

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO	
RAD: 13-259753- -6	FECHA: 2015-03-30 11:22:20
DEP: 2020 DIRECCION DE NUEVAS CREACIONES	EVE: 378 FASE NACIONAL INCLUIDO CAPITULO I
TRA: 11 PCT-PATENTE DE INVENCION CAPITULOS I Y II	FOLIOS: 7
ACT: 430 REQUERSOLICITA	

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

2020
Bogotá, D.C.,

Abogado(a)/Señor(a)
ALICIA LLORED A RICAURTE

Asunto: Radicación: 13-259753- -6
Trámite: 11
Evento: 378
Actuación: 430
Oficio: 3423
Folios: 7

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
	Radicado N°13-259753-00005-0000	08/Enero/2015
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
Respuesta Solicitante	Radicado N°13-259753-00005-0000	08/Enero/2015

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 19 del capítulo reivindicatorio (Radicado N°. 13-259753-00005-0000).

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 técnicas que permitan su respectiva ejecución. Los complejos indicados en la presente memoria explotan una respuesta inmunológica antivírica altamente efectiva de origen natural para eliminar/desintegrar las células diana, por ejemplo células tumorales o células infectadas por virus. La eliminación celular se consigue mediante la utilización de las propias células T circulantes del individuo, las cuales son muy potentes y no requieren ninguna coestimulación para su activación. (Pág. 42)

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, lo cual se originó naturalmente. Un complejo "aislado" es uno que ha sido separado de un componente de su ambiente natural. (Pág. 36)

5. Excepción a la Patentabilidad (Art 20 D 486 literales (a) y (c))

El objeto de las reivindicaciones 1– 18 no es patentable de acuerdo con el Art 20 literal a), puesto que dichas reivindicaciones hacen referencia a un método el cual se puede llevar a cabo en células eucariotas de mamífero específicamente células embrionarias humanas, con el fin de la eliminación de células diana por parte de células T citotóxicas específicamente de virus utilizando complejos que comprende MHC clase I (reivindicaciones 1,3- 4). Al respecto el Tribunal Andino de justicia en la interpretación prejudicial 21-IP-2000 ha señalado que: "*razones de carácter eminentemente ético*

impiden que el cuerpo humano y aún sus componentes mínimos, puedan ser objeto de apropiación exclusiva con fines lucrativos e industriales.

(...) Dentro de la prohibición de patentar materias que componen el cuerpo humano y su identidad genética, se encontrarían comprendidos, por ejemplo, el genoma o germoplasma del ser humano, los procedimientos de mutación o modificación genética, así como otras técnicas que pueden resultar contrarias a la dignidad de la persona o al orden público, tales como clonación de personas, manipulación de embriones humanos o creación en laboratorio de seres humanos individualizados” (resaltado fuera del texto).

Asimismo, se evidencia que la célula reclamada en la reivindicación 19 no es patentable de acuerdo con el Art citado, por cuanto la célula huésped puede ser una célula eucariota, no puede ser objeto de patente de conformidad con lo dispuesto en el artículo 20 lit. c) de la referida Decisión 486, en razón a que allí se establece que no serán patentables: *“las plantas, los animales y los procedimientos esencialmente biológicos para la producción de plantas o animales que no sean procedimientos no biológicos o microbiológicos”*.

Por otra parte se realizó búsqueda en el estado de la técnica determinada 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
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 – 14 ^a 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
D5	Brock- Octava edición – Prentice Hall- Pág.813-862	Conceptos de Inmunología – Capítulo 20	2000

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.

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

CC=WO&NR=2005099361A3&KC=A3&FT=D&ND=&date=20051215&DB=&&locale=en_EP

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

CC=US&NR=2004091488A1&KC=A1&FT=D&ND=&date=20040513&DB=&&locale=en_EP

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)

El documento D5⁵ divulga el proceso natural de la respuesta inmune, por medio de la presentación antigénica del Complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) clase I; donde las proteínas de clase I se forman y se ensamblan en el retículo endoplasmático junto con otras proteínas, incluyendo los antígenos víricos y tumorales. El correceptor CD8 de la célula T citotóxica interacciona con el MHC clase I, dando lugar a un complejo más estable. Por lo tanto las células T citotóxicas específicamente de virus utilizando complejos de MHC clase I son empleadas con el fin de la eliminación de células diana y las distintas estructuras que conforman la respuesta inmune. (Pág. 813-862)

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

5 <http://www.dasumo.com/libros/biologia-de-los-microorganismos-brock-8-edicion-pdf-5.html>

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.

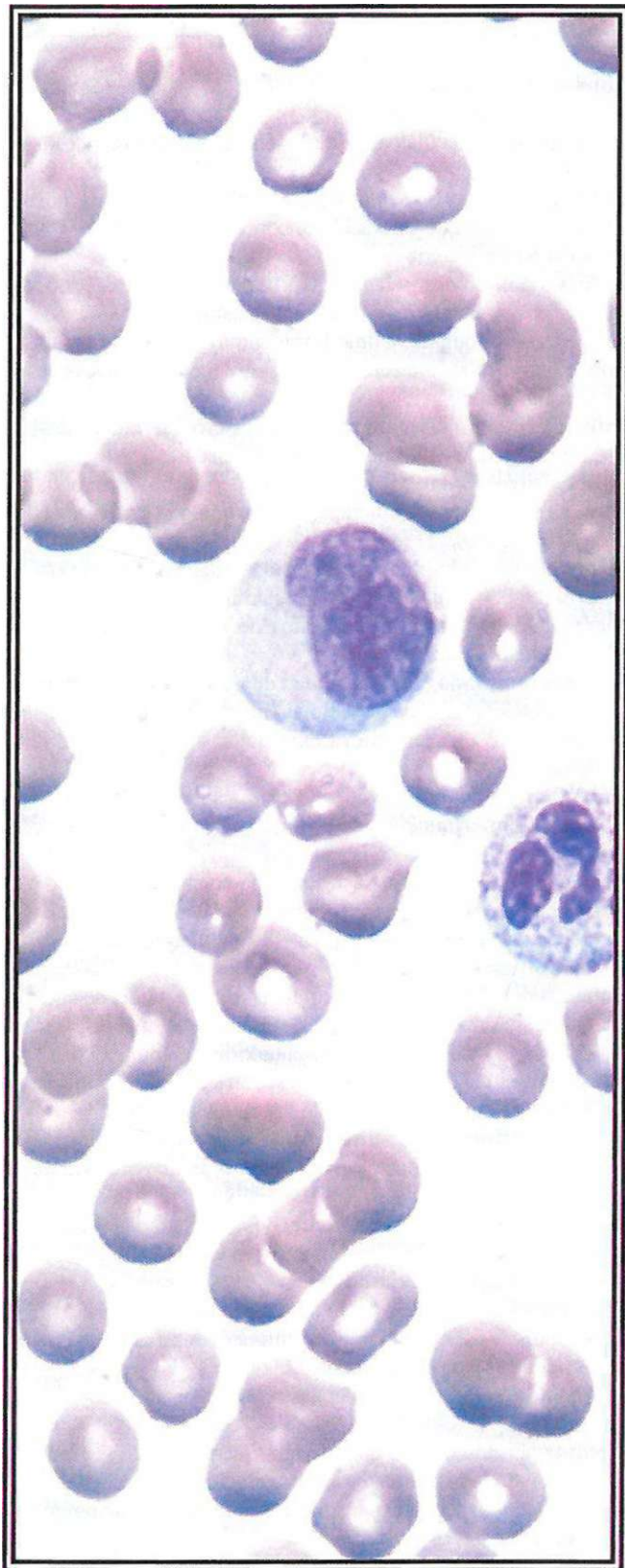
Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No. 10 de 2001.



JOSÉ LUIS SALAZAR LÓPEZ
Director de Nuevas Creaciones (c)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista, de fecha 2015-04-07

Elaboró: Juanita Andrea Carvajal
Revisó: Consuelo Leguizamon Leguizamon



CAPITULO

20

Conceptos de inmunología

- 20.1 Células y órganos del sistema inmune
- 20.2 Inmunógenos y antígenos
- 20.3 Inmunidad inespecífica: fagocitos y fagocitosis
- 20.4 Inmunidad específica: linfocitos
- 20.5 Inmunoglobulinas (anticuerpos)
- 20.6 Receptores de las células T
- 20.7 Proteínas de histocompatibilidad
- 20.8 Citocinas
- 20.9 Inmunidad mediada por células
- 20.10 Selección clonal y tolerancia inmune
- 20.11 Mecanismo de formación de las inmunoglobulinas
- 20.12 Genética y evolución de las inmunoglobulinas y de los receptores de las células T
- 20.13 El sistema del complemento
- 20.14 Anticuerpos policlonales y monoclonales
- 20.15 Reacciones antígeno-anticuerpo
- 20.16 Enfermedades inmunológicas
- 20.17 Inmunidad frente a las enfermedades infecciosas

El sistema inmune está compuesto por distintos tipos de células que interaccionan entre sí para desencadenar una respuesta inmune. Esta microfotografía de la sangre humana muestra glóbulos rojos y dos células fagocíticas (con núcleos teñidos de violeta). Los fagocitos contactan con las células extrañas y los desechos celulares, los ingieren y destruyen, y también son capaces de iniciar la respuesta inmunitaria.

MINIGLOSARIO para el Capítulo 20

- Anticuerpo:** una proteína soluble producida por las células B que interacciona con el antígeno; se denomina también inmunoglobulina.
- Anticuerpo monoclonal:** un anticuerpo que es producto de un solo clon de células B.
- Antígeno:** una molécula capaz de inducir una respuesta inmunitaria específica y de ser reconocida por los componentes específicos del sistema inmunitario.
- Antisuero policlonal:** un suero en el que existen anticuerpos procedentes de muchos clones de células B distintos, como sucede en una respuesta inmune normal.
- Autoanticuerpo:** un anticuerpo dirigido contra antígenos propios.
- Célula asesina natural (NK, del inglés Natural Killer):** un leucocito especializado que reconoce y destruye células extrañas o células infectadas del hospedador sin que exista un reconocimiento específico del antígeno.
- Célula B:** un linfocito que produce inmunoglobulinas.
- Célula presentadora de antígeno (APC):** cualquier célula cuya función esencial es presentar antígeno a la célula T.
- Célula T:** linfocito responsable de las respuestas celulares específicas de antígeno.
- Citocina:** modulador soluble de la respuesta inmune producido por leucocitos.
- Complejo principal de histocompatibilidad (MHC):** un complejo génico que codifica diversas proteínas de superficie importantes en la presentación del antígeno a las células T.
- Complemento:** conjunto de proteínas que reaccionan secuencialmente con complejos antígeno-anticuerpo para amplificar o potenciar su actividad.
- Determinante antigénico:** la parte del antígeno que reacciona específicamente con un anticuerpo o un receptor de la célula T; se llama también epítopo.
- Dominio:** una región de una proteína que generalmente posee un plegamiento definido y una función determinada.
- Especificidad:** característica de la respuesta inmune para interaccionar selectivamente con antígenos individuales.
- Hapteno:** una sustancia de bajo peso molecular que se combina con anticuerpos específicos, pero que es incapaz de desencadenar por sí misma una respuesta inmune.
- Hibridoma:** un producto de la fusión artificial de un linfocito B y una célula de mieloma, que muestra propiedades de ambas células; se utiliza para la producción de anticuerpos monoclonales.
- Hipersensibilidad:** una respuesta inmune que ocasiona un daño en el hospedador, y que a veces se denomina alergia.
- Inmunidad:** capacidad de un organismo para combatir, de forma específica, una infección.
- Inmunidad humoral:** inmunidad producida por la estimulación de linfocitos B y que implica la interacción directa del antígeno con los anticuerpos.
- Inmunidad mediada por células (CMI):** inmunidad debida a células T específicas de antígeno.
- Inmunodeficiente:** individuo que posee un sistema inmune disfuncional o afuncional.
- Inmunógeno:** molécula capaz de desencadenar una respuesta inmune.
- Inmunoglobulina (Ig):** una proteína soluble producida por las células B que interacciona con el antígeno; se denomina también anticuerpo.
- Leucocito polimorfonuclear (PMN):** una clase de leucocitos con propiedades fagocíticas, citoplasma granuloso y núcleo multilobulado. Como por ejemplo los neutrófilos.
- Leucocitos:** células nucleadas de la sangre (células blancas de la sangre).
- Linfá:** un líquido parecido a la sangre pero carente de eritrocitos y que fluye por un sistema circulatorio distinto (el sistema linfático) que consta de ganglios linfáticos cuya función es filtrar material particulado (*verbi gratia* bacterias).
- Linfocitos:** una subpoblación de células nucleadas de la sangre que participan en una respuesta inmune.
- Macrófago:** una clase de leucocitos de tamaño grande con capacidad fagocítica.
- Memoria inmunológica:** capacidad de producir rápidamente grandes cantidades de células inmunes o anticuerpos específicos tras una nueva exposición a un mismo antígeno.
- Neutrófilo:** un fagocito circulante perteneciente a los leucocitos polimorfonucleares (PMN).
- Plasma:** la parte líquida de la sangre que queda al eliminar las células e inactivar los factores de la coagulación.
- Proteínas del MHC clase I:** proteínas presentadoras de antígeno que se expresan en todas las células nucleadas de los vertebrados.
- Proteínas del MHC clase II:** proteínas presentadoras de antígeno, expresadas fundamentalmente en macrófagos, células B y otras células presentadoras de antígeno.
- Receptor de la célula T:** receptor específico de antígeno que se expresa en la superficie de las células T.
- Respuesta primaria de anticuerpos:** anticuerpos fabricados tras la primera exposición al antígeno; la mayoría son de la clase Ig M.
- Respuesta secundaria de anticuerpos:** anticuerpos generados tras la segunda o posterior exposición al antígeno; la mayoría son de la clase Ig G.
- Selección clonal:** proceso por el cual cada célula B o T, cuando es estimulada por un antígeno, entra en mitosis y produce copias de sí misma.
- Serología:** el estudio *in vitro* de las reacciones antígeno-anticuerpo.
- Suero:** la porción líquida de la sangre que resulta de la eliminación de los factores de la coagulación y las células.
- Tolerancia:** incapacidad para montar una respuesta inmune contra antígenos específicos.
- Vacunación:** inoculación en un hospedador de patógenos inactivos o atenuados o sus productos, capaces de estimular una inmunidad protectora.

