. Si un LB establece contacto con un autoantígeno, dos moléculas presentes en su membrana, CD22 y CD72,

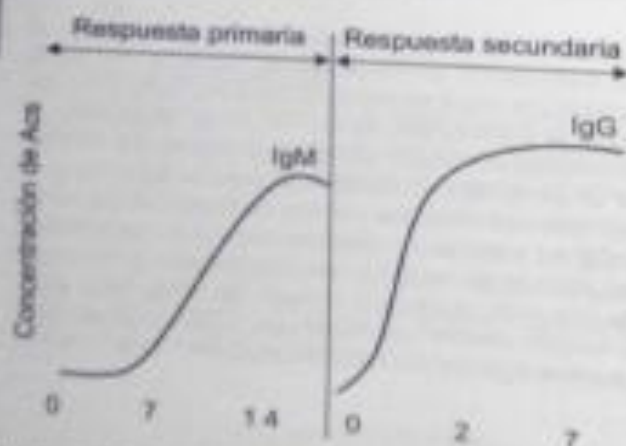


Figura 10-4. Respuestas primarias y secundarias de producción de Acs. El estímulo antigénico inicial genera, pasados los primeros 7 a 10 la producción de IgM. El ingreso ulterior del mismo Ag genera, casi de inmediato, la producción de IgG.

detectan este hecho frenan su activación y lo inducen a la apoptosis.

LsB COMO CELULAS PRESENTADORAS DE AGS

Además de los M ϕ s y de las DCs, los LsB pueden ser presentadores de Acs a los LsT. La IgM de membrana de los LsB tiene gran avididad por Acs de diferente naturaleza incluyendo aquellos proteicos de bajo peso molecular que para ser inmunogénicos requieren estar unidos a una molécula portadora o hapteno. Este tipo de Acs es captado por el LB, que los internaliza y los procesa tomando el epítopo proteico antigénico para por medio de moléculas del MHC presentarlo a los LsT-h. Simultáneamente el LB expresa las moléculas B7-1 y B7-2 así como el CD40. La interacción entre estas moléculas y sus ligandos permite al LsT ser activado y a la vez presentar y activar a los LsB por medio del contacto directo y por la liberación de las IL-2, IL-4 e IL-5 para que inicien la producción de Acs.

ANTICUERPOS

Al principio de este capítulo mencionamos que los Acs son moléculas glucoproteicas especializadas, llamadas también inmunoglobulinas (Igs), producidos por células plasmáticas y que tienen la característica de reaccionar específicamente con un Ag.

La composición de las Igs es de un 82 a 96% proteica y un 4 a 18% de carbohidratos. La parte proteica está constituida por un tetrapéptido que a diferencia de las demás proteínas tienen dos regiones funcionales diferentes, una encargada del reconocimiento del Ag, que posee gran variabilidad por cuanto tiene la capacidad de reconocer un número casi ilimitado de moléculas diferentes. El otro segmento tiene una función efectora, su constitución es más o menos constante y tiene la capacidad de fijar el complemento, de obrar como opsonina, de facilitar el paso de Acs a través de ciertas barreras como la placenta y en general, de ser efectora de los mecanismos de inmunidad humoral.

Los Acs representan entre un 10 y un 20% de las proteínas totales del plasma. Son de re-

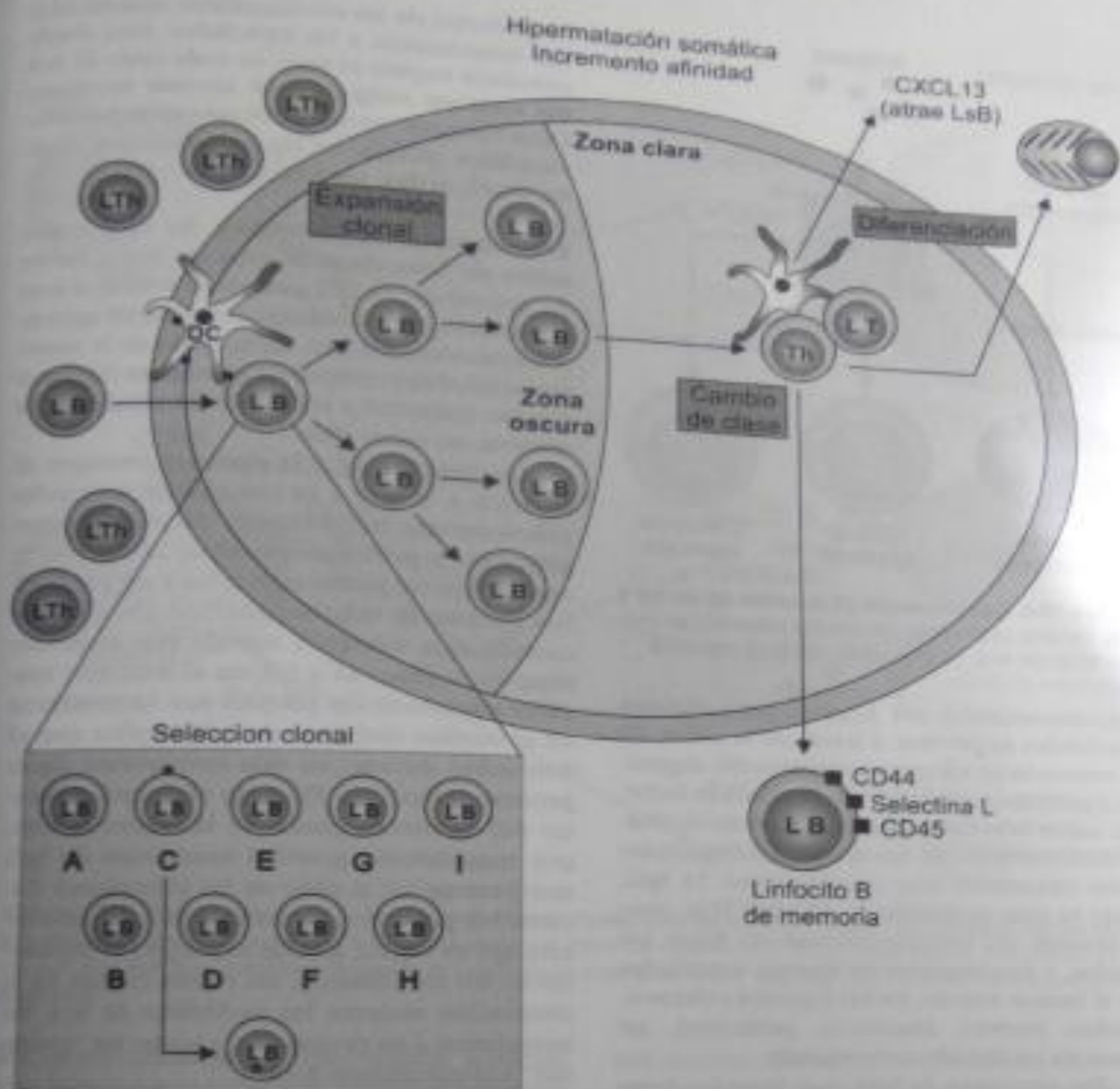


Figura 10-5. Desarrollo de un centro germinal. Cuando a un LB maduro le es presentado un Ag se inician dos procesos, la selección y la expansión clonal, mecanismos por los cuales se asegura la selección de los LB que tienen un BCR específico para el Ag presentado y la proliferación de estos para asegurar un número adecuado de LB productores de una adecuada cantidad de Abs. Esta proliferación genera la llamada zona oscura del centro germinal. Los LB allí generados pasan a la zona clara en donde se transforman en células plasmáticas o en células de memoria.

rias clases, que se reconocen con los nombres de IgA, IgG, IgM, IgE e IgD. Su estructura básica es similar en todas las clases, con variaciones propias de cada una y con diferencias moleculares a determinados niveles, que les confieren la especificidad de reaccionar con determinado Ag y no con otros.

En condiciones normales, un organismo adulto sintetiza de dos a cuatro gramos diarios de Abs y cataboliza por lo general una cantidad igual. La vida media de cada clase de Ig es distinta. De quince a veinte días para la IgG, de cuatro a cinco para la IgA e IgM. Parte del catabolismo de los Abs se hace por el sistema

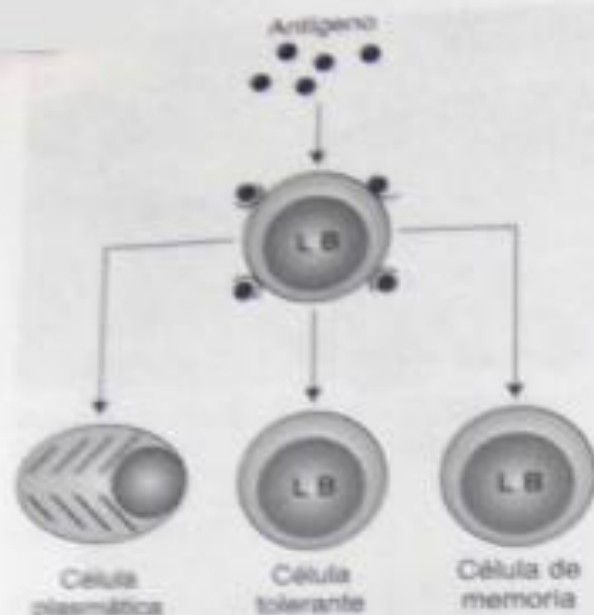


Figura 10-6. Consecuencia de la unión de un Ag a LB. De esta se generan las células plasmáticas productoras de Acs, La tolerantes o LaB de memoria.

longaciones de las células gliales, que se adhieren íntimamente a las epiteliales. Esta doble envoltura impide el paso de toda clase de Acs del torrente sanguíneo al sistema nervioso. Otras barreras, menos estrictas que la hematoencefálica, existen en las articulaciones, vagina, útero, vejiga, testículos y placenta.

Transcistosis. Se denomina así el proceso activo de paso de moléculas de Acs a través de una célula. La IgG pasa de la madre al feto atravesando el trofoblasto para salir al torrente circulatorio del feto. La IgA pasa de la membrana basal del epitelio de la mucosa digestiva a la luz intestinal a través de las células de la mucosa, no entre ellas.