En el capítulo anterior expusimos algunos de los mecanismos generales que utiliza el organismo para evitar la colonización e infección por microorganismos. En este capítulo examinaremos los eventos que se producen cuando los factores de defensa físicos y químicos del hospedador son insuficientes para destruir los microorganismos invasores.

Consideraremos en primer lugar las células y los mecanismos responsables de la **inmunidad**, que es la capacidad del organismo para combatir de forma específica la infección. A continuación, examinaremos la *inmunidad inespecífica*, que es la capacidad general de determinadas células para resistir a la mayoría de los virus, bacterias y hongos patógenos. La inmunidad inespecífica es la primera línea de defensa una vez que los patógenos rompen las barreras anatómicas que se han comentado en el Capítulo 19. Las reacciones inespecíficas actúan como inductores de la *respuesta inmune específica*, un mecanismo extraordinariamente sofisticado que existe en los vertebrados para desarrollar inmunidad frente a los patógenos. Una amplia variedad de moléculas que son extrañas al hospedador vertebrado desencadenan una respuesta inmune específica. Estas moléculas extrañas, llamadas en conjunto **inmunógenos**, son generalmente componentes macromoleculares de los patógenos, como es el caso de sus proteínas de superficie. Las moléculas extrañas se denominan **antígenos** cuando son específicamente reconocidas por el sistema inmune.

Los antígenos son reconocidos por células específicas de antígeno, los *linfocitos T* o *células T*, en un proceso denominado *presentación antígenica*. Las células T pueden responder directamente frente al antígeno (*inmunidad mediada por células*) o estimular a un segundo grupo de células específicas de antígeno, los *linfocitos B* o *células B*, que entonces sintetizan unas proteínas llamadas *inmunoglobulinas* o *anticuerpos*. Los anticuerpos, que habitualmente se hallan en el suero o en las secreciones corporales como proteínas solubles, reaccionan con el antígeno y ayudan a destruirlo o neutralizarlo. La inmunidad mediada por anticuerpos se conoce como *inmunidad humoral*.

La respuesta inmune específica posee tres características esenciales: especificidad, memoria y tolerancia. En primer lugar, la **especificidad** de la interacción antígeno-anticuerpo o antígeno-célula T es diferente a los otros mecanismos de resistencia del hospedador que expusimos anteriormente. Las respuestas anatómicas e inespecíficas del hospedador se desarrollan de forma inmediata frente a prácticamente cualquier microorganismo invasor, incluso contra aquellos que nunca interaccionaron previamente con el hospedador. En la respuesta inmune específica, sin embargo, cada nuevo microorganismo debe interaccionar con el sistema inmune *antes* de que se produzca una respuesta específica. En la mayor parte de los casos, tras varios días después del primer contacto con el patógeno, no puede detectarse una respuesta inmune específica. Sin embargo, cuando se produce la respuesta inmune, ésta va dirigida contra un microorganismo concreto.

En segundo lugar, una vez que el sistema inmune produce un tipo específico de anticuerpo o de célula T activada, la estimulación por una nueva exposición al mismo microorganismo origina la rápida producción de grandes cantidades del mismo anticuerpo, o cantidades importantes de células T, que reaccionan con ese antígeno. Después, los efectores inmunes específicos, ya sean las células T o los anticuerpos, interaccionan con

el invasor e intentan destruirlo. Esta capacidad amplificada de responder al estímulo tras la nueva exposición a un patógeno se conoce como **memoria inmunológica**. La memoria permite que el hospedador resista a la reinfección por patógenos específicos con los que ya había tenido contacto. Se ha aprovechado este principio en el procedimiento de la vacunación, una práctica que consiste en la inoculación en el hospedador de patógenos inactivos o atenuados, y cuya finalidad es estimular artificialmente la inmunidad y activar una protección específica frente a cada patógeno.

Por último, la **tolerancia**, o incapacidad para orquestrar una respuesta inmune a determinados antígenos, se debe a que las macromoléculas del hospedador son también antígenos potenciales. La tolerancia, al igual que la respuesta inmune, requiere la exposición al antígeno. Sin embargo, en este caso, los sistemas inmunes aprenden a *no* reconocer a los antígenos propios. Las moléculas del hospedador serían dañadas si fueran reconocidas específicamente por anticuerpos y células T activadas. A través de la tolerancia, la respuesta inmune del hospedador discrimina entre las macromoléculas extrañas (no propias y potencialmente perjudiciales) y las macromoléculas del hospedador (propias e inocuas) e interacciona adecuadamente con ellas.

La Figura 20.1 proporciona una visión general de la inmunidad específica humoral y celular. En primer lugar, abordaremos el estudio de las células y moléculas del sistema inmune y las bases moleculares del reconocimiento antígeno. Después, explicaremos cómo interaccionan los componentes individuales del sistema inmune para producir la inmunidad específica. A continuación, daremos ejemplos en los que se altera este proceso y en los que se producen enfermedades inmunes en el hospedador a consecuencia de respuestas inmunes inadecuadas. Finalmente, examinaremos ejemplos específicos en los que se puede emplear la respuesta inmune para estimular la protección contra un patógeno y evitar una infección o enfermedad graves.

20.1

Células y órganos del sistema inmune

La inmunidad inespecífica y específica se produce como consecuencia de la actividad de las células que circulan en la sangre y en el sistema linfático. En esta sección expondremos algunas de las células claves implicadas en la inmunidad y exploraremos su origen y las funciones en el organismo. Muchas de las sustancias y las células que participan en la respuesta inmune se encuentran en la *sangre* y la *linfa*, dos de los principales fluidos corporales que interaccionan directa o indirectamente con cada uno de los principales sistemas orgánicos.

Sangre y linfa

La sangre está formada por componentes celulares y no celulares. Los cambios en las propiedades y constituyentes de la sangre reflejan los cambios corporales incluyendo los estados de enfermedad. La sangre contiene también muchas de las células y moléculas implicadas en la respuesta inmune. Puesto que la sangre puede obtenerse de los enfermos de una forma segura y

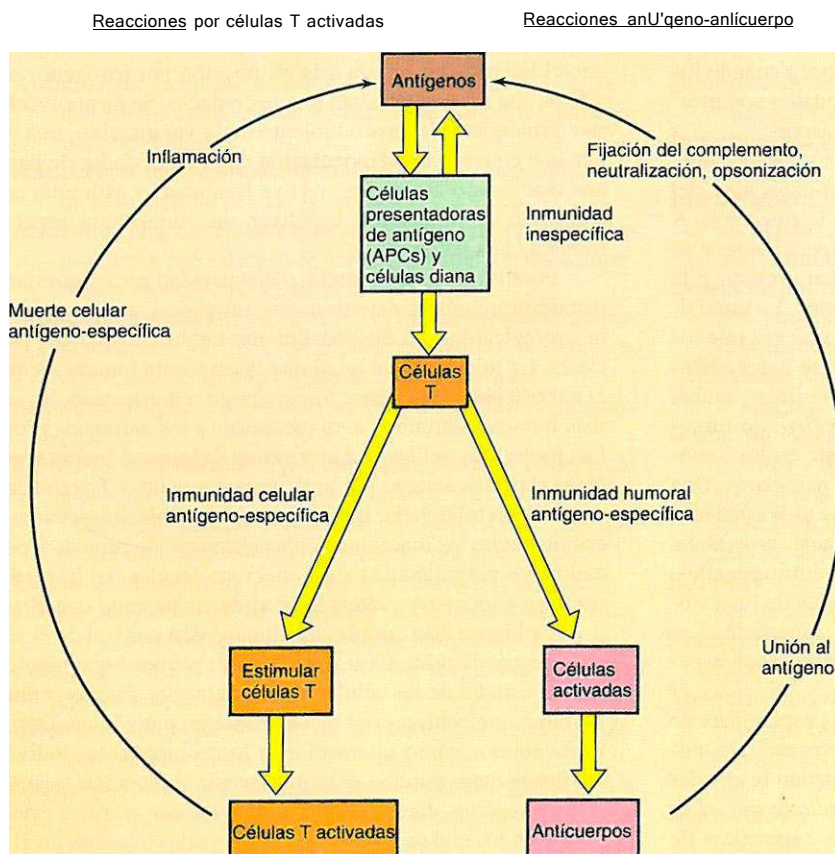


Figura 20.1 Panorámica de la respuesta inmune.

fácil, constituye una fuente valiosa de material para las técnicas clínicas analíticas, incluyendo la mayoría de las pruebas de la respuesta inmune. La mayor parte de las numerosas células de la sangre humana son *eritrocitos* (células rojas de la sangre), que son células sin núcleo cuya función es la de transportar el oxígeno desde los pulmones a los tejidos (Tabla 20.1). Las células blancas de la sangre o *leucocitos* engloban a varias células como los *monocitos* así como los denominados *linfocitos* que participan en la producción de anticuerpos y en la inmunidad celular. Los eritrocitos superan en número a los leucocitos por un factor aproximado de 1.000. Las plaquetas son los constituyentes pequeños que carecen de núcleo y juegan un importante

papel impidiendo la pérdida de sangre en los vasos sanguíneos dañados. Las plaquetas se agregan para formar un coágulo transitorio en un vaso lesionado hasta que se forma un coágulo permanente por la acción de varias sustancias coagulantes, algunas de las cuales son liberadas por las propias plaquetas. La **linfa** es un líquido similar a la sangre pero sin eritrocitos.

Todas las células y elementos de la sangre y la linfa tienen un origen común. Como se muestra en la Figura 20.2, la médula ósea alberga unas células madre que son los progenitores de todas las células maduras. Estas células madre se diferencian para originar células maduras en gran cantidad; este fenómeno está modulado por un grupo de proteínas celulares solubles denominadas **citocinas** (véase Sección 20.8).

Cuando se eliminan de la sangre las células y las plaquetas, el fluido restante se llama *plasma*. Un componente importante del plasma es el fibrinógeno, una proteína que sufre una serie compleja de reacciones durante la formación del coágulo de fibrina. Puede evitarse la coagulación mediante la adición de un anticoagulante como oxalato potásico, citrato potásico o heparina. El plasma es estable sólo cuando se añade uno de los anticoagulantes citados. Si no se añade un anticoagulante, la sangre entera o el plasma forman rápidamente un coágulo. El líquido restante se denomina *suero*. El suero está formado por proteínas y otros componentes no celulares del plasma salvo la fibrina. La elevada concentración de anticuerpos en el suero justifica su utilización profusa en las investigaciones inmunológicas (véase Sección 21.4).

Principales elementos de la sangre en el individuo sano

Tipo celular	Células por mililitro
Eritrocitos	$4.2-6.2 \times 10^9$
Leucocitos	$4.5-11 \times 10^6$
Linfocitos	$1.0-4.8 \times 10^6$
Monocitos	Hasta 8.0×10^5
Plaquetas	$1.5-4.0 \times 10^8$

Fuente: Henry, J. B. 1991. *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, 18.ª edición. W. B. Saunders, Philadelphia.

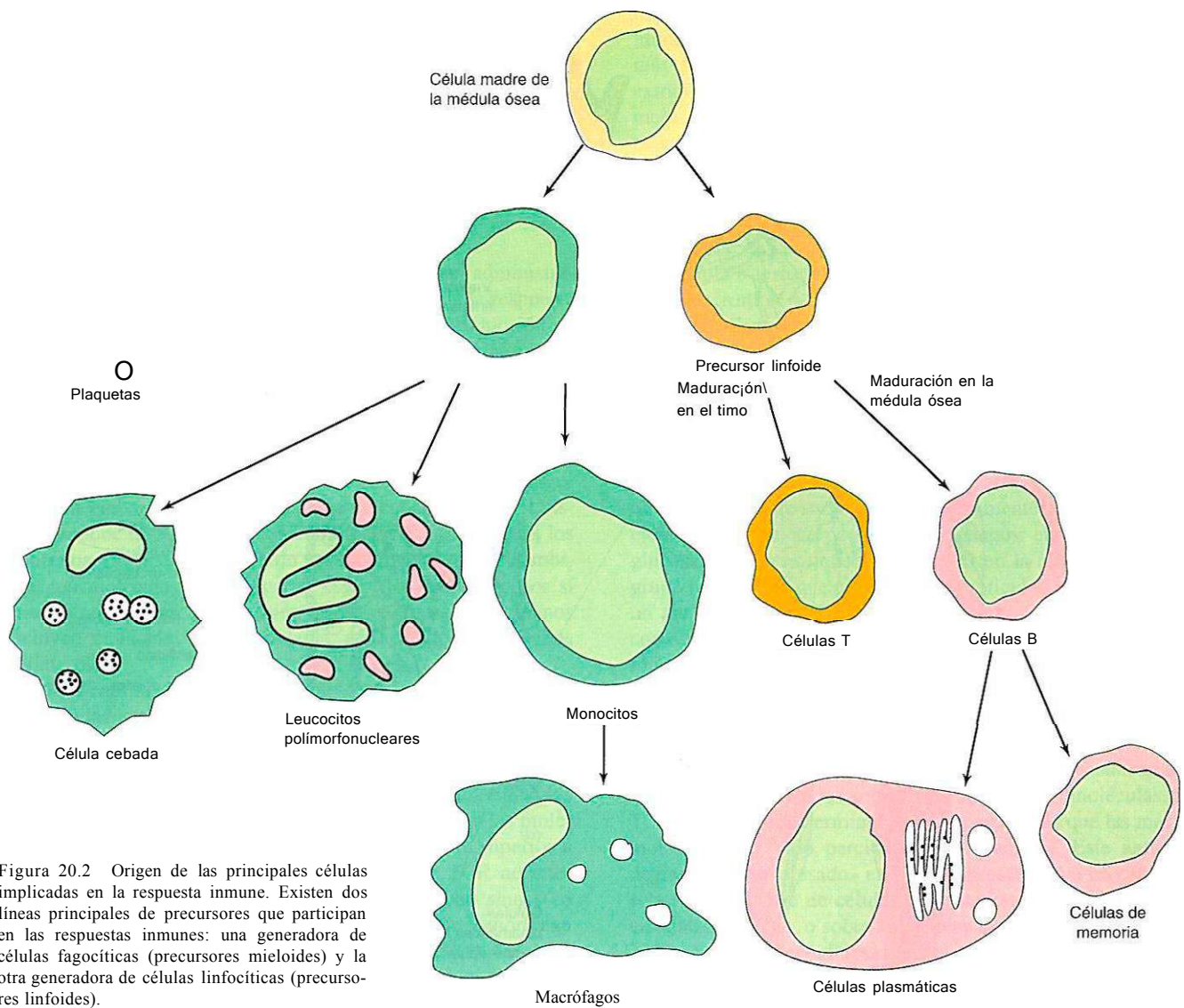


Figura 20.2 Origen de las principales células implicadas en la respuesta inmune. Existen dos líneas principales de precursores que participan en las respuestas inmunes: una generadora de células fagocíticas (precursores mieloides) y la otra generadora de células linfocíticas (precursores linfoides).

La sangre es bombeada por el corazón a través de una red de arterias y capilares hacia distintas partes del cuerpo y regresa por las venas (Figura 20.3). El sistema circulatorio transporta no sólo los nutrientes (incluyendo el oxígeno, O_2) sino también los componentes de la sangre involucrados en la resistencia del hospedador a la infección. La Figura 20.3 muestra los lechos capilares por donde los leucocitos pueden pasar a la sangre y de ésta hacia el *sistema linfático*, un sistema circulatorio distinto a través del cual circula la linfa.

La linfa drena desde los tejidos extravasculares hacia los capilares linfáticos y después hacia los **ganglios linfáticos** (Figura 20.3d) que se disponen en diferentes localizaciones a lo largo de todo el sistema linfático. Los ganglios linfáticos filtran los microorganismos y otros materiales particulados extraños. El bazo desempeña una función parecida en el sistema sanguíneo. Como resultado de esta actividad de filtración, los ganglios linfáticos pueden convertirse en focos infecciosos debido a que los organismos recolectados por los mecanismos de filtración pueden proliferar si no son destruidos. Los gan-

glios linfáticos son también los lugares donde se producen la mayor parte de las respuestas inmunes. La linfa, consecuentemente, regresa al sistema circulatorio vía conducto linfático torácico.

REVISIÓN DE CONCEPTOS

20.1

Todas las células implicadas en la inmunidad se originan a partir de una célula madre común. Los sistemas circulatorios sanguíneo y linfático engloban a los elementos celulares y no celulares que son importantes para las funciones fisiológicas, incluyendo las células y órganos del sistema inmune. En las respuestas inmunes participan distintos leucocitos.

%/ ¿Qué células predominan en la sangre?

%/ Describa la circulación de un leucocito desde la sangre a la linfa y viceversa.

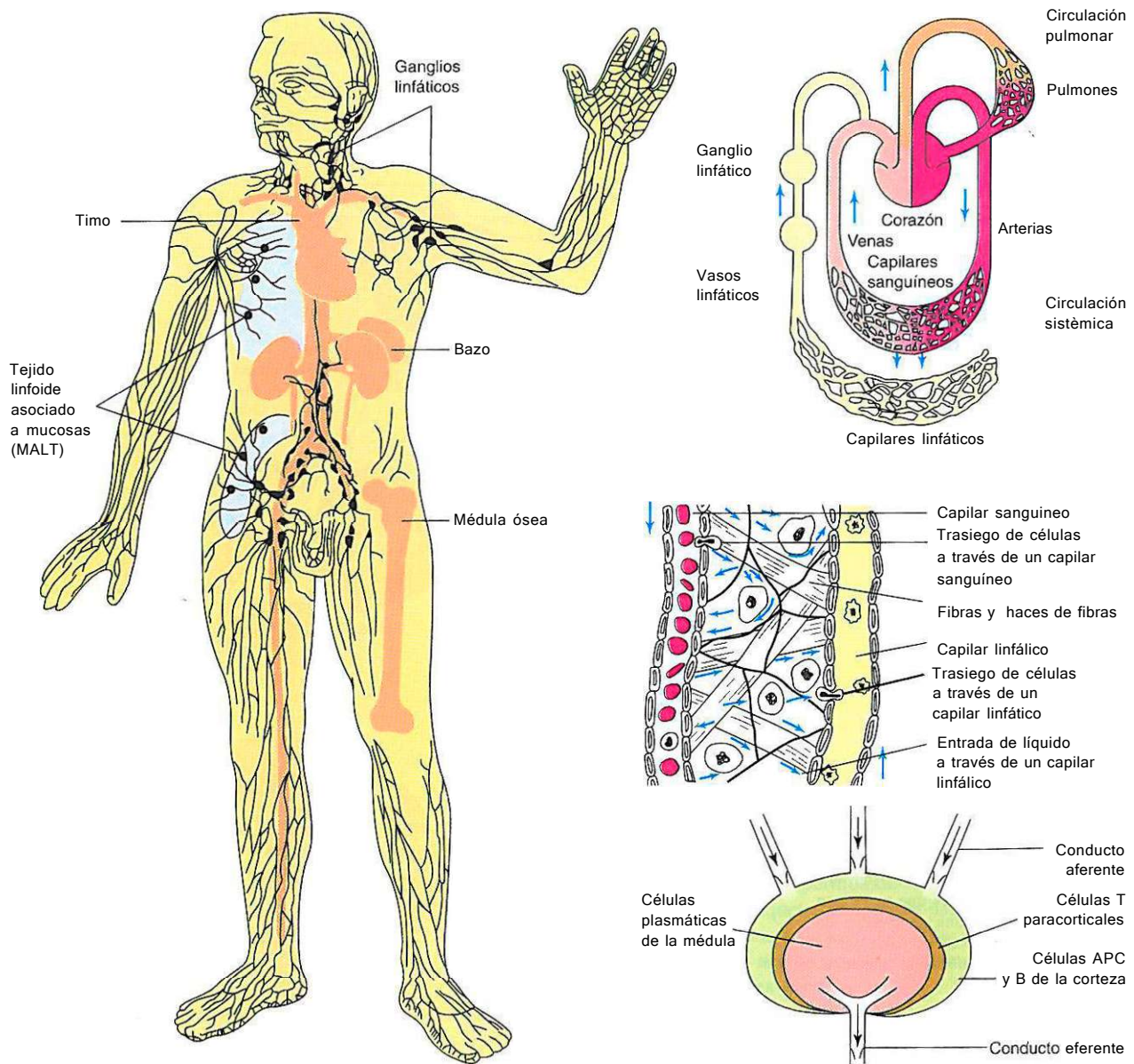


Figura 20.3 Los sistemas sanguíneo y linfático, (a) Panorámica de los sistemas linfáticos más importantes, mostrando las localizaciones de los órganos principales, (b) Esquema que relaciona los sistemas linfático y sanguíneo. La sangre fluye desde las venas al corazón, de ahí a los pulmones donde se oxigena, y después a través de las arterias llega a los tejidos, (c) Visión al microscopio de la conexión entre los sistemas sanguíneo y linfático. A pesar de que los capilares sanguíneos y linfáticos son vasos cerrados, las células y los fluidos pueden pasar de un vaso a otro por un proceso denominado extravasación, (d) Un ganglio linfático. El diagrama describe las principales áreas anatómicas y las células inmunes.

Los **leucocitos** son las células nucleadas blancas de la sangre y la linfa. Existen distintas clases de leucocitos (Tabla 20.1), pero todos participan en funciones inmunes específicas e inespecíficas (véanse Secciones 20.3 y 20.4). En los ganglios linfáticos abundan unos leucocitos especializados denominados **macrófagos** que se encargan de la filtración de la linfa, como se describirá más tarde (véase Sección 20.3). Otro

tipo celular especial que se encuentra en el sistema linfático son los **linfocitos** (véase Sección 20.4), que están involucrados en la respuesta inmune específica. Se concentran también en los ganglios linfáticos y el bazo e interaccionan con los macrófagos. Los linfocitos y algunas otras células linfoides pueden viajar a lo largo de todo el organismo y pasar libremente desde la sangre a los espacios intersticiales y a la linfa, y viceversa. Este

proceso se denomina *extravasación* (Figura 20.3c). Después examinaremos estos tipos de leucocitos y algunas de las maneras en que cada leucocito funcional contribuye a la respuesta inmune global.

20.2

Inmunógenos y antígenos

Los **inmunógenos** son sustancias que, cuando son administradas de la forma adecuada en un animal, inducen una respuesta inmune. La respuesta inmune puede suponer la producción de anticuerpos, la activación de células inmunológicamente competentes específicas (llamadas *células T activadas*) o ambas cosas. Los **antígenos** son sustancias que reaccionan con anticuerpos o con receptores específicos de antígeno denominados **receptores de la célula T (TCRs)** que se encuentran en las células T. La mayoría de los antígenos son también inmunógenos. Sin embargo, algunas sustancias reconocidas por el sistema inmune no son auténticos inmunógenos. Por ejemplo, los **haptenos** son sustancias de bajo peso molecular que se combinan con moléculas de anticuerpo específico, pero que por sí mismas no inducen la formación de anticuerpos. Los haptenos incluyen moléculas como azúcares, aminoácidos y pequeños polímeros.

Una enorme variedad de macromoléculas que son extrañas al hospedador pueden actuar como inmunógenos en condiciones apropiadas. Aquí se incluyen macromoléculas complejas, entre ellas prácticamente todas las proteínas y lipoproteínas, muchos polisacáridos, algunos ácidos nucleicos y determinados ácidos teicoicos. Un requerimiento importante es que las moléculas deben tener un peso molecular generalmente superior a 10.000 Dalton. Sin embargo, el anticuerpo o el TCR no interactúan con toda la macromolécula de antígeno sino sólo frente a diferentes partes de la molécula que se denominan **determinantes antigénicos** o **epítomos** (Figura 20.4). Desde el punto de vista químico, los determinantes antigénicos engloban a los azúcares, cadenas laterales de aminoácidos, ácidos y bases orgánicos, hidrocarburos y grupos aromáticos. De ahí que los

haptenos ya mencionados sean verdaderos ejemplos de determinantes antigénicos individuales. Los anticuerpos se forman más fácilmente frente a zonas protuberantes de la molécula extraña o contra residuos terminales de una cadena de polímero. En las proteínas, por ejemplo, la mayoría de los anticuerpos reaccionan con los determinantes accesibles de superficie. Basta una región de 4 ó 5 aminoácidos para definir un determinante antigénico, para linfocitos B, en una proteína. Además, la superficie de una proteína puede tener, y frecuentemente tiene, muchos determinantes antigénicos que se solapan. Una célula o virus es un mosaico de proteínas, polisacáridos y otras macromoléculas, cada una de las cuales es un antígeno potencial. Cada antígeno de la célula es también un mosaico de cadenas laterales y residuos que igualmente se comportan como determinantes antigénicos. De ahí que los componentes antigénicos de un microorganismo típico sean extraordinariamente complejos.

En términos generales, la especificidad de los anticuerpos es comparable a la de las enzimas que son igualmente capaces de distinguir entre sustancias estrechamente relacionadas. Por ejemplo, los anticuerpos pueden distinguir entre los azúcares glucosa y galactosa que difieren sólo en la orientación de un grupo hidroxilo. Sin embargo, la especificidad no es absoluta y un anticuerpo puede reaccionar, al menos hasta cierto punto, con otros epítomos. El antígeno inductor del anticuerpo se denomina **antígeno homólogo**, y los otros antígenos que reaccionan con el anticuerpo se llaman **antígenos heterólogos**. La interacción entre un anticuerpo y un antígeno heterólogo se denomina una *reacción cruzada*.