Las membranas y la placenta protegen al embrión y al feto y lo colocan en un medio prácticamente aséptico, libre del contacto con gérmenes y proteínas extrañas, razón por la cual el feto no recibe estímulos y no produce Acs durante la vida intrauterina. Únicamente cuando una infección sufrida por la madre traspasa la placenta e infecta al feto, éste empieza a producir sus propios Acs. La presencia en el cordón umbilical de IgM implica que el feto sufrió durante su vida intrauterina algún proceso infeccioso. Durante el último trimestre del embarazo pasan de la madre al feto, por transcistosis, grandes cantidades de IgG que protegerán al niño de las infecciones durante los primeros meses de vida. El paso de esta IgG es activo, gracias a receptores presentes en los trofoblastos, los cuales captan de la circulación materna las moléculas de Acs, las introducen a su citoplasma y luego las "excretan" a la circulación fetal.

Posteriormente, en las primeras veinticuatro horas de vida, el niño podrá absorber por el tracto digestivo una cantidad apreciable de Acs que la madre le traspasa a través del calostro y la leche. La capacidad de absorción de Acs desaparece rápidamente al madurar el tracto digestivo. De ahí la importancia de la alimentación materna desde las primeras horas. El calostro es muy rico en IgG y en IgA. La concentración de la IgG decrece rápidamente en la leche, pero las cantidades de IgA continúan siendo importantes durante toda la lactancia y de gran utilidad para la defensa contra las infecciones gastrointestinales.

reticuloendotelial del hígado, pero algunas cantidades se pierden, a través de la saliva, de la secreción de los tractos respiratorio, digestivo y gastrointestinal, del calostro y de la leche, sin haber sido desintegrados en aminoácidos. La concentración de Acs dentro del organismo tiene variaciones muy considerables. La IgG, dado su peso molecular de 150.000 kDa, pasa fácilmente del torrente circulatorio hacia los tejidos, y se encuentra en buenas cantidades en el humor acuoso, en los líquidos cefalorraquídeos, sinovial, amniótico, peritoneal, así como en los líquidos intersticiales.

Por otra parte, la IgM, que tiene un peso molecular de 900.000 kDa no sale del torrente circulatorio a los tejidos sino en condiciones excepcionales y su mayor concentración es, por lo tanto, intravascular. En las secreciones como la saliva, las lágrimas, el moco nasal y traqueobronquial, los líquidos intestinales, la bñs, la orina, el calostro y la leche, la Ig más abundante es la IgA pero pueden presentarse pequeñas cantidades de IgG (Fig. 10-8).

Barreras al paso de anticuerpos. En el sistema nervioso central hay una barrera hematoencefálica, constituida por el endotelio aplanado de los vasos sanguíneos, recubierto por pro-

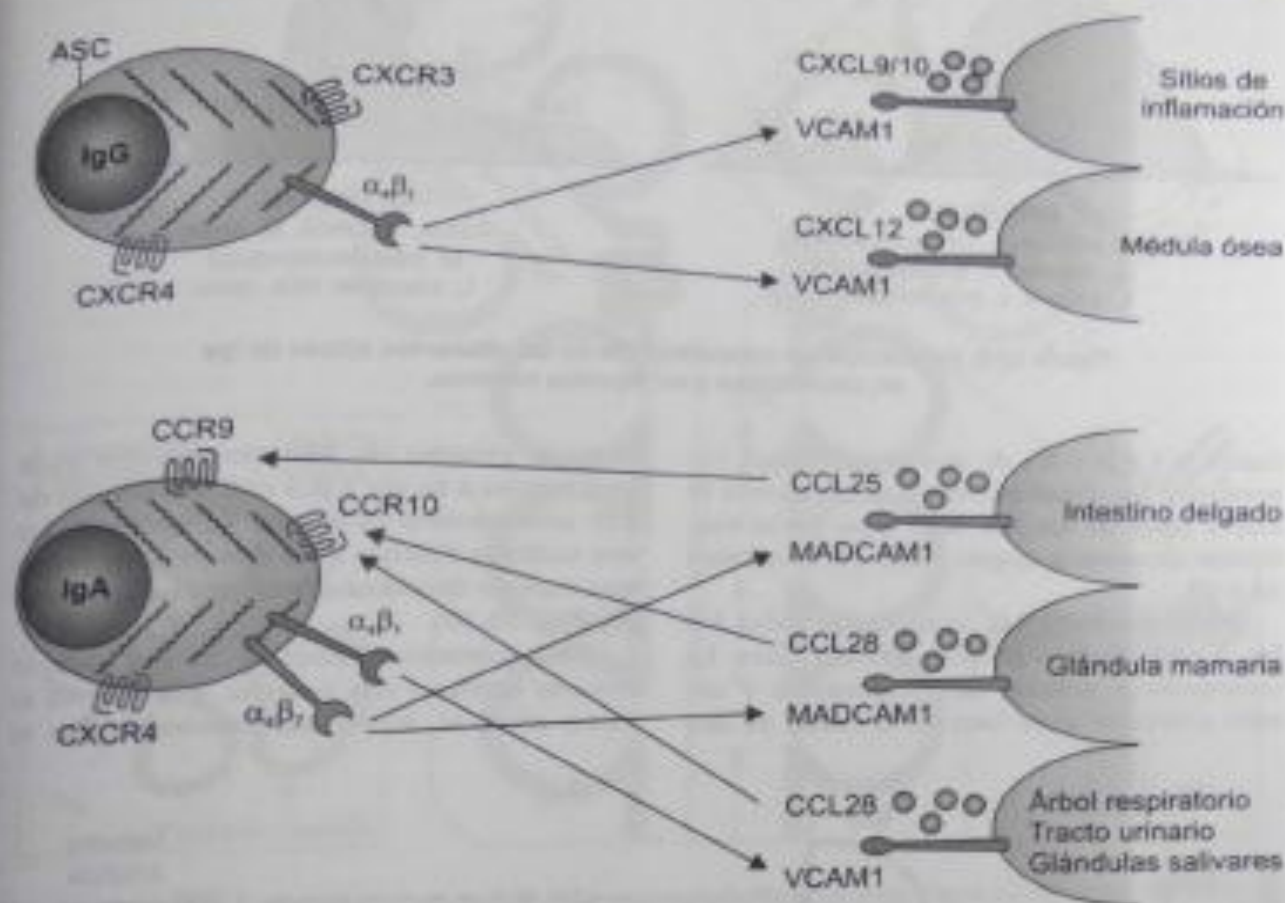


Figura 10-7. Efecto de las quimioquinas y de las moléculas de adherencia en la ubicación de las células plasmáticas. Las productoras de IgG van a los sitios de inflamación o a la médula ósea. Las productoras de IgA pueden ir al intestino delgado, a la glándula mamaria, árbol respiratorio, tracto urinario o glándulas salivares.

los recién nacidos. La alimentación artificial, con leches preparadas con fórmulas balanceadas en proteínas, hidratos de carbono, lípidos y vitaminas, fallan por no aportar al lactante los Acs. No hay, por lo tanto, sustituto lógico y adecuado a la alimentación materna. Está definitivamente comprobado que la morbilidad es menor en los niños alimentados al pecho que en los alimentados artificialmente.

En la vida extrauterina, al iniciar el niño el contacto con los Acs que le entran por vía oral y respiratoria, inicia la producción de sus propios Acs que reemplazan, pasados los primeros seis meses, los recibidos de la madre. La capacidad de sintetizar sus propios Acs obedece a un proceso gradual de maduración de su siste-

ma inmune. Hacia los cuatro a cinco años los niveles de IgG ya son iguales a los del adulto. No obstante, entre el cuarto y el quinto mes de vida extrauterina existe un periodo crítico, de baja concentración de IgG, ya que los Acs de esta clase que recibió de la madre han sufrido el proceso catabólico, y no alcanzan a ser reemplazados por los producidos por el niño (Fig. 10-9).

ESTRUCTURA GENERAL DE LAS INMUNOGLOBULINAS

Las proteínas del plasma se pueden separar por electroforesis, en varias bandas, de las

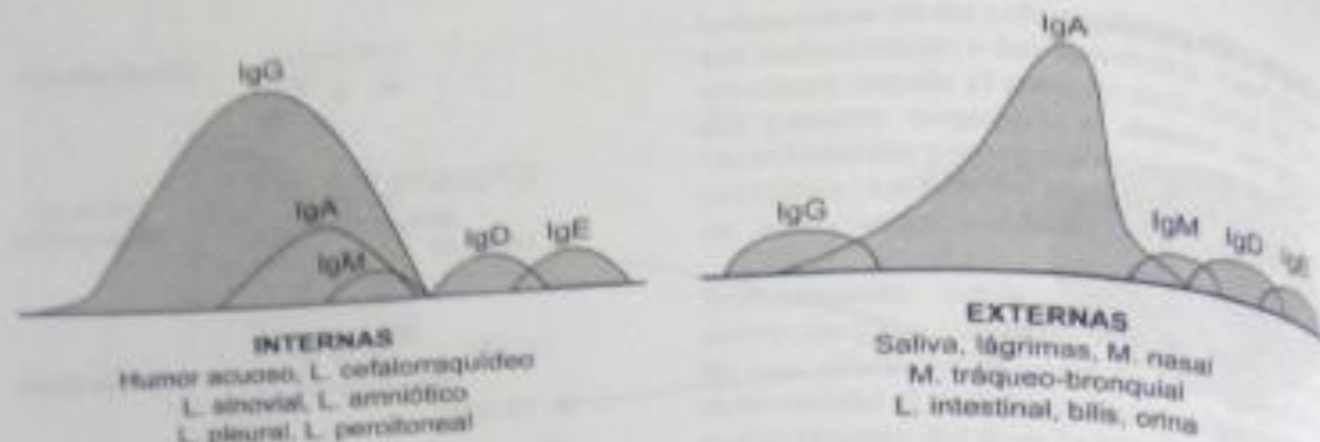


Figura 10-8. Proporción de concentración de las diferentes clases de Igs en secreciones y en líquidos internos.

cuales la γ y la β las de menor movilidad, representan las zonas en donde se concentra la mayor parte de los Acs. Sólo unas pocas moléculas alcanzan a migrar hasta las fracciones $\alpha 2$ y $\alpha 1$.