Mientras que generalmente los anticuerpos reconocen epítomos expresados en las superficies de las macromoléculas, los TCRs reconocen determinantes sólo después de que las macromoléculas han sido parcialmente degradadas. Este antígeno degradado o «procesado» es después presentado a las células T sobre la superficie de células presentadoras de antígeno especializadas (APCs), o sobre las células diana (véanse Secciones 20.7 y Figura 20.16). Puesto que el procesamiento y la presentación del antígeno habitualmente destruyen la estructura conformacional de un antígeno, generalmente los epítomos que reconoce la célula T constan de secuencias lineales de aminoácidos más que de epítomos conformacionales reconocidos por anticuerpos.

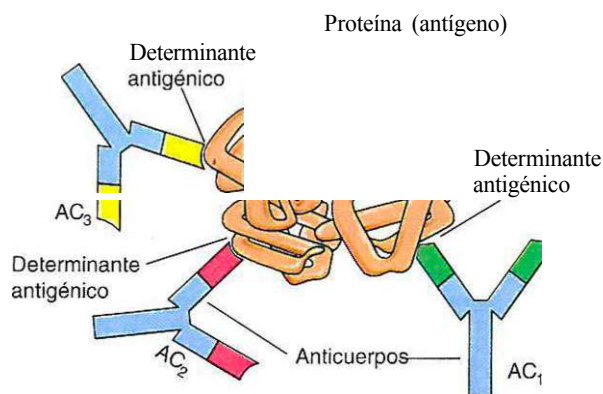


Figura 20.4 Antígenos y determinantes antigénicos. Los antígenos pueden contener distintos determinantes antigénicos, cada uno de los cuales es capaz de reaccionar con un anticuerpo específico.

REVISIÓN DE CONCEPTOS

20.2

Los inmunógenos son moléculas extrañas de un cierto tamaño, complejidad y accesibilidad que son reconocidos por el sistema inmune. Los epítomos son los lugares moleculares individuales donde las moléculas inmunes reaccionan con los antígenos. Los epítomos reconocidos por los anticuerpos son estructuras del antígeno nativo, mientras que los epítomos de la célula T son habitualmente lineales.

i/ Distinga entre inmunógenos, antígenos y haptenos.

%/ ¿Por qué son diferentes los epítomos del anticuerpo y del TCR?

20.3

Inmunidad inespecífica:
fagocitos y fagocitosis

Los patógenos pueden a veces romper los mecanismos de defensa físicos y químicos del hospedador descritos en el Capítulo 19 (véase Sección 19.12). Entonces el patógeno es capaz de llegar a los tejidos del hospedador y comenzar a colonizarlo, y producir la infección (véase Sección 19.7). Cuando esto ocurre, el sistema inmune debe entrar en acción.

La puesta en marcha de la inmunidad, cuyo efecto final va a ser específico o inespecífico, celular o humoral, es el contacto de una célula con el patógeno o con una proteína inmunogénica. La célula que se halla involucrada en este primer contacto es un *fagocito* (literalmente, una célula que come). La función principal del fagocito es ingerir y destruir patógenos y digerir sus restos. En este proceso se forman habitualmente inmunógenos que son presentados a células inmunes específicas de antígeno (véase Sección 20.7). En esta sección exploraremos algunas de las células fagocíticas importantes y expondremos sus funciones citolíticas y de procesamiento del antígeno.

Fagocitos

Algunos de los leucocitos presentes en la sangre son fagocitos, y la fagocitosis se produce también en diferentes tejidos y Huidos corporales. Generalmente los fagocitos son móviles y se mueven por un mecanismo denominado ameboide. La mayoría poseen inclusiones granulares denominadas *lisosomas*, que contienen sustancias bactericidas como peróxido de hidrógeno, lisozima, proteasas, fosfatasas, nucleasas y lipasas. Los fagocitos son atraídos hacia los microorganismos por esterases y proteínas del complemento, que funcionan como factores quimiotácticos (véase Sección 20.13). Los fagocitos funcionan mejor cuando pueden atrapar a un patógeno sobre una superficie como la pared de un vaso sanguíneo o un coágulo de fibrina. Después de adherirse a la célula, la membrana citoplasmática del fagocito se invagina e ingiere a la célula extraña. Se forma un fagosoma que finalmente se fusiona con los lisosomas formando una nueva vesícula llamada *fagolisosoma*. Las sustancias tóxicas y las enzimas que existen en el interior del fagolisosoma son capaces, por lo general, de destruir y digerir al microorganismo ingerido.

Un grupo de fagocitos, los **neutrófilos** o **leucocitos polimorfonucleares** (abreviadamente se denominan PMNs), son células muy móviles que contienen grandes cantidades de lisosomas (Figura 20.5a). Los PMNs son células de vida corta (2-3 días) que predominan en la corriente sanguínea y la médula ósea, pero que pueden aparecer en gran número en un foco infeccioso. Pueden moverse rápidamente (hasta 40 pm/min) y son atraídas mediante quimiotaxis por bacterias y componentes celulares, especialmente a través de mecanismos inmunológicos (véase Sección 20.13). En términos generales, la presencia de grandes cantidades de PMNs en la sangre o a nivel de un foco inflamatorio indica infección activa.

Los **macrófagos** y los **monocitos** constituyen los otros grupos principales de células fagocíticas. Los macrófagos son

células grandes capaces de ingerir y destruir a la mayoría de los patógenos y antígenos, así como de cooperar con los linfocitos en la generación de inmunidad específica. Los monocitos son células circulantes que se diferencian a macrófagos (Figuras 20.5c/ y 20.6). De ahí que el término *macrófago* se use habitualmente para describir a los fagocitos que están fijos a las superficies de los tejidos, y que el término *monocito* describa al precursor circulante. Los macrófagos son hasta 10 veces más grandes que los monocitos y abundan en el tejido linfóide y el bazo, mientras que los monocitos predominan en la sangre y la linfa. Los macrófagos son importantes *células presentadoras de antígeno* (APCs); pueden presentar a las células T (específicas de antígeno) antígenos extraños parcialmente degradados, lo que constituye el primer paso en la producción de anticuerpos (véase Sección 20.11). Esta característica especial de los macrófagos los convierte en un componente fundamental de la inmunidad específica de antígeno y exploraremos con mayor profundidad su función como APCs en la Sección 20.7.

Durante el proceso de fagocitosis, los fagocitos convierten la respiración aerobia en metabolismo anaerobio. La glicolisis

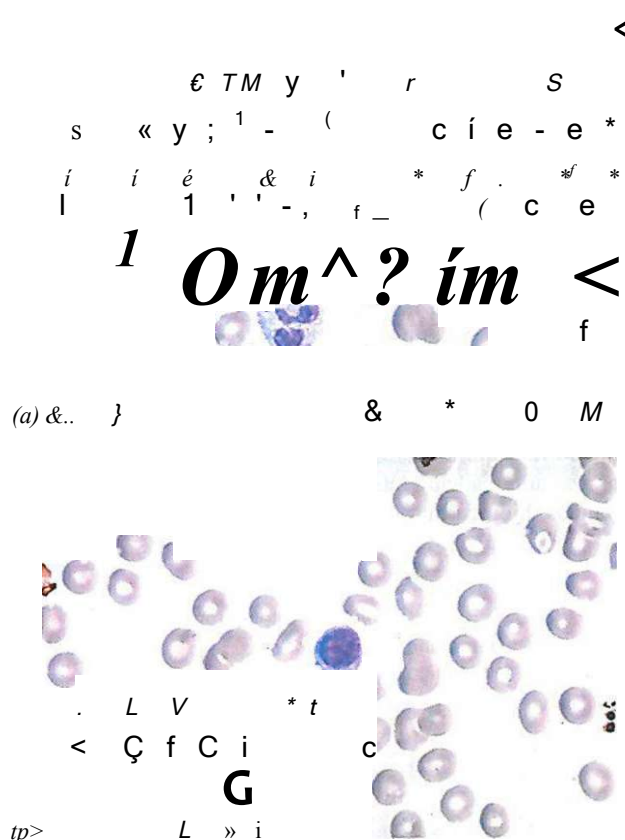


Figura 20.5 Tipos principales de células inmunes, (a) Células fagocíticas. La célula nucleada en la parte inferior izquierda de la preparación corresponde a un neutrófilo (PMN), caracterizado por un núcleo segmentado y un citoplasma granular. La célula nucleada de la derecha y ligeramente por encima del PMN es un monocito. Los fagocitos tienen un diámetro de 12-15 pm. El diámetro de los eritrocitos no nucleados es aproximadamente 6 µm. (b) La célula nucleada corresponde a un linfocito circulante. El citoplasma del linfocito generalmente es apenas visible y posee un diámetro de unos 10 pm, más pequeño que el de los fagocitos.

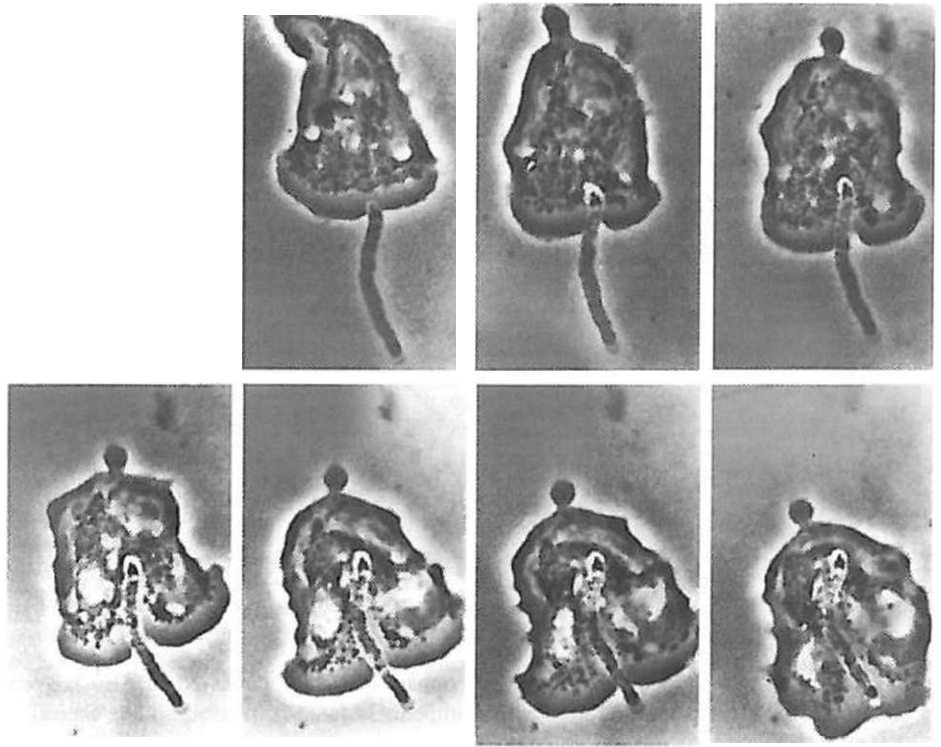


Figura 2(1.6) Fagocitosis: el microscopio de contraste de fases permite observar la ingestión y digestión de una cadena de *Bacillus megaterium* por un macrófago humano. La cadena bacteriana tiene una longitud aproximada de 18-20 μ m.

anaerobia da lugar a la formación de ácido láctico y consiguientemente a una caída del pH. La disminución del pH explica en parte la muerte microbiana ya que las enzimas hidrolíticas lisosomales son óptimas a pH ácido. En último lugar, el proceso inicial de la fagocitosis condiciona al fagocito de tal suerte que es más eficaz en su función fagocítica (una célula que acaba de fagocitar puede captar una bacteria con una eficacia de unas 10 veces mayor que una célula que no lo ha hecho).

Destrucción fagocítica dependiente de oxígeno

Como se expuso en la Sección 5.11, distintas reacciones bioquímicas pueden conducir a la generación de compuestos de oxígeno tóxicos como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), aniones superóxidos (O_2^-), radicales hidroxilo ($OH^\cdot$) y singlete de oxígeno ($^1O_2$). Las células fagocíticas emplean estas formas tóxicas del oxígeno para destruir las bacterias que han ingerido. El superóxido que se forma por la reducción del O_2 mediante la NADPH oxidasa, reacciona al pH ácido del fagocito para dar un singlete de oxígeno y peróxido de hidrógeno (Figura 20.7). La enzima fagocítica mieloperoxidasa forma ácido hipocloroso (HOCl) a partir de iones cloruro y FLO_2 , y el HOCl reacciona con una segunda molécula de H_2O_2 para dar otro singlete de oxígeno. La acción conjunta de estas dos enzimas fagocíticas dependientes de oxígeno, genera niveles de radicales de oxígeno libre suficientes para destruir a las bacterias ingeridas oxidando los elementos celulares claves. Estas reacciones ocurren en el interior de la propia célula fagocítica que permanece inalterada por los productos tóxicos del oxígeno. En la Figura 20.7 se resume la acción de las células fagocíticas en la destrucción mediada por el oxígeno.

Fracaso fagocítico

En algunos casos, los patógenos han desarrollado mecanismos para neutralizar los efectos de los productos tóxicos fagocíticos, para la destrucción del fagocito o para evitar la fagocitosis. Por ejemplo, el *Staphylococcus aureus* (véase Sección 23.2) produce unos compuestos pigmentados llamados *carotenoides*, que secuestran el singlete de oxígeno y evitan la destrucción (véase Sección 5.11). Los patógenos intracelulares como *Mycobacterium leprae* (bacilo de la lepra) y *Mycobacterium tuberculosis* (bacilo de la tuberculosis), crecen y persisten en el interior de las células fagocíticas (véase Sección 23.3). Aparentemente utilizan los glicolípidos fenólicos asociados a la pared celular (véase Sección 16.31) para eliminar los compuestos tóxicos de oxígeno. Estos glicolípidos son muy eficaces en la eliminación de radicales hidroxilo y aniones superóxido, que son las especies tóxicas del oxígeno más perjudiciales producidas por células fagocíticas.

Otros patógenos intracelulares producen proteínas denominadas *leucocidinas*, que destruyen a los fagocitos. En dichos casos, el patógeno no es destruido una vez ingerido sino que destruye al fagocito y queda libre. Los principales productores de leucocidinas son *Streptococcus pyogenes* y *Staphylococcus aureus*. Los fagocitos destruidos constituyen la mayoría del material del pus: por tanto, los organismos que producen leucocidinas habitualmente son *piógenos* (formadores de pus) y producen infecciones localizadas que dan lugar a furúnculos o abscesos (véanse Secciones 19.7 y 23.2).

Otra defensa microbiana importante frente a la fagocitosis es la cápsula bacteriana (véase Sección 3.11). Las bacterias encapsuladas a menudo son muy resistentes a la fagocitosis lo que se debe en apariencia a que la cápsula de algún modo

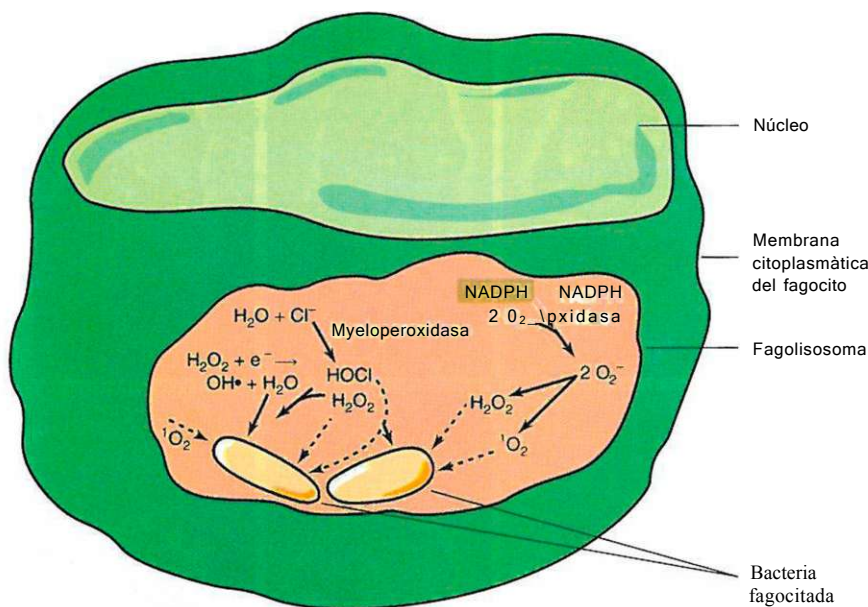


Figura 20.7 Acción de los enzimas fagocíticos en la generación de especies tóxicas de oxígeno. Éstas incluyen el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el radical hidroxilo ($OH^\bullet$), el ácido hipocloroso ($HOCl$), el anión superóxido ($O_2^{\bullet -}$) y el oxígeno molecular (O_2).

impide la adherencia del fagocito a la célula bacteriana. El caso más claro de la importancia de la cápsula para impedir la fagocitosis es el del *Streptococcus pneumoniae*. Si se inyectan en un ratón sólo unas pocas células de una cepa encapsulada de esta especie, se inicia una infección que causa la muerte en unos cuantos días (véase Figura 19.22). Sin embargo, grandes cantidades de la cepa muñante acapsular son totalmente avirulentas. Otros componentes de la superficie distintos a la cápsula también pueden inhibir la fagocitosis. Por ejemplo, el *Streptococcus pyogenes* produce una sustancia específica, la proteína M, a nivel de la superficie celular y las fimbrias (véase Sección 23.2). La proteína M parece alterar las propiedades de superficie de la célula bacteriana de tal modo que impide la fagocitosis.

Los anticuerpos contra las cápsulas u otras moléculas de superficie habitualmente revierten el efecto protector de estos mecanismos de defensa bacterianos y estimulan la fagocitosis, un proceso que se conoce como *opsonization* (véase Sec-

ción 20.13). En las próximas secciones exploraremos la respuesta inmune específica como la que se dirige contra una estructura individual, por ejemplo, los componentes de la cápsula.

20.4

Inmunidad específica: linfocitos

Como ya se expuso, una de las funciones de los fagocitos es presentar antígenos a otras células, conociéndose a los leucocitos específicos de antígeno como **linfocitos**. Los linfocitos son uno de los tipos celulares más abundantes (en el hombre adulto el promedio es de unos 10^{12} linfocitos) (Figura 20.5b). Tanto los linfocitos B como los linfocitos T participan en las respuestas inmunes específicas de antígeno y se derivan de células madre de la médula ósea. La diferenciación de las células madre en linfocitos maduros está determinada por el órgano de destino de los precursores linfoides (Figura 20.2). Las células B maduran en la médula ósea de los mamíferos, si bien se desarrollan en un órgano especial denominado la *bolsa de Fabricio* en las aves (de ahí la denominación «B»). Las células T maduran en el timo (de ahí la denominación «T»). Teniendo en cuenta su función en el desarrollo inicial y maduración de las células B y T, la médula ósea, la bolsa y el timo se denominan *órganos linfoides primarios*. Después de la maduración, las células B y T se diseminan a lo largo de todo el organismo a través de la sangre y la linfa (Figura 20.3). Las células T y B maduras terminan por colonizar los ganglios linfáticos, el bazo o el *tejido linfoide asociado a mucosas (MALT)* (Figura 20.3«), que en conjunto forman los *órganos linfoides secundarios*. El bazo y los ganglios linfáticos se disponen a lo largo de los sistemas sanguíneo y linfático actuando como filtros, merced a los macrófagos que atrapan a los antígenos que los atraviesan. El MALT interacciona con los antígenos que se encuentran sobre las superficies mucosas. Después, en estos órganos, las células B y T pueden producir una respuesta inmune.

REVISIÓN DE CONCEPTOS

20.3

Los fagocitos son las primeras células implicadas en la protección frente a los patógenos invasores, una vez que se han superado las barreras físicas y químicas. Son capaces de destruir a la mayoría, pero no a todos, los patógenos. En muchos casos, los fagocitos también procesan y presentan moléculas a leucocitos específicos de antígeno. Muchos patógenos incrementan su supervivencia mediante mecanismos que inhiben la fagocitosis y la muerte.

Describe por separado las funciones de los PMNs y los macrófagos.

¿Qué mecanismos dependientes de oxígeno utilizan los fagocitos para destruir a los patógenos?

Linfocitos B

Las células B son responsables de la interacción con el antígeno, la producción de anticuerpos y la memoria inmunológica. Los linfocitos B se distinguen de los linfocitos T por la presencia de moléculas de anticuerpo ancladas en su superficie. Estos anticuerpos de superficie son copias de una clase única (relativa a su especificidad) de anticuerpo que una determinada célula B producirá después en su desarrollo. Los anticuerpos de superficie en las células B reconocen antígenos en su configuración nativa, generalmente en la superficie del patógeno (véase Sección 20.11). Las células B se concentran en la corteza de los ganglios linfáticos donde pueden contactar con los antígenos. Tras la exposición antigénica, las células B se dividen en células de memoria o células plasmáticas. Las células de memoria son de vida media larga y pueden permanecer en la

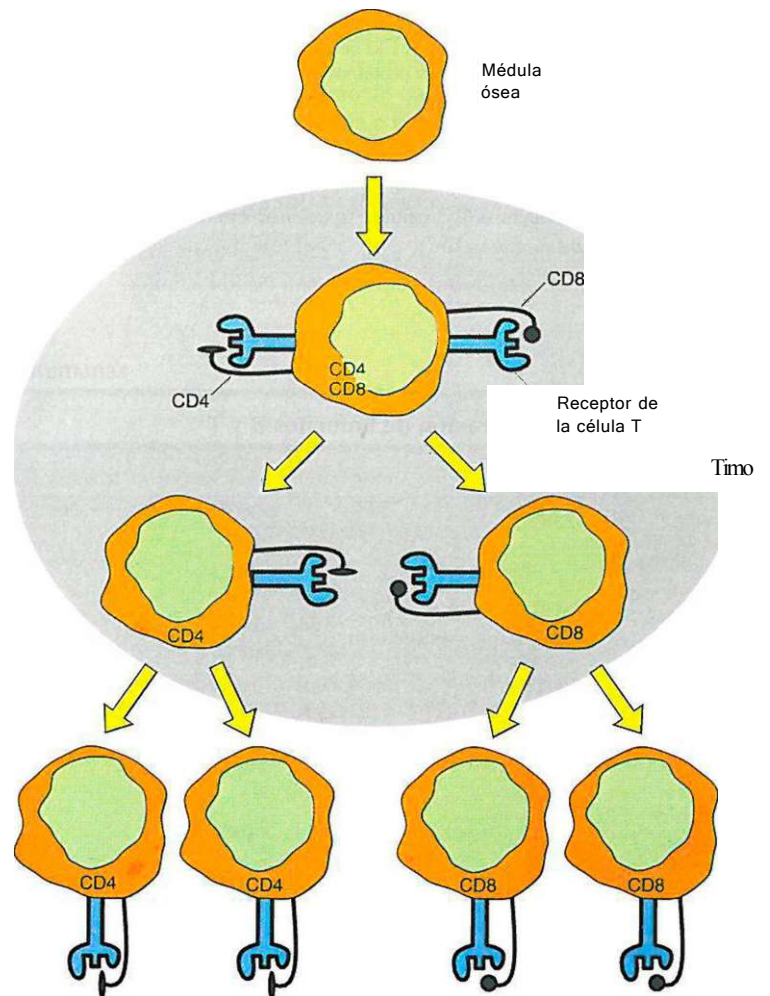
zona paracortical durante años. Tras la reestimulación con el antígeno, las células de memoria proliferan rápidamente para producir más células de memoria y células plasmáticas. Las células plasmáticas diferenciadas, productoras de anticuerpos, viven sólo varios días. Se encuentran en la zona medular del ganglio, donde los anticuerpos pueden drenar directamente hacia el vaso linfático eferente (Figura 20.3).

En esta sección exploraremos la interacción de las células B con el antígeno y cómo se dirige contra una infección. Los componentes de la cápsula

Linfocitos T

La situación de las células T es más compleja. Todas las células T poseen receptores específicos de antígeno (TCRs del inglés T Cell Receptors) sobre su superficie e interaccionan específicamente con el antígeno. En el caso de los TCRs, el antígeno es siempre «presentado» por otra célula, a menudo un macrófago. Puesto que este antígeno se encuentra en forma procesada por la degradación de las proteasas lisosomiales, el determinante es siempre un péptido corto y lineal derivado del inmunógeno intacto (véanse Secciones 20.2 y 20.7).

Se han identificado distintas subpoblaciones de células T. Se distinguen dos subpoblaciones principales en función de la presencia de proteínas de superficie específicas denominadas CD4 o CD8: las células T maduras expresan sólo una de estas proteínas (Figura 20.8). La población CD4 se subdivide en dos subpoblaciones funcionales. Una de éstas es la subpoblación *T auxiliar* o cooperadora, también conocida como *T_H* (del inglés T helper). Las células *T_H* estimulan a los linfocitos B para que produzcan grandes cantidades de inmunoglobulina. En la mayoría de los casos, la producción es escasa cuando no existe interacción de las células B con *T_H* (véase Sección 20.11). Las células *T_H* interaccionan también con otras células T, estimu-



Linfocitos

Los linfocitos B son responsables de la interacción con el antígeno, la producción de anticuerpos y la memoria inmunológica. Los linfocitos B se distinguen de los linfocitos T por la presencia de moléculas de anticuerpo ancladas en su superficie. Estos anticuerpos de superficie son copias de una clase única (relativa a su especificidad) de anticuerpo que una determinada célula B producirá después en su desarrollo. Los anticuerpos de superficie en las células B reconocen antígenos en su configuración nativa, generalmente en la superficie del patógeno (véase Sección 20.11). Las células B se concentran en la corteza de los ganglios linfáticos donde pueden contactar con los antígenos. Tras la exposición antigénica, las células B se dividen en células de memoria o células plasmáticas. Las células de memoria son de vida media larga y pueden permanecer en la zona paracortical durante años. Tras la reestimulación con el antígeno, las células de memoria proliferan rápidamente para producir más células de memoria y células plasmáticas. Las células plasmáticas diferenciadas, productoras de anticuerpos, viven sólo varios días. Se encuentran en la zona medular del ganglio, donde los anticuerpos pueden drenar directamente hacia el vaso linfático eferente (Figura 20.3).