Hay características comunes a todas las Igs, y específicas o propias de cada clase. La característica general más importante y común a todas ellas se basa en la unión de dos

cadenas pesadas de 440 aminoácidos cada una, unidas a su vez a dos cadenas livianas de 220 aminoácidos cada una. La unión de las dos cadenas livianas a las dos pesadas forma una especie de pinza, encargada de atrapar al Ag (Fig. 10-10).

Esta estructura básica de las dos cadenas livianas unidas a dos pesadas, que a la vez se unen entre sí, forma un monómero que se

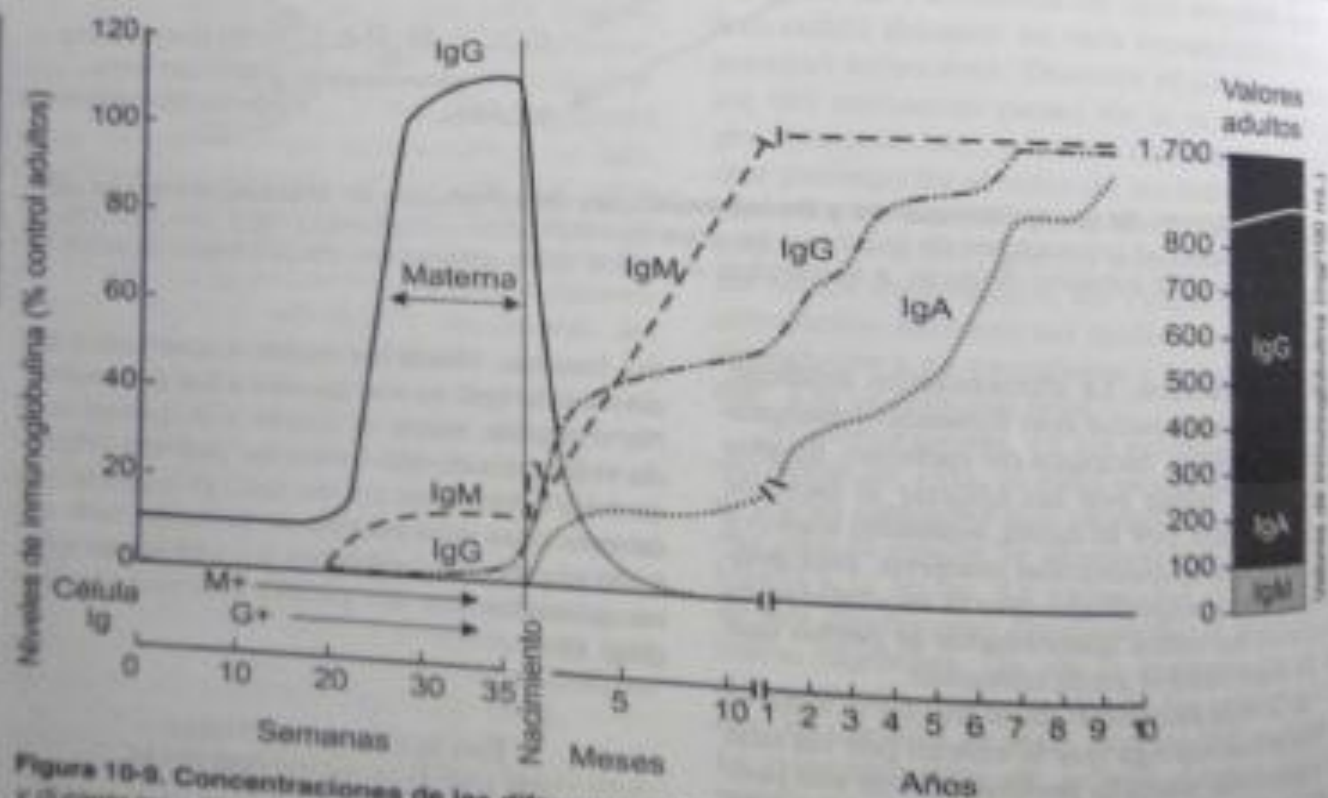


Figura 10-9. Concentraciones de las diferentes clases de Igs según la edad. Durante la vida intrauterina y durante los primeros meses de vida, la IgG presente en la sangre del feto y del niño es la IgG pero producida por la madre que pasa al feto por la placenta. Después del nacimiento se inicia la producción por sí misma de las diferentes clases de Igs. Cortesía del Dr. Afford CA Jr. Pediatr. Clínica of North America vol. 18



Figura 10-10. Estructura de una molécula de inmunoglobulina. En línea negra se muestran las cadenas pesadas y sus segmentos o dominios caracterizados por los puentes S-S. En línea doble las cadenas livianas. En los extremos superiores de las cadenas, tanto L como H se observan los segmentos hipervariables que se unen al Ag. En el recuadro derecho inferior, un corte transversal del segmento Fab en el cual se aprecia en el centro el Ag rodeado por los segmentos hipervariables de las cadenas H y L. En el recuadro de la derecha la imagen tridimensional de la IgG.

puede encontrar en el plasma o en las membranas, y que es la forma de presentación más común de la IgG, la D y la E. La IgM suele presentarse predominantemente en una forma pentamérica. La IgA puede circular en el plasma en forma monomérica, pero en las mucosas es secretada como un dímero.

Si estudiamos individualmente cada una de estas cadenas, encontraremos en ellas algunas características importantes que se relacionan con su función. La **cadena liviana**, gracias a puentes disulfuro, forma dos asas que permiten dividir la cadena en dos segmentos de 107 a 110 aminoácidos cada uno, llamados dominios. El primer segmento o dominio recibe el nombre de variable de la cadena liviana

(VL), debido al hecho de que la secuencia de aminoácidos cambia de un Ac a otro, siendo idéntica en todas las moléculas de Acs destinadas a reaccionar con determinado Ag. En otras palabras, la especificidad de la molécula de Ac está dada por los segmentos variables, en los cuales la secuencia de aminoácidos es específica para cada Ac. El segundo segmento de la cadena liviana de los Ac recibe el nombre de constante (CL), debido a que la secuencia de aminoácidos es prácticamente igual en todos los Acs dentro de una misma clase de Acs (Fig. 10-10).

Cadenas pesadas. Tienen cuatro o cinco dominios dependiendo de la clase, cuatro para

las IgG, IgD e IgA y cinco para las IgM e IgE. El primero de estos de 100 a 110 aminoácidos se conoce como segmento variable (VH). La secuencia de aminoácidos en este caso es igualmente idéntica para las moléculas de Ac que deben reaccionar con un Ag específico; de ahí la especificidad del Ac. Esta secuencia varía para cada Ac encaminado a reaccionar con otro Ag. Los segmentos o dominios restantes tienen una secuencia de aminoácidos que es igual para todas las moléculas de una misma clase, y que se denominan CH1, CH2, CH3 y CH4. Las Igs G, A y D tienen tres segmentos constantes, mientras que la M y la E poseen cuatro.

Segmentos variables. Tanto el VL como el VH tienen en su secuencia de aminoácidos regiones hipervariables, que se intercalan con segmentos constantes conocidos como CDRL. Los tres segmentos hipervariables de la cadena liviana están colocados entre los aminoácidos 24 a 34, CDR1-L, 50 a 56, CDR2-L y 89 a 97, CDR3-L (Fig. 10-11), en tanto que en la cadena pesada estos segmentos se ubican entre los aminoácidos 31 a 55, CDR1-H, 50 a 65, CDR2-H, 95 a 102, CDR3-H. Los segmentos constantes intercalados se denominan FR1 al 4, bien sean L o H.

La función de los segmentos variables como ya se dijo, es la de unirse directamente con la molécula antígenica por asociación covalente que incluye fuertes electrostáticas, puentes de hidrogenados e interacciones de tipo Vander Waals que representan un cambio de energía de unas 6 a 17 kcal/mol. El segmento de esta unión con el Ag está representado por un nicho no polar de unas dimensiones que están alrededor de $16\text{\AA} \times 7\text{\AA} \times 6\text{\AA}$.

Segmentos CL y CH1. Como ya se mencionó, la secuencia de aminoácidos de estos segmentos es prácticamente idéntica para cada clase de Ig. Por lo tanto, todo Ac de los muchos existentes contra los distintos Ags tiene una secuencia de aminoácidos similar en estos segmentos que tienen la función de estabilizar la estructura terciaria y cuaternaria de la molécula para facilitar y hacer más estable la reacción de los segmentos variables con el Ag.

Gozne. Representa una zona de transición en la cadena de aminoácidos, que se encuentra intercalada entre el primer segmento constante y el segundo. Está compuesta por una cadena de ocho a quince aminoácidos. Cumple una función importante al permitir la movilidad de los dos primeros segmentos de la cadena pesada, a los cuales están adheridas las cadenas livianas, y facilitar el que estos puedan unirse a dos terminaciones antígenicas que estén más o menos separadas. Gracias a esta movilidad, las fracciones Fab de las moléculas de Ac pueden juntarse o separarse formando una Y o una T para reaccionar con el Ag. Esta región es diferente para cada clase y subclase de Ig. El número de puentes disulfuro dentro del gozne varía en cada subclase de Ig: son dos para la IgG1 y la IgG3, 4 para la IgG2 y 15 para la IgG4.

Segmento CH2. Constituye el primer dominio del segmento Fc de la molécula de Ac. En él se unen lateralmente algunas cadenas de carbohidratos, y son la base de una de las funciones biológicas más importantes de las moléculas de Ac. A ese nivel se une al Ac de una IgG, los primeros factores del complemento una vez que ha tenido lugar la reacción Ag-Ac. Esta reacción debe, en alguna forma, modificarse aún, modificar la estructura espacial de



Figura 10-11. Estructura de una cadena liviana. Los segmentos CDR en negro y los hipervariables en gris.

molécula de Ig, o descubrir radicales presentes en el segmento CH2, que en condiciones de reposo parecen estar ocultos. Lo anterior permite que el primero de los factores de la vía clásica del sistema del complemento, el C1q, se una a la cadena pesada y se inicie así la reacción en cascada, que le permitirá a este sistema cumplir sus importantes funciones biológicas.