En esta sección exploraremos la interacción de las células B con el antígeno y cómo se dirige contra una infección. Los componentes de la cápsula

laudólas para que se conviertan en células electoras. La *célula T de hipersensibilidad de tipo retardado*, o *célula T_H* (del inglés *delayed*) posee también CD4. Las células T_D participan en las reacciones mediadas por células pero no interactúan con las células B. Las células T_L son las responsables del reclutamiento y la activación de células electoras inespecíficas como los fagocitos. La segunda subpoblación principal de células T, las células CD8, posee también como mínimo dos subpoblaciones funcionales. La primera consta de *células T citotóxicas* o *células T_c* que destruyen directamente las células que tienen el antígeno en su superficie. La otra subpoblación CD8 consta de *células T supresoras* o *células T_s* que regulan la respuesta inmune suprimiendo la acción de las células inmunes como las células B (*). La Tabla 20.2 compara linfocitos B y T en relación con el desarrollo, antígenos de superficie y funciones.

REVISIÓN DE CONCEPTOS

20.4

Los linfocitos son leucocitos específicos de antígeno. Los linfocitos B poseen sobre su superficie receptores para el antígeno inmunoglobulínico, mientras que las células T tienen receptores de célula T, también específicos de antígeno. Las células T, especialmente las células T_H, contactan con el antígeno a través de la acción de fagocitos inespecíficos. Las células T se dividen en distintas subpoblaciones según las proteínas de superficie y las características funcionales.

%/ ¿Cuáles son las diferencias principales entre células B y células T?

%/ Distinga entre células T_H y células T_s. ¿Son diferentes sus proteínas de superficie?

Comparación de linfocitos B y T

Células T

Origen: médula ósea
Maduración: timo
Vida media: meses a años

Móvil

Expresión del receptor para el antígeno en células T (TCR)

Expresión de CD4 o CD8
Expresión de CD8
Especificidad antigénica restringida
Proliferan al estímulo antigénico

Producen citocinas
Son responsables de la hipersensibilidad retardada (células T_p)

Coopera con las células B en la producción de inmunoglobulinas (células T_H)
Actúan como linfocitos con capacidad lítica en la inmunidad mediada por células (células T_c)
Controlan la respuesta inmune (células T_s)

20,5_

Inmunoglobulinas (anticuerpos)

Las siguientes tres secciones de este capítulo se dedicarán a las moléculas del sistema inmune específicas de antígeno. Empezamos con las inmunoglobulinas porque comprendemos su estructura y función en detalle. Nos servirán como modelo para la molécula receptora específica de antígeno. Las *inmunoglobulinas (anticuerpos)* son moléculas de proteína capaces de combinarse con determinantes antigénicos. Se hallan presentes en el suero y en otros líquidos corporales como las secreciones gástricas y la leche. El suero que contiene anticuerpos específicos de antígeno se denomina habitualmente antisuero. Las inmunoglobulinas (Igs) pueden dividirse en cinco clases principales basándose en sus propiedades físicas, químicas e inmunológicas: **IgG**, **IgA**, **IgM**, **IgD** e **IgE** (Tabla 20.3). La inmunoglobulina de clase IgG se divide a su vez en cuatro subclases inmunológicamente distintas denominadas IgG₁, IgG₂, IgG₃ e IgG₄. Estas subclases son genética, estructural y funcionalmente diferentes una de otra. Las moléculas de anticuerpo específicas para un determinante antigénico concreto pueden encontrarse en cualquiera de las siete clases, incluso en un mismo individuo inmunizado. Tras la inmunización inicial, la IgM es la primera inmunoglobulina que aparece. Es una inmunoglobulina pentamérica con un peso molecular de unos 970.000 Dalton; la IgG aparece después. En la mayor parte de los individuos, cerca del 80% de las inmunoglobulinas del suero pertenecen a la clase IgG, por lo que las estudiaremos con mayor detenimiento.

Estructura de las inmunoglobulinas

La inmunoglobulina G es el anticuerpo circulante más abundante y de ahí que expongamos su estructura con cierto detalle. La inmunoglobulina G tiene un peso molecular de unos

Células B

Origen: médula ósea
Maduración: médula ósea
Vida media: años (células de memoria); vida media corta: días (células plasmáticas)
Relativamente inmóviles (fijas)
Expresión de un receptor (inmunoglobulina) para el antígeno)
Expresión de receptores para el complemento

Especificidad antigénica restringida
Proliferan tras el estímulo antigénico a células plasmáticas y células de memoria
Sintetiza inmunoglobulinas (anticuerpos)
Pueden funcionar como células presentadoras de antígeno (APC)

* M de T: El concepto de célula supresora no es hoy en día comúnmente aceptado, aunque sí se admite que algunos tipos de funciones mediadas por las células T pueden tener como consecuencia la supresión.

146.000 Dalton y está compuesta de cuatro cadenas polipeptídicas (Figura 20.9). Existen puentes disulfuro (S-S) intracatenarios e intercatenarios. Las dos cadenas ligeras (cortas) son idénticas en su secuencia de aminoácidos, y lo mismo ocurre con las dos cadenas pesadas (largas). La molécula en conjunto es simétrica. Cada cadena ligera posee unos 212 aminoácidos y cada cadena pesada unos 450 aminoácidos.

Cuando se trata la IgG con la enzima proteolítica *papaína*, se rompe en varios fragmentos (Figura 20.9c). Dos de los fragmentos contienen una cadena ligera más la mitad aminoterminal de la cadena pesada. Estas partes se combinan con el antígeno y se denominan fragmentos *Fab* (del inglés, /ragment of ζ mtigen ζ inding). El fragmento que contiene la mitad carboxiterminal de ambas cadenas pesadas, llamado fragmento *Fe* (del inglés, /ragment crystallizable), *no* se combina con el antígeno. Por lo tanto, cada molécula de anticuerpo de la clase IgG contiene *dos sitios de combinación para el antígeno* (y en consecuencia es *bivalente*). Esta bivalencia tiene una importancia considerable para entender la forma en que se producen algunas reacciones antígeno-anticuerpo (véase Sección 20.15). El sitio de unión al antígeno se halla en las porciones aminoterminales de la cadena pesada y ligera (Figura 20.9). Las inmunoglobulinas contienen también pequeñas cantidades de hidratos de carbono complejos que se componen de hexosa y hexosamina, que se hallan unidas a la cadena pesada; el carbohidrato no participa en el sitio de unión al antígeno.

Aunque el esquema de la Figura 20.9 que muestra la molécula IgG es adecuado para hacerse una idea de su estructura general, las inmunoglobulinas son proteínas muy complejas. Se retuercen y pliegan para adquirir su conformación definitiva y dar lugar a una estructura tridimensional compleja. En la Figura 20.10 se ilustra esta estructura de acuerdo con un modelo generado por ordenador y se muestra una microfotografía electrónica de una molécula de IgG. En la Figura 20.10 las dos vistas

de la molécula de IgG muestran una estructura básica en forma de Y clara, y en la Figura 20.10c aparecen las características de torsión y plegamiento de la estructura secundaria y terciaria. Estas estructuras de orden superior permiten a las cadenas polipeptídicas dar lugar a una inmunoglobulina. En este proceso, la interacción de la cadena pesada y ligera produce un solo sitio de unión. Cada molécula de anticuerpo de tipo IgG tendría una valencia de 2. Este sitio de unión es el responsable final de la especificidad de las reacciones antígeno-anticuerpo.

Cadenas ligeras de IgG

Todas las cadenas ligeras de IgG contienen dos dominios de aminoácidos, el *dominio variable* y el *dominio constante*. Generalmente las secuencias de aminoácidos en la porción principal de las cadenas ligeras de inmunoglobulinas de la clase IgG son idénticas, incluso en las IgGs dirigidas contra determinantes antigénicos totalmente distintos. Ello se debe a que la secuencia aminoacídica en la mitad carboxiterminal de la cadena ligera representa una de las dos secuencias específicas y constantes, a las que se conoce como secuencia *lambda* (λ) y secuencia *kappa* (κ). Cualquier molécula de IgG posee dos cadenas λ o dos cadenas κ pero jamás una de cada (Figura 20.9a). Por el contrario, las regiones *variables* de las cadenas ligeras que se localizan en la mitad aminoterminal, siempre difieren en la secuencia aminoacídica de una molécula de IgG a otra, salvo en el caso de que ambas moléculas sean producidas por la misma célula o el mismo clon de células.

Cadenas pesadas de IgG

Todas las cadenas pesadas de IgG contienen cuatro regiones aminoacídicas, una variable y tres constantes (se llaman *domi-*

Propiedades de las inmunoglobulinas humanas

Denominación de la clase	Peso molecular	Proporción del anticuerpo total (%)	Concentración sérica (mg/ml)	Sitios de unión al antígeno	Propiedades	Distribución
IgG	146,000	80	13	2	Principal anticuerpo circulante; existen cuatro subclases: IgG ₁ , IgG ₂ , IgG ₃ , IgG ₄ unen débilmente el complemento	Fluido extracelular; sangre y linfa; atraviesa la placenta
IgM	970,000 (pentámero)		1.5	10	Primer anticuerpo postinmunización; fuerte unión al complemento	Sangre y linfa: superficie de linfocitos B (como monómero)
IgA	160,000 385,000 (forma secretora)	13	3 0.05	2 4	Principal anticuerpo de las secreciones	Secreciones (saliva, calostro, suero), fluidos celulares sanguíneos; presente en el suero en forma de monómero y como dímero en las secreciones
IgD	184,000	1	0.03	2	Anticuerpo circulante presente en menor cantidad; termolábil	Sangre y linfa: superficie de linfocitos B
IgE	188,000	0.002	0.00005	2	Participa en las reacciones alérgicas: contiene un fragmento capaz de unirse a las células cebadas (mastocitos)	Solamente en sangre y linfa

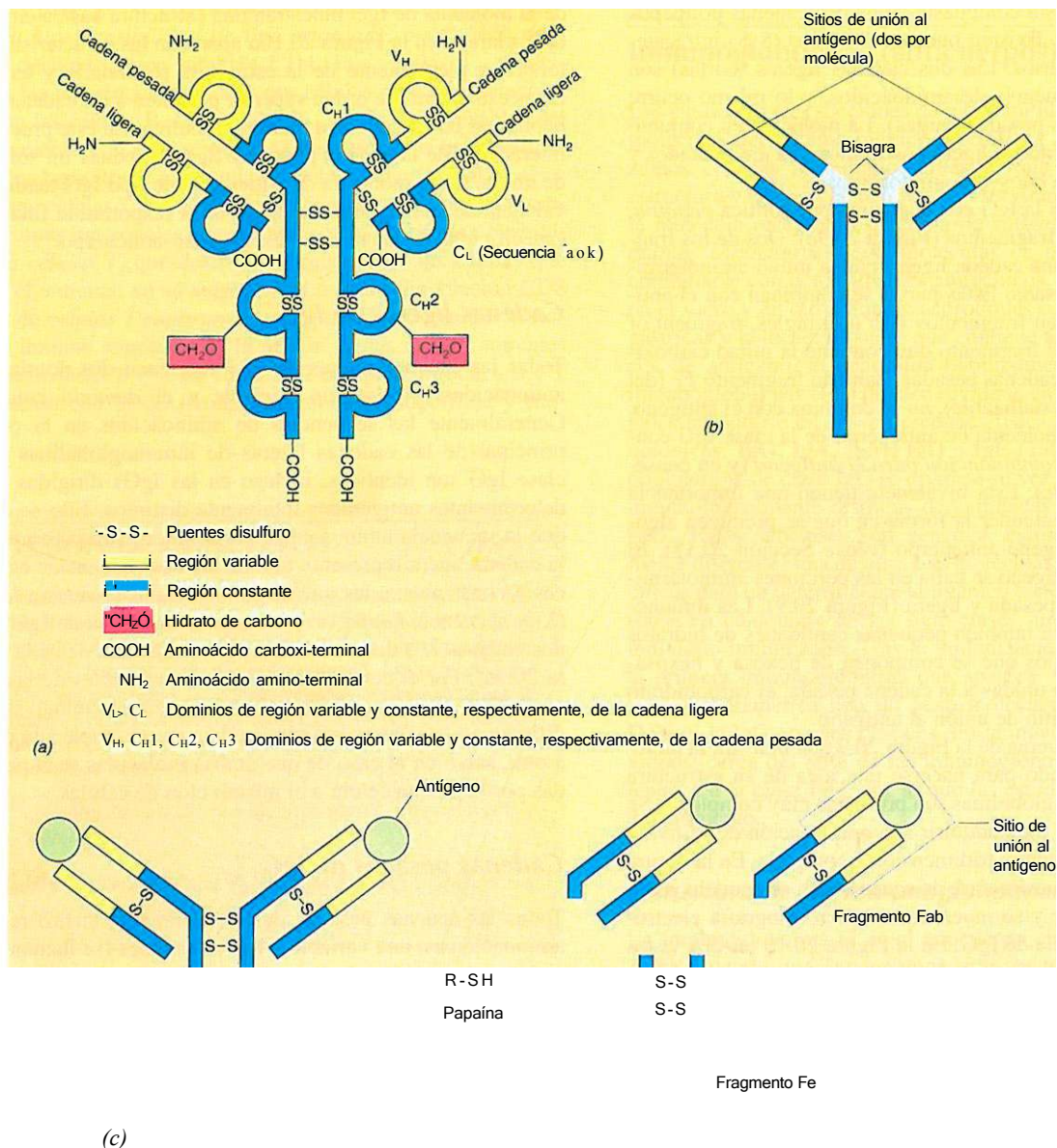


Figura 20.9 Estructura de la inmunoglobulina G (Ig G). (a) En su estructura existen puentes disulfuro intra e intercatenarios. (b) Diagrama estructural simplificado en el que no aparecen los puentes disulfuros intracatenarios y los hidratos de carbono. (c) Efecto del tratamiento con papaína sobre la estructura de la inmunoglobulina. R-SH representa uno de los varios tioles orgánicos que reaccionan con puentes S-S seleccionados de la molécula de inmunoglobulina.

nios variables y constantes, respectivamente). Cada dominio tiene una longitud aproximada de 110 aminoácidos. De una forma semejante a lo que sucede en la cadena ligera, todas las inmunoglobulinas de la clase IgG poseen una porción de su cadena pesada (los tres dominios carboxiterminales) en los que la secuencia aminoacídica entre las distintas moléculas de IgG es idéntica (C_{H1}, C_{H2} y C_{H3}) (Figura 20.9). Además, todas las cadenas pesadas tienen una región en el dominio aminoterminal (sitio de unión al antígeno V_H) (Figura 20.9) con gran variación en la secuencia de aminoácidos de una IgG a otra. La exquisita especificidad de una molécula dada de anticuerpo para un antígeno concreto reside en la singular estructura tridi-

mensional del sitio de unión antigénico, que está formado por una combinación de secuencias de aminoácidos de las regiones variables de las cadenas pesadas y ligeras (Figura 20.10).

Otras clases de inmunoglobulinas

¿En qué se diferencia la IgG de otras clases de inmunoglobulinas? La región *constante* de la cadena pesada de una determinada inmunoglobulina define su clase y puede tener una de las siguientes cinco secuencias de aminoácidos: gamma, alfa, mu, delta o épsilon. Estas secuencias constituyen las tres cuartas

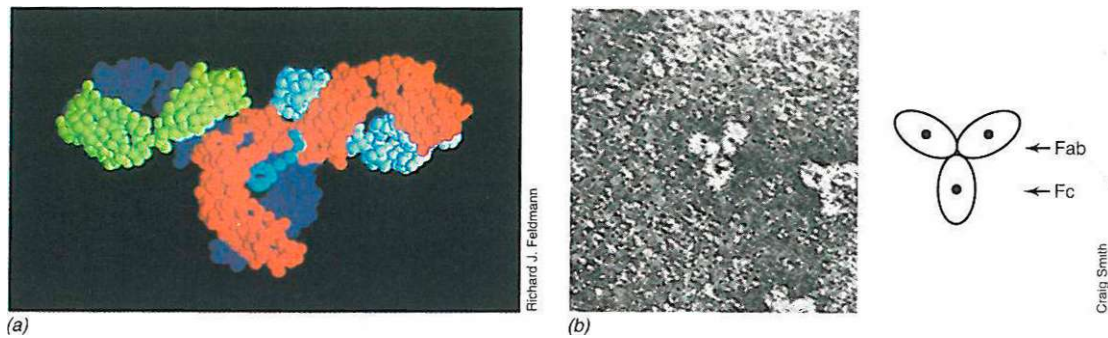


Figura 20.10 Visión tridimensional de la inmunoglobulina IgG. (a) Modelo de Ig G generado por ordenador; en rojo y azul marino se muestran las cadenas pesadas, y en verde y azul claro las cadenas ligeras. La porción azul brillante próxima al fragmento Fe de las dos cadenas pesadas, representa a los hidratos de carbono unidos. (b) Microtografía electrónica de una sola molécula de Ig G.

partes del extremo carboxiterminal de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas de las clases IgG, IgA, IgM, IgD e IgE, respectivamente (Figura 20.9a). Por ejemplo, todos los anticuerpos de la clase IgM contienen aminoácidos en la región constante de su cadena pesada que representa la secuencia mu. Si dos inmunoglobulinas de clases *diferentes* reaccionan con el mismo determinante antigénico, entonces las regiones variables de sus cadenas pesada y ligera pueden ser idénticas, si bien las secuencias determinantes de su clase, específicas de sus cadenas *pesadas*, podrían ser distintas. No es infrecuente, en una respuesta inmune típica, observar la producción de anticuerpos de dos clases diferentes frente al mismo determinante antigénico.

La estructura de la **inmunoglobulina M (IgM)** aparece en la Figura 20.11. Habitualmente se encuentra en forma de un agregado de cinco moléculas de inmunoglobulina unidas, tal como se muestra en la Figura 20.11 a través de péptidos cortos denominados *cadenas J*. La IgM representa el 5-10% del total de las inmunoglobulinas séricas. Todas las cadenas de Ig M contienen un dominio extra en la región constante (C_H4) y la IgM es muy rica en hidratos de carbono. La IgM es la primera clase de inmunoglobulina que aparece en una típica respuesta inmune a una infección bacteriana, aunque las inmunoglobulinas de esta clase presentan habitualmente una baja afinidad. A pesar de ello, la molécula pentamérica de IgM con una *valencia* alta, aumenta la fuerza de la unión al antígeno; existen 10 sitios de unión disponibles para la interacción con el antígeno (Tabla 20.3 y Figura 20.11). El término *avidez* se utiliza para describir la *fuerza de unión* de las moléculas multivalentes; de ahí que se diga que la IgM tiene una *baja* afinidad pero una *avidez elevada*.

La **inmunoglobulina A (IgA)** está presente en las secreciones. Es el anticuerpo predominante en los líquidos que bañan órganos y tejidos en contacto con el mundo exterior. La IgA se halla en la saliva, lágrimas, leche materna y calostro, secreciones gastrointestinales y secreciones mucosas de los tractos respiratorio y genitourinario. Las superficies mucosas del cuerpo suman en total unos 400 m². Todas estas superficies mucosas se asocian con los ganglios linfáticos del MALT (Figura 20.3) que secretan IgA. El resultado es que la cantidad total de IgA *secretoria* producida por el organismo es mayor que la cantidad de IgG *sérica*. La IgA es también la segunda Ig en mayor concentración en el suero (Tabla 20.3). La forma

secretoria de IgA tiene una estructura molecular modificada que consiste en una inmunoglobulina dimérica unida a una proteína rica en hidratos de carbono, denominada *pieza secretoria*, y a una cadena peptídica J (Figura 20.12). La pieza secretoria contribuye a estabilizar a la inmunoglobulina dimérica, haciéndola más resistente a la proteólisis y al pH.

La **inmunoglobulina E (IgE)** se encuentra en el suero en cantidades muy pequeñas (como promedio, aproximadamente 1 de cada 50.000 moléculas de inmunoglobulinas séricas es IgE). A pesar de su baja concentración, es importante porque las hipersensibilidades de tipo inmediato (alergias) están mediadas por IgE. El peso molecular de una molécula de IgE es significativamente mayor que el de la mayoría de las otras in-

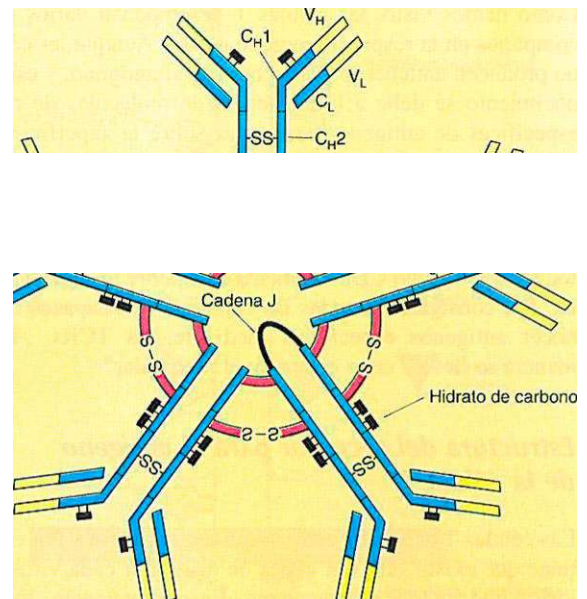


Figura 20.11 Estructura de la Ig M, una inmunoglobulina grande que consta de cinco moléculas (un pentámero). Advierta que cada cadena pesada contiene cuatro regiones constantes y no tres, y que las cinco moléculas se unen entre sí mediante puentes disulfuro. Existen disponibles 10 sitios de unión para el antígeno.

munoglobulinas (Tabla 20.3) porque, al igual que la IgM, contiene una región constante adicional. Esta región constante adicional sirve para unir la IgE a la superficie de células cebadas (véase Figura 20.32), un pre-requisito importante para determinadas reacciones alérgicas.

La **inmunoglobulina D (IgD)** también se encuentra en bajas concentraciones, y su función en el conjunto de la respuesta inmune es poco conocida. La IgD abunda en la superficie de las células B productoras de anticuerpos y puede jugar un papel junto a la IgM en la unión del antígeno. El anticuerpo de superficie unido al antígeno sirve como una señal para que el linfocito B comience a producir anticuerpos.

REVISIÓN DE CONCEPTOS

20.5

Las inmunoglobulinas (anticuerpos) son proteínas que constan de cuatro cadenas, dos pesadas y dos ligeras. El sitio de unión al antígeno está yuxtapuesto a las regiones variables de las cadenas pesadas y ligeras. Todas las clases distintas de inmunoglobulinas poseen diferentes características estructurales y funcionales.

¿Qué dominios de las inmunoglobulinas están implicados en la unión al antígeno?

¿Qué características estructurales distinguen a las clases de Igs?

20.6

Receptores de la célula T

Como hemos visto, las células T desempeñan varios papeles complejos en la respuesta inmune global. Aunque las células T no producen anticuerpos, sí reconocen al antígeno, y este reconocimiento se debe a la existencia de moléculas de receptor específicas de antígeno localizadas sobre la superficie de las células T denominadas **receptores de las células T (TCRs)**. Los receptores de las células T poseen especificidad antigénica, pero a diferencia de la mayoría de las inmunoglobulinas, están siempre integrados en la membrana de la célula T. Tanto los linfocitos CD4 como CD8 exhiben TCRs sobre la superficie celular. Por consiguiente, todas las células T son capaces de reconocer antígenos específicos mediante sus TCRs. ¿De qué manera se lleva a cabo esto a nivel molecular?

Estructura del receptor para el antígeno de la célula T

Las células T deben ser estructuralmente diversas. Por ejemplo, tiene que existir un TCR capaz de distinguir cada virus o cepa vírica que infecta al organismo. En consecuencia, los TCRs deben tener como mínimo tantos sitios distintos de unión al antígeno como los anticuerpos. Aunque los TCRs no son moléculas de anticuerpo, en muchos aspectos se parecen a ellos. De hecho, los TCRs y los anticuerpos poseen mucho en común y desde un punto de vista evolutivo son moléculas claramente relacionadas (ver Sección 20.12).

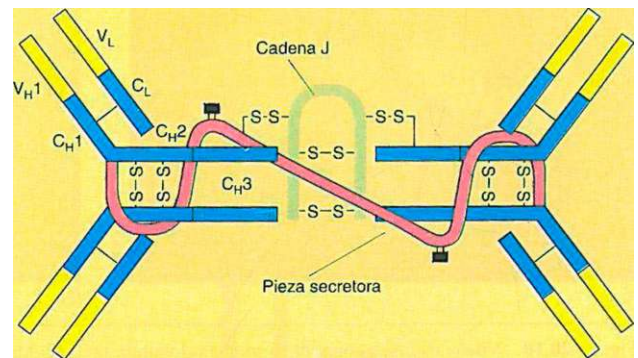


Figura 20.12 Estructura de la inmunoglobulina A (IgA) secretora. Aunque la IgA sérica es monomérica, la forma secretora de IgA es una molécula dimerica.

El TCR consta de dos péptidos unidos por puentes disulfuro, denominados alfa (α) y beta (β). La cadena alfa tiene un peso molecular de unos 40.000 Dalton y la cadena beta de unos 43.000 Dalton. El heterodímero α - β está en el 85% de las células T maduras. Las células T restantes poseen cadenas polipeptídicas análogas denominadas gamma (γ) y delta (δ). Ambos tipos de TCRs contienen regiones de gran variabilidad en cuanto a sus secuencias de aminoácidos. Estos dominios *variables* (que representan la porción aminoterminal de cada una de las dos cadenas polipeptídicas) se combinan para formar el verdadero sitio de unión al antígeno, del mismo modo que la combinación de las regiones variables de la cadena pesada y ligera forma el sitio de unión al antígeno en las inmunoglobulinas. Cada polipéptido TCR también contiene un dominio constante en el que la secuencia aminoacídica es invariante de una cadena a otra dentro del correspondiente tipo. Por tanto, todas las secuencias de la región constante de la cadena α son idénticas. Los dominios variables y constantes tienen un tamaño que equivale aproximadamente al de los dominios de las inmunoglobulinas (véase Sección 20.5). En la Figura 20.13 puede verse la comparación entre un TCR y una molécula de anticuerpo análoga. Obsérvese que el TCR es una proteína integral de membrana en la que ambas cadenas atraviesan la membrana de un lado a otro.