Por otra parte, la remoción de las terminaciones de ácido siálico en las cadenas laterales de oligosacáridos situadas en este lugar, facilita el que las moléculas de Acs sean fagocitadas por las células reticuloendoteliales del hígado, haciendo posible el catabolismo de las mismas. Por lo tanto, el control homeostático de las Igs parece estar controlado por este segmento.

Segmento CH3. Cumple un papel muy importante como opsonina, gracias a que los Mφ y posiblemente los PMN poseen un receptor especial de membrana para los extremos distales de las cadenas pesadas de las moléculas de Ac. En el caso de la IgG parece que esos receptores reaccionan directamente con el segmento CH3, lo cual permite que la molécula de Ig se fije a los Mφ y facilite, por lo tanto, el que éstos fagociten el Ag que está unido por el otro extremo a la molécula de Ig.

En la placenta, los trofoblastos tienen igualmente receptores para este segmento de la IgG, y debido a su interacción se logra el transporte activo de los Acs e IgG de la madre al feto. El segmento CH3 de la molécula de IgD es el responsable de que ésta pueda adherirse a la membrana de los LsB.

Segmento CH4. Este dominio no está presente sino en la IgE y en la IgM. Gracias a él la molécula de IgE se fija sólidamente a los mastocitos, que tienen receptores para este segmento. En la IgM este segmento participa en la activación del sistema del complemento. Además, a través de él se une a los receptores Fc de los Mφ.

Cadenas laterales de carbohidratos. En varios niveles de las cadenas, y en distintos sitios de acuerdo con la clase de Ig, se encuentran adheridas cadenas de carbohidratos en forma lateral. Algunas de estas cadenas son comple-

jas y tienen terminaciones de ácido siálico y fucosa, en tanto que otras, de estructura más simple, contienen manosa o hexosas. Estas cadenas parecen servir para estabilizar y proteger la cadena proteica. Algunos de estos residuos, muy fuertes polarmente, como el ácido siálico, mantendrían los segmentos de la cadena polipeptídica en una orientación adecuada para que puedan ser reconocidos por los receptores Fc. Estas cadenas controlan también el metabolismo del calcio, necesario en las reacciones de la molécula de Ac con el complemento. En la IgA, las cadenas de carbohidratos facilitan el acoplamiento de la pieza secretora a la molécula de Ac. La remoción de las terminaciones de ácido siálico descubre residuos de galactosa, que reaccionan con receptores presentes en las células del parénquima hepático. Las Igs así captadas por el hígado, son degradadas a aminoácidos.

Importancia de los puentes disulfuro. Estos establecen puentes entre diferentes regiones de la molécula, con lo cual determinan la formación de asas o segmentos específicos. La ruptura de estos puentes, en las diferentes clases de Igs, disminuye su función biológica, la activación del complemento, la capacidad citofílica de la IgE y la opsonificación.

Configuración tridimensional. Una molécula de Ig tiene 3 regiones globulares, 2 para la parte Fab y 1 para la parte Fc, unidas por el gozne. Esta conformación globular permite que la zona Fab del Ac, región hipervariable o idiotipo, pueda reaccionar con el Ag. La configuración globular de la zona Fc, región constante de la cadena pesada, facilita la interacción con el complemento.

Fragmentación de una molécula de anticuerpo. Con el empleo de enzimas y de otros procedimientos químicos ha sido posible dividir la molécula de Ac en diferentes fragmentos, lo cual ha permitido estudiar la estructura y el funcionamiento de cada segmento (Fig. 10-12).

La pepsina ataca la molécula de Ac a nivel del gozne, zona de contacto entre las dos porciones principales de la Ig y que permite que las porciones destinadas a reconocer el Ag puedan separarse o aproximarse. Esta reac-

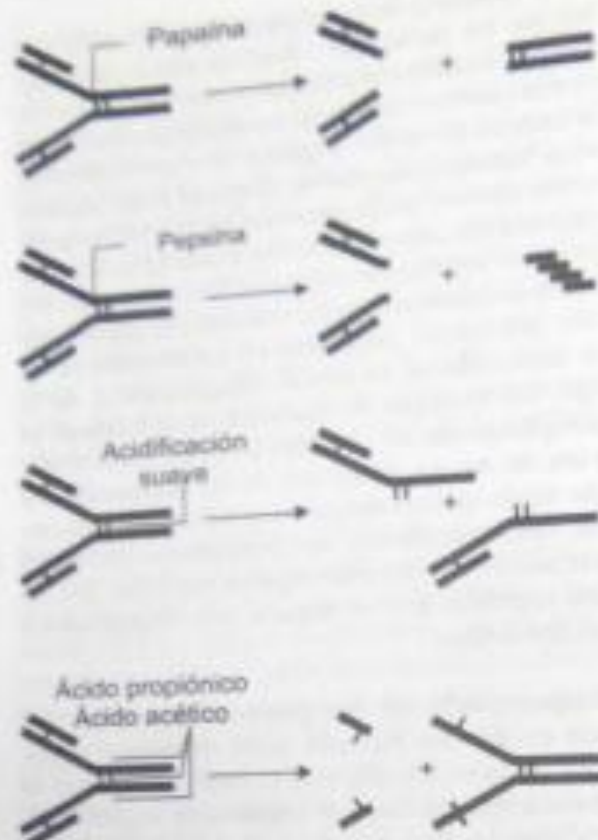


Figura 10-12. Digestión, por enzimas de una molécula de Ac. Con papaina se obtienen dos segmentos Fab y uno FC. Con pepsina, la fragmentación es por el gozne y genera una pieza compuesta por las dos fracciones Fab. La acidificación corta los puentes que unen las cadenas pesadas entre sí. El ácido propiónico libera las cadenas L.

ción enzimática produce tres fragmentos. Dos de ellos, que se conocen en la literatura como fragmentos Fab, representan la unión de las cadenas livianas con los dos primeros segmentos o dominios de la cadena pesada y constituyen los lugares por donde el Ac reacciona con el Ag. El otro, que se conoce con el nombre de Fc o fragmento cristalizante, está constituido por los restantes segmentos constantes de las cadenas pesadas unidas entre sí.

La tripsina actúa sobre las cadenas pesadas a nivel del primer puente disulfuro, liberando un fragmento de gran tamaño que constituye los dos segmentos Fab unidos a una pequeña porción de ambas cadenas pesadas, en tanto que el resto de las cadenas pesadas son parcialmente degradadas.

Si se emplea ácido propiónico 1 N o urea 8 N, se logrará romper los fuertes enlaces co-

valentes que unen las cadenas pesadas a las livianas. Por lo tanto, se producirá una división longitudinal de la molécula de Ig, formando dos mitades; cada una de estas mitades está compuesta por una cadena pesada y una liviana completas. Bajo determinadas condiciones y mediante procedimientos de acidificación, es posible la separación de las cadenas, obteniéndose así dos livianas y dos pesadas.

CLASES DE INMUNOGLOBULINAS

Existen 5 clases de Igs. Su producción está determinada unas veces por el tipo de Ag, o por el efecto de citoquinas. Los lipopolisacáridos generan IgM, en tanto que los alérgenos inducen la producción de IgE. La IL-4 ayuda a producir IgG1 e IgE, la IL-5 IgM e IgA. El interferón γ , IgG2 (Fig. 10-13).

Cada clase de Ig tiene su propia cadena pesada, y para la IgG; α para la IgA; μ para la IgM; δ para la IgD y ϵ para la IgE. La estructura especial de estas cadenas pesadas es responsable de las diferencias biológicas de las Igs (Fig. 10-14, Tabla 10-1).

Subclases de inmunoglobulinas. Cada clase puede tener varias subclases. Se conocen

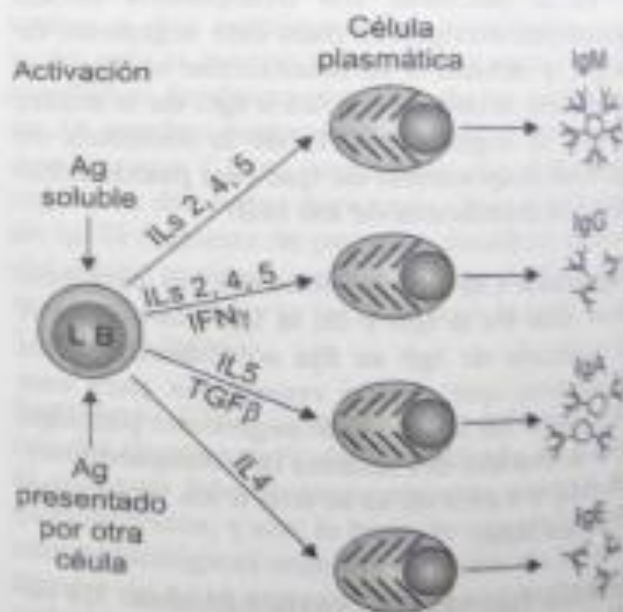


Figura 10-13. Cambio de clase de la Ig producida por una célula plasmática. Diferentes citoquinas controlan ese proceso.

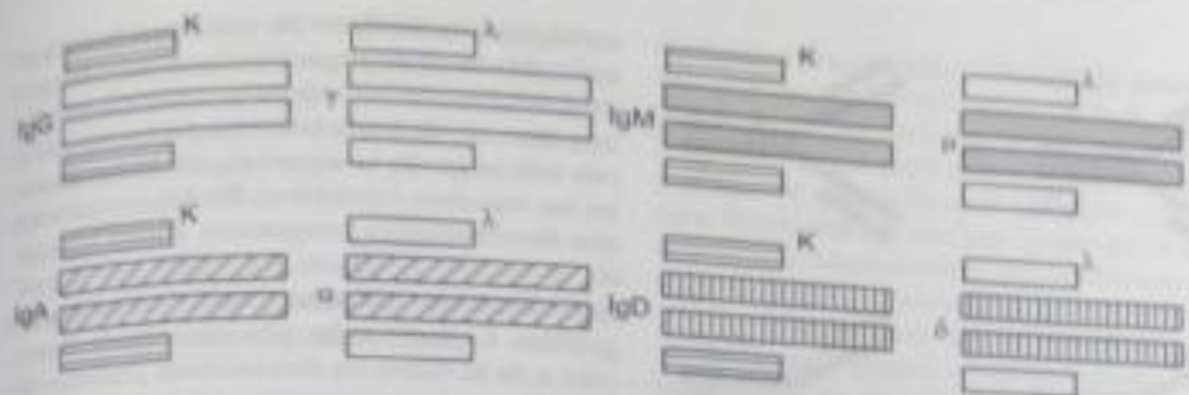


Figura 10-14. Características de las diferentes clases de Ig. Las cadenas livianas son K o λ. Las cadenas pesadas son γ para la IgG, μ para la IgM, α para la IgA y δ para la IgD.

cuatro diferentes para la IgG, las IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 que se diferencian por el número y ubicación de puentes disulfuro a nivel del gene (Fig. 10-15). Cada una de ellas tiene una acción específica en relación con el complemento.

La IgA tiene dos subclases, que se diferencian por la rapidez con que son catabolizadas. Algunos microorganismos producen proteasas que desintegran parcialmente la molécula de IgA1, pero que no afectan la IgA2.

Hay igualmente dos subclases de IgM, la IgM1 y la IgM2. Las IgD e IgE no tienen subclases.

Cadenas livianas. Se conocen dos tipos, la kappa y la lambda, pero hasta el presente no se ha descubierto diferencia biológica en su actividad.

Isotipos de inmunoglobulinas. Son los determinantes antígenicos de una Ig que se

Tabla 10-1. Características de las diferentes clases de Ig.

CLASE	IgG				IgA		IgM	IgD	IgE
	G1	G2	G3	G4	A1	A2			
Características									
Concentración en suero (mg/mL)	7,2	3,5	0,8	0,3	1,9	0,2	1,9	0,05	0,0001
Vida media	21	21	7	21	6	6	5	5	2,5
Activación del complemento	++	+	++	0	0	0	++	?	0
Fijación a Mas	0	0	0	±	0	0	0	0	+
Fijación a fagocitos	++		++	±			0		
Pasa por la placenta	+	+	+	+	0	0	0	0	0
Valencia	2	2	2	2	2-4	2-4	5-10	2	2
Sereno (mg/kg/día)	55	55	33	55	24	4,3	3,3	0,4	0,002
Clase de cadena pesada	γ1	γ2	γ3	γ4	α1	α2	μ	δ	ε
Dominos de la cadena pesada	4	4	4	4	4	4	5	4	5
Amplificación en el gene	15	12	62	12	18	5	0	?	0

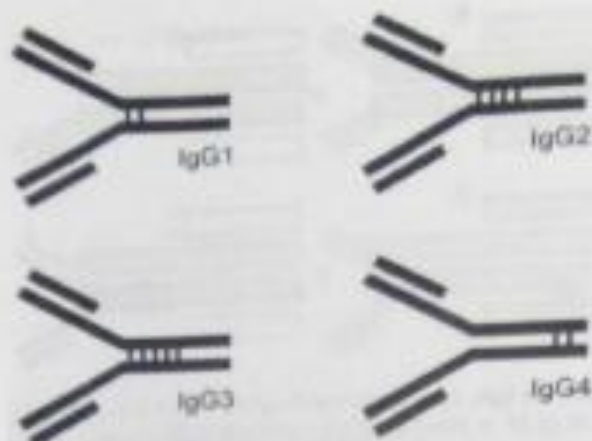


Figura 10-15. Subclases de IgG. Se caracterizan por el número y ubicación de los puentes disulfuro del quaternio.

encuentran en todos los individuos de una misma especie. Toda Ig, como proteína que es, es capaz de inducir una respuesta inmune cuando es introducida en un animal de una especie diferente. La inoculación de IgG humana al conejo, cualquiera que sea el Ag hacia el cual está dirigida, induce la producción de Ac contra la cadena pesada tipo gamma, y facilita detectar en el laboratorio toda IgG de origen humano. Estos determinantes antigénicos, propios de cada cadena pesada, reciben el nombre de determinantes isotípicos. Las cadenas pesadas de los isotipos indican la clase de Ig (A, M, G, E o D). Los isotipos no tienen que ver con la capacidad de la Ig para reaccionar con el Ag. Así, Acs de distintas clases pueden reaccionar con un mismo Ag (Fig. 10-16).

Alotipos. Son los determinantes antigénicos de una clase o subclase de Ig que se encuentran

en algunos individuos de una especie dada y cuyo patrón de segregación sigue leyes de tipo mendeliano. Cada cadena pesada, propia de una clase de Ig, suele tener pequeñas variaciones a lo largo de la secuencia de aminoácidos en las regiones constantes. Dichas variaciones son determinantes antigénicos, contra los cuales es posible producir Acs, razón por la cual han sido muy utilizadas para estudios demográficos. La sustitución, por ejemplo, de la leucina o de la valina en determinada posición de la cadena gamma, constituye un determinante antigénico que se denomina alotipo y que puede ser reconocido por antisuero apropiado. Se han reconocido 30 alotipos diferentes en la cadena gamma, denominados marcadores Gm. La presencia de estos marcadores está controlada genéticamente (Fig. 10-16).

Idiotipos. Están constituidos por las diferencias que distinguen un segmento variable de otro y, por lo tanto, representan la especificidad de cada Ac. Un individuo tendrá tantas Igs de distintos idiotipos cuantos Acs distintos pueda fabricar (Fig. 10-16).

Cambio de clase de inmunoglobulina

Para los Acs timo-independientes los LsB generan la producción de IgM sin la ayuda de LsT. Para los timodependientes sólo se generan Acs si el LB es estimulado por LsT-h. La primera clase de Acs que se producen, como ya se mencionó, corresponde a la IgM cuya especificidad por el Ag no es muy grande. Paulatinamente se produce un cambio en la cadena pesada de la Ig generando Acs de las clases IgG, IgA, IgE o IgD, con un incremento progresivo de la especificidad del Ac. La actividad efectora de un Ac es diferente según la clase dada la diferente

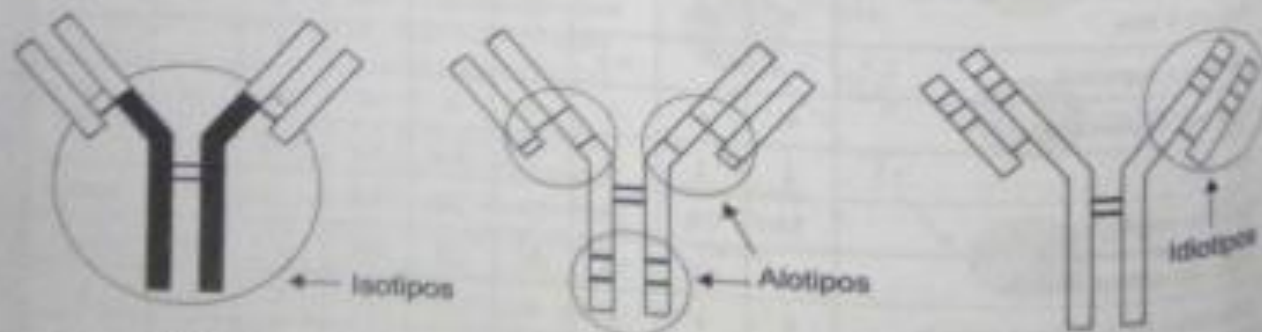


Figura 10-16. Isotipos, alotipos e idiotipos. En zonas o líneas negras se ubican las diferencias de secuencias de aminoácidos que definen estas tres variables.

capacidad de activar el complemento, de unirse a receptores, de su capacidad de difusión y de su resistencia a la proteólisis. El cambio de isotipo está controlado en parte por las características del Ag y en parte por la acción de diferentes citoquinas.

CONTROL GENÉTICO DE LA PRODUCCIÓN DE INMUNOGLOBULINAS

Origen de la diversidad de los Acs. El número de Acs con distinta especificidad puede ser del orden de 10^5 a 10^6 , lo cual es una de las más extraordinarias características de la respuesta inmune específica. Inicialmente se consideró que el Ag enseñaba al organismo a producir una molécula complementaria, sirviendo él como molde sobre el cual se formaba el Ac. Hoy se sabe que la diversidad de las regiones variables se origina por la recombinación somática de más de 765 genes y que la diversidad se incrementa por medio de mutaciones y recombinaciones ocurridas por el desarrollo evolutivo del sistema inmune.

Los segmentos variables y constantes de cada cadena de Ig son producidos por genes distintos, que están separados en la línea germinal y que deben combinarse en algún momento dentro del proceso de síntesis para formar una sola cadena polipeptídica. La aproximación de los genes que deben controlar la síntesis de las cadenas variables con los que van a generar la parte constante se logra por un proceso de exclusión-inserción: el gen V es extraído del cromosoma y reinsertado cerca al gen C.

Recordemos que la molécula de anticuerpo está compuesta de dos cadenas livianas y dos pesadas similares. Un linfocito sintetiza la inmunoglobulina por transcripción de RNA que lleva el código para la cadena liviana y otro gen transcribe el RNA que lleva el código para la cadena pesada. Es importante tener en cuenta que los genes que generan las distintas cadenas no están en los mismos cromosomas; en el humano los genes para las cadenas pesadas están en el cromosoma 14; los que codifican para la cadena liviana lambda en el 22 y para la liviana kappa en el cromosoma 2.

La unión de cadenas livianas con diferentes cadenas pesadas genera un alto grado de

diversidad por cuanto pueden existir anticuerpos con cadena pesada M, G, D, A, E, que al tener el mismo isotipo, reaccionan con el mismo antígeno, pero que al tener las cadenas pesadas de clase diferente ejercerán una función fisiológica distinta por cuanto parte de la actividad o funcionalidad del anticuerpo está dada en parte por los segmentos constantes.

La variabilidad de los segmentos hipervariables es muy grande y está controlada por la interacción de diversos genes V que interactúan con los J o de unión. La región V completa comprende dos o tres líneas germinales, V y J para la cadena liviana y V, J y D (diversidad) para la cadena pesada. El número de genes presentes para las cadenas L es de unos 70 genes V y 9 J. En la generación de la fracción V de la cadena pesada intervienen 65 V, 27 D y 6 J, lo cual da una capacidad de variabilidad de grandes proporciones. (Tabla 10-2).

Receptores para Igs. Varias de las funciones de los Acs se cumplen por medio de interacción con células que presentan en su membrana receptores para diferentes clases y subclases de Igs. Los M ϕ y PMN poseen el CD64, receptor que fija con gran avidéz la IgG1 e IgG3 que si están unidas a un Ag o microorganismo facilitan el que sea fagocitado. El CD16 está en la membrana de las NKs y permite la llamada citotoxicidad mediada por Acs. Los M ϕ y B α tienen el Rec Fc γ R1 que captura la IgG1. Cuando ésta se une a un alérgeno, desencadena la degranulación de esta célula. (Tabla 10-3).

Tabla 10-2. Genes para BCR.

GENES DE	Cadena L		Cadena H
	κ	λ	H
Variabilidad (V)	40	30	65
Diversidad (D)	0	0	27
Unión (J)	5	4	6
Cromosoma que los genera	2	22	14

Tabela 15-2. Tipos de receptores Fc presentes en los leucocitos para IgG.

RECEPTOR	CD	DISTRIBUCIÓN	AFINIDAD
FcγRI	64	Mo, Ma, PMN	IgG ₁ , IgG ₂ , IgG ₃ , IgG ₄
FcγRIIA	32	PMN, Mo, Ma, plaquetas	IgG ₁ , IgG ₂ , IgG ₄
FcγRIIB	32	Mo, Ma, LB, mastocitos	IgG ₁ , IgG ₂ , IgG ₄ , IgG ₃
FcγRIIIA	16	Ma, NK, mastocitos, Eos	IgG ₁ , IgG ₃
FcγRII	23	LB, Eos, células de Langerhans	IgG ₁
FcγRI	89	Granulocitos Mo, Ma	IgA ₁ , IgA ₂

Anticuerpos monoclonales

Las Ig presentes en el suero constituyen un conjunto de Igs con idiotipos diferentes, cada uno de los cuales proviene de un clono de células plasmáticas. En el mieloma múltiple aparece un tipo de Ig homogéneo, cuyas moléculas son idénticas entre sí desde el punto de vista del isotipo, alotipo e idéntico y que se originan en un solo clono de células plasmáticas. Constituye, por lo tanto, una Ig monoclonal. Por la técnica de hibridación, y gracias a la cual se fusionan linfocitos específicos con células de mieloma, se logra obtener un "hibridoma" que es un clono secretor de una Ig monoclonal. Su desarrollo ha tenido importantes aplicaciones en la investigación. Ver Capítulo 44.

REACCIONES Ag-Ac IN VIVO

Especificidad de la reacción antígeno-anticuerpo. Por lo general los Acs tienen una gran especificidad de reacción con determinado Ag. Variaciones mínimas en la constitución del Ag van a inducir producción de Ac diferentes. La sola sustitución de un aminoácido puede ser suficiente para que una molécula antigénica no sea reconocida por un Ac.

Afinidad entre Ac y Ag. Es la fuerza de atracción entre sus estructuras complementarias

que llevan a unirlos entre sí, sin uniones covalentes.

Aspectos físico-químicos de la unión Ag-Ac

Fuerzas de Van der Waals. Se producen por el movimiento de átomos en la superficie de las moléculas generado por un cambio eléctrico. Pueden ser fuerzas débiles, que no actúan sino cuando la proximidad del Ag y el Ac es muy grande, pero si se da esta condición, la unión es muy estable.

Fuerzas electrostáticas. Se originan en la fuerza eléctrica de atracción que tienen moléculas de carga iónica opuesta, como por ejemplo grupos NH_3^+ del lado del Ac, reaccionan fácilmente con el grupo COO^- del Ag.

Uniones a través del hidrógeno. Se trata de uniones de pobre carga eléctrica entre átomos electropositivos de hidrógenos y átomos electro-negativos de oxígeno o nitrógeno. La estabilidad de este tipo de unión depende de la presencia de moléculas de agua, y está sujeta a los cambios de temperatura.

Interacciones hidrofóbicas. Algunos ácidos aminados, especialmente los aromáticos como la valina y la leucina, tienden a alejar las moléculas de agua, adhiriéndose entre sí y aumentando en esta forma la capacidad de re-

ción de la molécula. El acercamiento de estos aminoácidos entre sí, confiere a la molécula una capacidad energética de atracción mayor y constituye el 50% de la fuerza de unión entre las moléculas de Ag-Ac.

Efecto del pH. La disminución del pH o el incremento en la molaridad de la suspensión en la cual se encuentra el Ag y el Ac, puede disminuir la capacidad de reacción de estas moléculas.

Efecto de la temperatura. La velocidad de reacción entre Ag-Ac puede estar modificada por la temperatura.

Valencia. Una molécula de IgG, IgA o IgE tiene 2 valencias para reaccionar con el Ag. No obstante, si la cantidad de moléculas de Ag es pequeña, estos Acs pueden obrar como monovalentes. La IgM tiene la posibilidad de reaccionar hasta con 10 moléculas de Ag. Naturalmente la saturación de estas valencias está también en relación directa con la cantidad de moléculas presentes de Ag.

Reacciones Ag-Ac e inmunopatología

Veremos en el capítulo de Enfermedades auto-inmunes, cómo los mecanismos anormales de producción o funcionamiento de los Acs son responsables de patología. Un Ac puede bloquear un receptor normal e impedir su función o actuar como iniciador de una señalización.

Los complejos inmunes que entran en circulación y que no logran ser captados por el sistema reticuloendotelial, se precipitan en plexos coroides, riñón, sinovial o serosas, activando a este nivel el complemento y dando origen a un proceso inflamatorio local.

Reacciones Ag-Ac como procedimiento de inmunodiagnóstico

En el capítulo de evaluación del sistema inmune (Cap. 15), veremos cómo el estudio de estas reacciones constituyen un instrumento importante de diagnóstico.

FUNCIONES DE LAS INMUNOGLOBULINAS

Al estudiar la estructura de las Igs hemos mencionado parte de sus funciones. Conviene

resumirlas brevemente. Las moléculas de Ac tienen dos funciones específicas: la primera, localizar y fijarse a un Ag para inmovilizarlo o aglutinarlo; la segunda, desencadenar una serie de reacciones biológicas encaminadas a destruirlo. Las dos primeras las cumple la porción Fab, las otras la porción Fc (Fig. 10-17). Las principales funciones son:

1. Inmovilización. Pueden unir flagelos y en esta forma inmovilizar gérmenes y disminuir su capacidad invasora. Función que ejerce en la sangre la IgM y en los tejidos la IgG (Fig 10-16).
2. Neutralización. Los Acs reaccionan con toxinas o partículas virales, impidiendo así su fijación a membranas celulares.
3. Activación de la fagocitosis. La unión de Acs de la clase IgG a los receptores especiales que para ella tienen los fagocitos, refuerzan la actividad de estos al actuar como opsoninas.
4. Activación del complemento con lo cual se incrementan la inflamación y la fagocitosis.
5. Protección del feto y del niño lactante. El traspaso de la IgG de la madre al feto, que es un proceso activo, se cumple gracias a los receptores para esta Ig. Algo similar

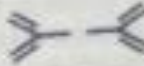
Clase	Estructura básica	Funciones principales
IgG		Protege el compartimiento tisular
IgM		Protege el torrente circulatorio
IgA		Protege las mucosas
IgE		Protege contra parásitos intestinales
IgD		Evita tolerancia

Figura 10-17. Funciones de las diferentes clases de Igs.

parece ocurrir con la IgG y la IgA a nivel de la glándula mamaria.

6. Incremento de la quimiotaxis por activación del complemento con la liberación de las partículas C5a.
7. Facilitar que ciertas células puedan ejercer funciones citotóxicas. Células NKs participan por sus receptores Fcγ RIII en la destrucción de células que estén recubiertas por Acs.

CATABOLISMO Y CONTROL DE LA PRODUCCIÓN DE INMUNOGLOBULINAS

La concentración plasmática de las Igs representa, evidentemente, el balance entre su producción y su destrucción. La IgA se cataboliza entre cuatro y cinco veces más rápido que la IgG; por lo tanto, su concentración plasmática es mucho menor. La IgD desaparece del plasma muy rápidamente después de ser producida, y es una de las proteínas de más corta vida dentro del plasma.

La producción de Acs se frena una vez que se ha logrado el nivel necesario. Este control de la producción de Acs está regulado por medio de receptores Fc presentes en algunas poblaciones de linfocitos, que cuando se saturan con moléculas de Igs dan señales que frenan a las células plasmáticas.

La IgA se pierde en gran parte a través de las secreciones de las mucosas, mientras que las otras Igs son catabolizadas por células del sistema reticuloendotelial.

INMUNOGLOBULINA M

Onco-genéticamente es la primera Ig en aparecer. Todo estímulo antigénico estimula la producción inicial de esta Ig, y sólo más tarde, en las respuestas inmunes secundarias, se producirá la IgG o las otras clases. El recién nacido tiene mínimas cantidades de IgM en su plasma, menos de 25 mg/100 ml., pero inicia su producción después del nacimiento, cuando empieza a tener los estímulos antigénicos del medio ambiente. La concentración en el adulto es de 60 a 250 mg/100 ml. Dado su alto peso molecular de 900,000 kDa, se encuen-

tra casi exclusivamente en la sangre. La forma monomérica está presente en la membrana celular de los LaB, y actúa como receptor de Acs. La plasmática está representada por un pentámero, con capacidad de reaccionar con diez terminaciones antigénicas (Fig. 10-18). La polimerización de las cinco moléculas de IgM se hace por la acción de una cadena adicional denominada J. La **cadena J** tiene 16,422 kDa aminoácidos y una cadena lateral de 120 dratos. La IgM es un Ac potente contra Acs con tan repetidamente a lo largo de la molécula como los polisacáridos de los grupos positivos, y otros Acs de neumococo, flagelos bacterianos y algunos virus. Es la clase de la vía clásica. Una sola molécula, al unirse a Ag, es capaz de iniciar esta activación. Su poder de opsonización es muy superior al de la IgG. Su vida media es de cinco a seis días. No pasa la placenta; únicamente se encuentran trazas de ella en la leche o en las secreciones externas. Los Acs que se producen en forma natural contra los grupos sanguíneos son generalmente IgM.

En la IgM el gozne está situado no entre el CH1 y el CH2 sino entre el CH2 y el CH3; en consecuencia esa porción es más larga. El complemento se une a la IgM en el segmento CH4. Los LaB no tienen receptores Fc por la IgM.

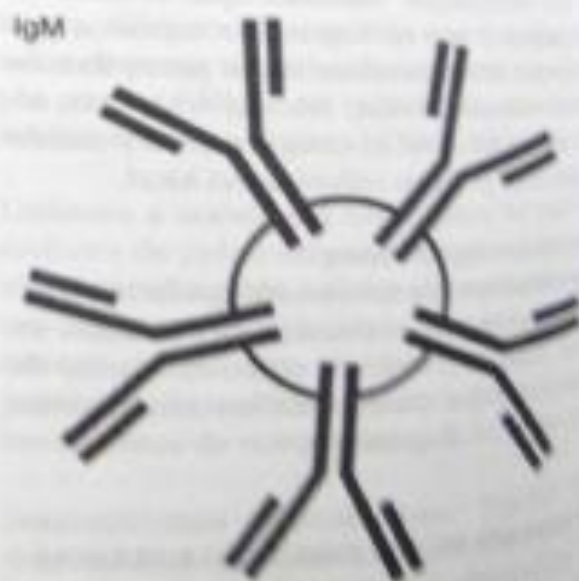


Figura 10-18. Estructura de la IgM. Posee 10 lugares de unión a moléculas de Ag.

Anticuerpos naturales. Frecuentemente se encuentran en la sangre Acs de la clase M, IgM, producidos por $LaB\ CD5+$ que parecen ser generados espontáneamente, sin estímulo antigénico directo y que pueden reaccionar con Aps propios o de microorganismos.

INMUNOGLOBULINA G

La IgG constituye el 85% del total de las Igs presentes en el plasma. La mayor parte de los Acs producidos contra bacterias grampositivas, virus, así como las antitoxinas, corresponden a esta clase de Ig. Su concentración plasmática varía de 700 a 1.800 mg/100 ml. Tiene una vida media que varía de quince a treinta y cinco días. No es sintetizada por el feto, y la que se encuentra en el plasma del cordón umbilical, aproximadamente 1.000 mg/100 ml, corresponde a la Ig que pasa activamente la placenta durante el embarazo. Las células traquéales tienen receptores para el segmento CH2 de esta Ig.

A través de su segmento CH2, la IgG fija el complemento e inicia la activación en cascada por la vía clásica. El CH3 es citofílico para las B_{H} y al unirse a ellos hace que estos sean 1.000 veces más activos. Su peso molecular de 150.000 kDa la hace fácilmente difusible a los tejidos y es, por lo tanto, una de las más importantes en la defensa contra las infecciones.

Existen cuatro subclases que, como ya se mencionó, tienen actividad diferente para fijar el complemento; la IgG3 es la más potente biológicamente en este aspecto, seguida por la IgG1 y la IgG2, en tanto que la IgG4 carece de la capacidad de activar el complemento por la vía clásica. Se requiere la presencia de dos moléculas próximas para activar el complemento. Los monocitos y $M\phi$ s tienen receptores para las IgG 1, 2 y 3.

En la IgG las posiciones 274 a 281 de las cadenas pesadas son las importantes para iniciar la activación del complemento. La parte de la cadena está compuesta por $Lys-Phe-Asn-Ile-Tyr-Val-Asp-Gly$. La lisina parece ser el aminoácido más esencial para esta función de la IgG1. En la IgG2 esta lisina está remplazada por una Gln. En la IgG4 la His de la posición 268 está remplazada por la Gln y en consecuencia no existen las características mo-

leculares que permiten la fijación del C3b. La estructura general de la IgG es similar a la presentada en el esquema de la Fig. 10-10.

La producción de determinadas subclases de Igs está determinada en parte por características de algunos Aps. La Brucella induce la síntesis de la IgG2 y la IgG3, pero no la de la IgG1. Los eritrocitos heterólogos inducen la producción de IgG1 e IgG2, pero no de IgG3. La IgG4 se incrementa en dermatitis atópica, psoriasis y pénfigo foliáceo.

La deficiencia congénita de la producción de la IgG2 se acompaña de una mayor susceptibilidad a infecciones con gérmenes encapsulados, que tienen polisacáridos en su pared, como el neumococo. Por el contrario, la deficiencia de IgG3, no se acompaña de ningún trastorno clínico reconocido hasta el momento.

La IgG1 constituye el 70% del total de la IgG del adulto, en tanto que la IgG2, IgG3 e IgG4 el 20, 6 y 4% aproximadamente. Las IgG1 e IgG3 se sintetizan tempranamente en la infancia, las otras más tardíamente.

Se conocen en el ser humano unos 50 alo-tipos diferentes, responsables de la producción de Acs, cuando se usa la IgG en inyecciones repetidas con fines terapéuticos. Afortunadamente este fenómeno de producción de Acs contra los diferentes alo-tipos no es frecuente y, por lo general, poco intenso. Por este motivo la terapia de sustitución en las hipogammaglobulinemias suele ser muy eficaz.

INMUNOGLOBULINA A

Representa el 10% del total de las globulinas humanas, o sea de 150 a 200 mg por 100 cc. La producción diaria de IgA, 66 mg/kg, día, supera a la de los demás Igs juntas. La molécula tiene un peso de 160.000 ó 320.000 kDa, según se presente como monómero o dímero. El dímero está compuesto por dos moléculas de IgA unidas por la pieza secretora o pieza de transporte, que consiste en una cadena glucoproteica con un peso molecular de 60.000. La cadena J refuerza la unión de las moléculas de la Ig y facilita la unión a ella de la pieza secretora. La pieza secretora se produce a nivel de los epitelios de la mucosa y se une a la IgA en el momento en que ésta es excretada, después

de haber sido sintetizada por células plasmáticas de la submucosa (Fig. 10-19).

Hay dos subclases de IgA, la A1 y la A2. La IgA1 posee un grupo de 13 aminoácidos que puede ser atacado por proteasas bacterianas con lo cual éstas incrementan su patogenicidad como ocurre con *S. pneumoniae*, *S. aureus*, *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis*. La subclase A2 es resistente a estas bacterias. La IgA1 fija el complemento por la vía alterna. No tiene funciones opsonicas y no es citofílica para los Mφ, pero sí para los granulocitos. El 90% de la IgA que circula en la sangre es monomérica.

Funciones de la IgA. La IgA a nivel de las mucosas actúa por dos mecanismos diferentes, uno de ellos de "exclusión inmune" por el cual evita que algunos microorganismos entren al organismo y el otro por "eliminación inmunológica" gracias al cual destruye los patógenos que han logrado vencer barreras naturales. Al reaccionar con los Aps de las bacterias, sirve como primera línea de defensa en las mucosas, impidiendo que ellas se adhieran al epitelio. Interactuando con los flagelos aglutina microorganismo e interfiere con sus movimientos. Antagoniza toxinas y enzimas bacterianas. Neutraliza virus en el citoplasma de las células

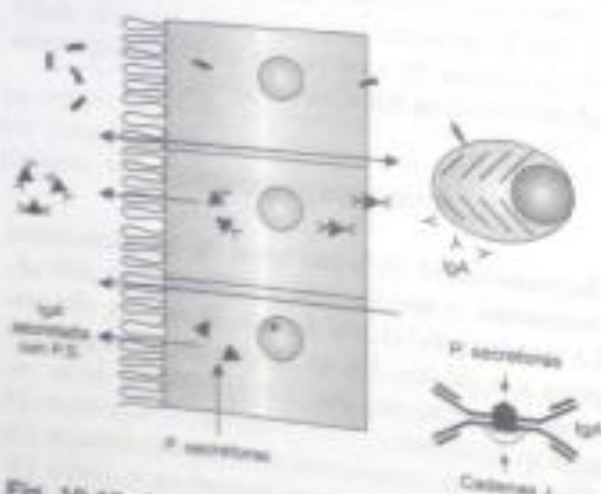


Fig. 10-19. Características de la IgA. Se sintetiza por células plasmáticas de la submucosa. Las células epiteliales producen la pieza secretora, SP, que une dos moléculas de IgA y facilita su paso al exterior de la mucosa. La célula plasmática produce además la cadena J que refuerza la unión de los dímeros y los protege de la digestión por enzimas proteolíticas.

epiteliales, impidiendo su replicación. Función que proporciona algún grado de protección contra la infección por el virus HIV (VIH). La subclase que tienen función de opsonina facilita la fagocitosis por PMN de algunos microorganismos como la *E. coli*. Si los microorganismos contra los cuales se han producido Acs IgA, son capturados por las células Kupffer del hígado, se impide el desarrollo de una septicemia. Algunas moléculas de alimentos que podrían generar reacciones alérgicas o autoinmunes.

La IgA al unirse a los Aps en la luz intestinal impide que éstos se puedan unir a la IgG evitando así la activación del complemento por lo cual a ese nivel actúa como amebocidaria.

En el niño la IgA llega por la leche y lo protege de infecciones intestinales por *E. coli*, *Salmonella* y *Shigella*.

Por otra parte tiene la característica de unirse a moléculas de alimentos e impedir que en la primera etapa de la vida del niño, cuando la permeabilidad del intestino es muy grande, estas moléculas puedan entrar al torrente circulatorio. En esta forma se impide el que se pongan en contacto con el sistema específico de inmunidad, caso en el cual se desencadenaría la producción de IgE, incrementando la susceptibilidad del niño a desarrollar enfermedades de tipo alérgico. En personas con deficiencia de IgA se encuentran en la sangre concentraciones altas de Acs contra la leche, posiblemente porque algunos de los Aps de ésta ingresan al organismo en ausencia de la IgA en la mucosa del intestino. Los Aps que han de producir la IgA, una vez programados en el intestino ante el contacto con el Ag, entran al torrente circulatorio y pueden ir a colonizar bronquios, glándulas salivares, glándulas lacrimales, tracto genitourinario y glándulas mamarias en donde inician la producción de Acs contra la molécula que la "programó".

La bilis es una vía especial de excreción de moléculas de IgA. Es 10 veces más rica en IgA que el suero, en tanto que la IgG se encuentra en esta misma sustancia en una concentración que equivale a 1/30 de la concentración plasmática.

Existe una concentración alta de IgA en las secreciones orgánicas como saliva, sudor, lóstror, lágrimas, secreción nasal y bronquial y secreciones del tracto digestivo.

Deficiencia de IgA

Resulta paradójico que no obstante sus múltiples e importantes funciones, la carencia de IgA, que es la más frecuente de las inmunodeficiencias congénitas, ocurre en 1 de cada 500 personas, no se acompaña de manifestaciones clínicas importantes. Solo en unos cuantos son más frecuentes las manifestaciones alérgicas y autoinmunes. Su papel principal parece ser el de inactivar virus más que bacterias. Para obrar como un buen Ac contra las bacterias requeriría tener la capacidad de activar el complemento, función que no posee. Indirectamente ayuda a la defensa contra las bacterias porque facilita la opsonización, gracias a la cual, estos microorganismos unidos al Ac tipo IgA, pueden ser más fácilmente fagocitados cuando traspasan la barrera de la mucosa, ya que los Mφs se encuentran abundantemente en las submucosas, pero no en la luz del tracto digestivo.

INMUNOGLOBULINA D

Es la última Ig en aparecer en la escala zoológica, lo que implica una jerarquía importante. Fue descubierta en la superficie de los LsB en 1972.

La concentración plasmática de esta Ig es baja, de sólo 3 mg/100 mL. Tiene un peso molecular de 185.000 kDa. Ocasionalmente se han detectado Acs IgD contra insulina, leche y penicilina, pero su importancia biológica no está clara.

Su presencia en la membrana celular de los LsB parece tener importantes implicaciones biológicas. Los LsB inmaduros no poseen IgD en su membrana y este hecho parece asociarse con el desarrollo de tolerancia a los Acs propios del organismo durante la vida intrauterina. El LsB maduro, que posee en su membrana IgD, no se deja tolerarizar. El que sólo posee IgM en su membrana, produce Ac tipo IgM, en tanto que aquellos Ls que además de la IgM poseen IgD, son capaces de transformarse en células plasmáticas productoras de las demás clases de Acs.

INMUNOGLOBULINA E

Se encuentra en el plasma en muy bajas concentraciones, menos de 0,01 mg/100 mL que no refleja, sin embargo, la magnitud en la cual

es sintetizada. Tan pronto es secretada por las células plasmáticas, la IgE entra en circulación y se fija rápidamente en los receptores especiales, por lo cual se denomina Ac citofílico.

La producción primordial de la IgE tiene lugar a nivel local en la submucosa de los tractos respiratorio y digestivo, así como en los ganglios de drenaje de este sistema. Su producción se puede inducir por los Acs de helmintos nemátodos y tremátodos pero no por los de protozoos. En personas genéticamente predispuestas a desarrollar alergias, algunos Acs presentes en polenes, llamados alérgenos, caspas de animales y alimentos pueden desencadenar su producción. Los Acs bacterianos y virales, muy potentes en la inducción de la producción de IgG, IgM e IgA, no inducen la producción de la IgE.

Funciones. Algunas poblaciones de neutrófilos, Mφs y LaT así como los eosinófilos, tienen receptores para la fracción Fc de la IgE, gracias a los cuales esta Ig puede cumplir gran parte de sus funciones. En las condiciones de defensa normal, la IgE sirve de puente de unión entre el parásito y los eosinófilos. Por otra parte, su reacción con los LaT supresores ayuda a modular la respuesta inmune y evita que la producción de Ig sea excesiva. Su función en los procesos de inflamación es muy importante como inductora de la degranulación de los mastocitos. En condiciones normales parece cumplir la función de "portero" encargado de regular la circulación capilar a nivel de los sitios de inflamación, y permitir el mayor aflujo de plasma a la zona. En esta forma se asegura la llegada de mayor cantidad de moléculas de Ig, factores de complemento y células a este sitio.

Cumple, además, una función importante en el control de las enfermedades parasitarias, bien sea por el mecanismo de incrementar una inflamación local que facilita la expulsión mecánica del parásito, o por tener un efecto opsonizante sobre el parásito, que permite que sobre él se fijen y degranulen los eosinófilos. Estos liberan la proteína básica mayor que se encuentra en el interior de los gránulos de mayor tamaño, la cual ejerce una función lítica sobre la cutícula de varios parásitos. El daño de la cutícula permite a los fagocitos penetrar al interior del citoplasma y destruir el parásito.

IgE y alergia. Esta Ig es pieza fundamental de los fenómenos alérgicos. Cuando un alérgeno se une a la porción Fab o brazos cortos de la IgE fijados a las membranas de los mastocitos, se produce un mensaje al interior de la célula que estimula la liberación de la histamina por el proceso de degranulación, ya descrito al estudiar la inflamación y que ampliaremos en el capítulo de Alergia (Fig 10-20).

La concentración plasmática de la IgE aumenta notoriamente en algunos estados alérgicos como el asma extrínseca, y en algunas enfermedades congénitas como el síndrome de Wiskott-Aldrich.

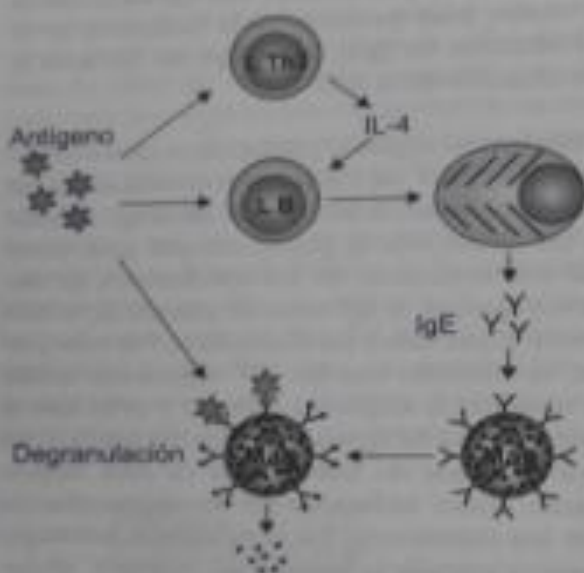


Fig. 10-20. Características de la IgE. Su producción se inicia por el estímulo de un alérgeno sobre un linfocito B y la coestimulación de un LTh y moléculas de IL-4. Tan pronto es secretada por las células plasmáticas se une a los mastocitos, es por lo tanto citofílica, y queda en espera de un nuevo ingreso del alérgeno que indujo su producción y cuando este se le une, induce la degranulación del mastocito.

Actividad de las subclases

Las distintas subclases especialmente las de la IgG, tienen diferentes funciones, como estimular la citotoxicidad, fagocitosis y producción de citoquinas. Si actúan sobre un receptor Fcγ, inician señales de activación. Si lo hacen sobre un receptor FcγRIIB generan mensajes de inhibición.

LECTURAS RECOMENDADAS

- * Hauser AE, et al. Long-Lived Plasma Cells in Immunity and Inflammation. *ANN N.Y. Acad. Sci.* 987: 266-269, 2003.
- ** Klein U, et al. Gene Expression Dynamics during Germinal Center Transit in B Cells. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 987: 166-172, 2003.
- *** Cyster JG. Chemokines, Sphingosine-1-phosphate and Cell Migration in Secondary Lymphoid Organs. *Ann. Rev. Immunol.* 23: 127-159, 2005.
- ** Patiño PJ y López JCH. Receptores Fc de la inmunoglobulina γ: Aspectos básicos e implicaciones clínicas. *Rev. Aler. Colombiana Alergia, Asma e Inmunol.* 12: 5-18, 2003.
- ** Kiehl EJ and Butcher EC. Plasma-Cell Homing. *Nat. Rev. Immunol.* 3: 822-829, 2003.
- ** Calame KL, Link KL and Tunayaplin Ch. Regulatory Mechanisms that Determine the Development and Function of Plasma Cells. *Ann. Rev. Immunol.* 21: 205-230, 2003.
- ** Niro H, Clark EA. Regulation of B cell fate by antigen receptors in secondary lymphoid organs. *Ann. Rev. Immunol.* 23: 127-159, 2005.
- ** McHeyzer-Williams IJ and McHeyzer-Williams MG. Antigen-specific Memory B Cell Development. *Ann. Rev. Immunol.* 23: 407-513, 2000.
- *** Shapiro-Shelef M and Calame K. Regulation of Plasma-Cell Development. *Nat. Rev. Immunol.* 5: 230-242, 2005.
- ** Martins G, et al. Transcriptional repressor Blim-1 regulates transformation of B cell into plasma cell and regulates T cells function. *Nature Immunology* 10: 1038, 2006.
- * Kunkel EJ and Butcher EC. Plasma-Cell Homing. *Nat. Rev. Immunol.* 3: 822-829, 2003.
- * Calame KL, Lin KL and Tunayaplin Ch. Regulatory Mechanisms that Determine the Development and Function of Plasma Cell. *Ann. Rev. Immunol.* 21: 205-230, 2003.
- ** Nimmerjahn F and Ravetch JV. Divergent Immunoglobulin G Subclasses Activity Through Selective Fc Receptor Binding. *Science.* 310: 1511-1513, 2005.