Aunque el TCR es estructuralmente bastante parecido a la inmunoglobulina, existen diferencias muy significativas en la

REVISIÓN DE CONCEPTOS

20.6

Los receptores de la célula T son proteínas específicas de antígeno que se encuentran sobre la superficie de las células T. Están estructural y evolutivamente relacionados con las inmunoglobulinas. Las células T reconocen el antígeno sólo en el contexto de otras proteínas que se hallan en la superficie celular.

¿Dónde se hallan los TCRs?

¿En qué se diferencian estructuralmente los TCRs de las inmunoglobulinas del suero? ¿En qué se parecen?

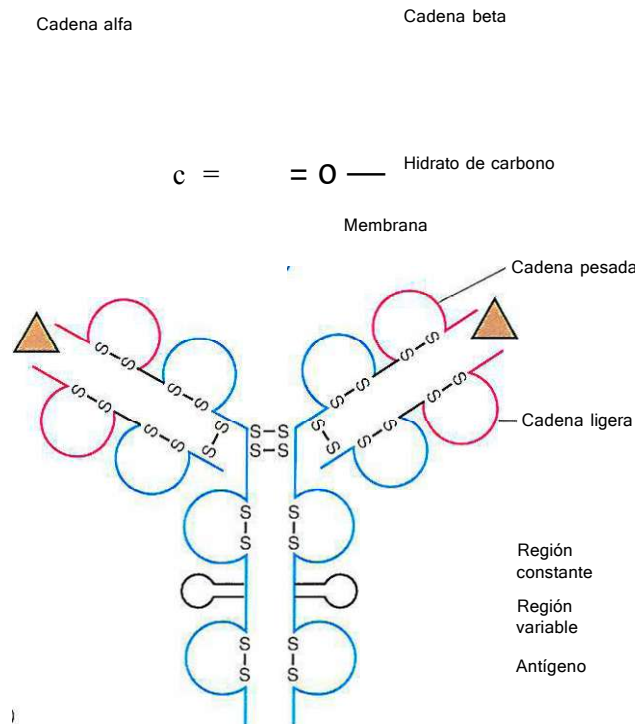


Figura 20.13 Comparación de la estructura del (a) receptor de la célula T con (b) una inmunoglobulina. Advértase la presencia de regiones variables.

forma de unión al antígeno. Como expondremos con detalle en la sección próxima, el TCR puede unir antígeno eficazmente sólo si es presentado sobre la superficie de otra célula. Por último, el antígeno debe ser presentado diferencialmente asociado a una proteína propia, y expresarse el complejo sobre la superficie de una célula presentadora.

20.7.

Proteínas de histocompatibilidad

Los anticuerpos reconocen a los antígenos en solución. Sin embargo, aunque tienen mucho en común estructuralmente con los anticuerpos, los receptores de la célula T (TCRs) pueden reconocer a un antígeno sólo cuando está unido a un conjunto de proteínas *propias* que se hallan en la superficie de las células normales. Estas proteínas están codificadas por una región genética presente en todos los vertebrados, denominada *complejo principal de histocompatibilidad* (MHC, del inglés *major histocompatibility complex*). Las proteínas MHC están producidas por numerosos genes de este complejo y se denominan en conjunto *antígenos leucocitarios humanos* o HLA. Al descubrirse las moléculas MHC se les consideró como las principales moléculas diana en el rechazo de un trasplante. Si los tejidos de un animal o de un donante humano se rechazan de forma aguda cuando se trasplantan a otro animal o a un paciente, esto

implica que sus proteínas MHC son distintas. Ahora sabemos que las proteínas MHC funcionan como moléculas presentadoras de antígeno y que interaccionan con el antígeno y el TCR. De ahí que las proteínas MHC sean un *tercer* conjunto de moléculas de unión al antígeno y jueguen un papel integral en la respuesta inmune. Nos detendremos en primer lugar en la estructura y la genética de las proteínas MHC en el hombre. Después, ahondaremos en la función de las moléculas MHC.

Estructura de las proteínas del complejo principal de histocompatibilidad en el hombre (HLA)

Los genes MHC codifican dos tipos diferentes de proteínas denominados de *clase I* y de *clase II*. El MHC completo posee varios genes que codifican proteínas de clase I y genes adicionales que codifican proteínas de clase II. Estas moléculas de clase I y de clase II son proteínas de la superficie celular y participan íntimamente en los fenómenos de reconocimiento inmune. Las proteínas MHC de clase I están sobre la superficie de *todas* las células nucleadas. Las proteínas MHC de clase II se encuentran sólo en la superficie de linfocitos B, macrófagos y otras células presentadoras de antígeno (APCs). Las razones para esta diferente distribución podrán entenderse mejor cuando expongamos la función de estas moléculas.

Las proteínas MHC de clase I constan de dos polipéptidos (Figura 20.14), la cadena alfa (α) de 45.000 Dalton de peso molecular, codificada en la región génica del MHC. El otro

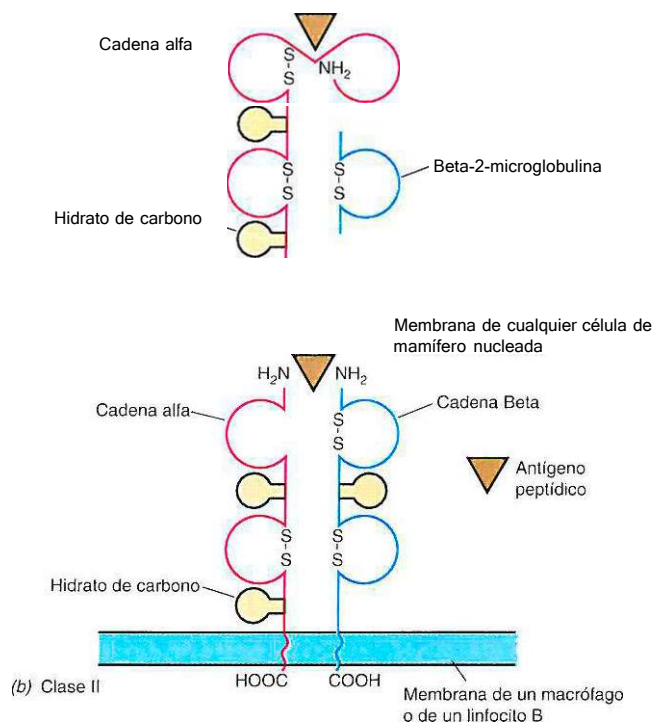


Figura 20.14 Estructura de las proteínas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC). (a) Clase I. (b) Clase II. Fijese que las moléculas de clase I se expresan en la superficie de todas las células nucleadas y que las moléculas de clase II sólo se expresan en ciertas células APCs especializadas.

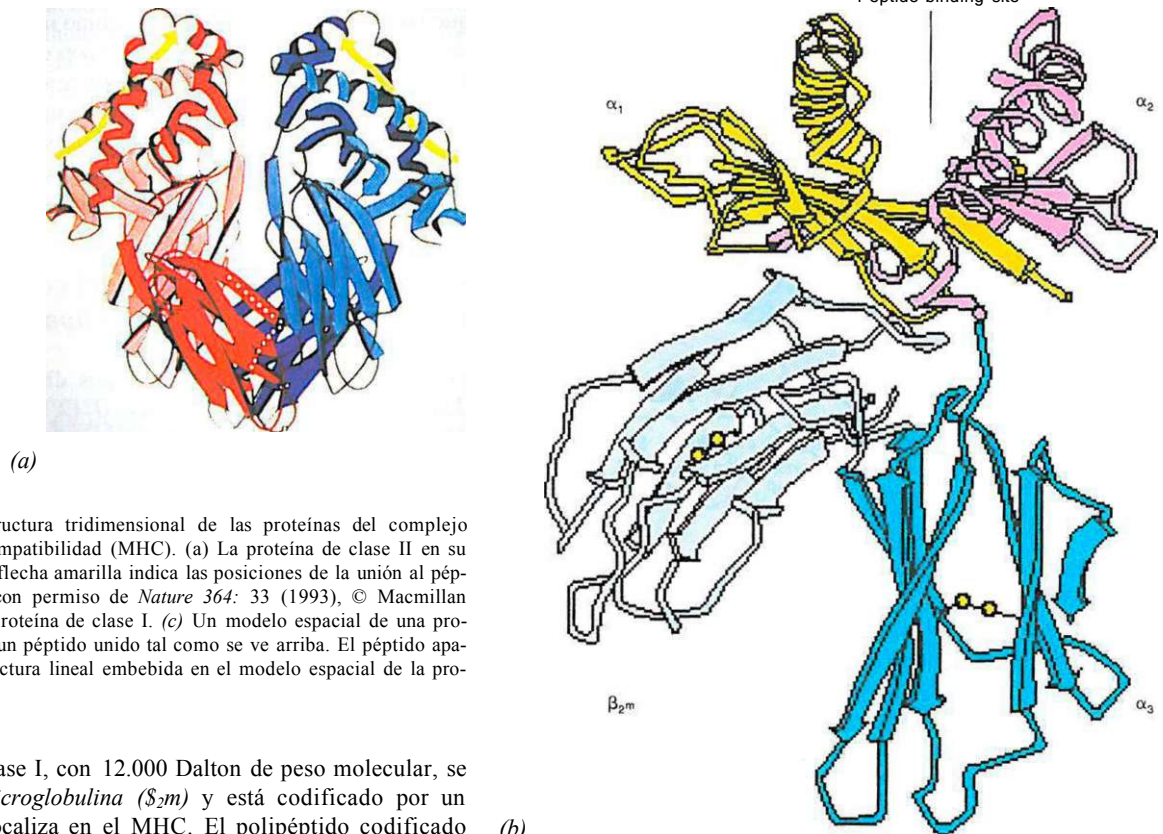


Figura 20.15 Estructura tridimensional de las proteínas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC). (a) La proteína de clase II en su forma dimérica. La flecha amarilla indica las posiciones de la unión al péptido. Reproducido con permiso de *Nature* 364: 33 (1993), © Macmillan Magazines. (b) La proteína de clase I. (c) Un modelo espacial de una proteína de clase I con un péptido unido tal como se ve arriba. El péptido aparece como una estructura lineal embebida en el modelo espacial de la proteína de clase I.

polipéptido de clase I, con 12.000 Dalton de peso molecular, se denomina β -2-microglobulina (β_2m) y está codificado por un gen que no se localiza en el MHC. El polipéptido codificado por MHC es una glicoproteína anclada firmemente a la membrana celular; la β_2m está unida a la de clase I de forma no covalente (Figura 20.14a). Las proteínas MHC de clase II constan de dos polipéptidos glicosilados unidos no covalentemente, llamados α y β , de 33.000 y 28.000 Dalton de peso molecular, respectivamente. Al igual que las moléculas de clase I, estos polipéptidos se hallan anclados en la membrana citoplasmática y se proyectan al exterior a partir de la superficie celular (Figura 20.14b). Las moléculas de clase II se asocian generalmente por *pares*. En apariencia la estructura por pares es mucho más eficaz para la unión a los TCRs. La Figura 20.15c muestra una estructura tridimensional correspondiente al par MHC de clase II.

Los análisis finos de la estructura cristalina de las moléculas MHC de clase I y de clase II han revelado una forma diferente que sugiere la manera en que estas proteínas interactúan con los antígenos y las células del sistema inmune. La cadena de la molécula de clase I forma tres dominios extracelulares separados. Entre dos de estos dominios existe una gran hendidura, y es dentro de esta hendidura donde la molécula MHC se une a los antígenos extraños. Las cadenas α y β de la proteína clase II interactúan para formar una hendidura similar (Figura 20.15). Como se verá, la unión de un antígeno extraño en la hendidura de una proteína MHC y la interacción de este complejo antígeno-MHC con un TCR es el desencadenante de la respuesta inmune.

Las proteínas MHC no son estructuralmente idénticas dentro de una especie determinada. Individuos distintos muestran habitualmente diferencias sutiles en la secuencia de aminoácidos de sus moléculas MHC. Estas variaciones limitadas de la

***0**

i

i

;

(c)

ia se denominan *polimorfismos*. En el hombre, por pueden existir 100 alelos MHC distintos o polimorfismos en cada locus en alguno de los genes, pero cada individuo únicamente dos de estos alelos y solamente se expresan proteínas; un alelo es de origen paterno y el otro

En conjunto, existen tres posiciones génicas (loci) genes de clase I y tres loci para los genes de clase II. En un individuo sólo tiene seis proteínas de clase I y seis de clase II de diferentes secuencias, siempre que hereditario. Además, entre las distintas especies animales se encuentran cambios estructurales importantes en las proteínas MHC. Estas diferencias, tanto intra como interespecie, son la causa principal por la que los tejidos trasplantados en un individuo a otro, o de una especie a otra, raramente son reconocidos como no propios y habitualmente rechazados.

Función de las proteínas MHC

Las proteínas MHC sirven como puntos de referencia molecular para permitir a las células T identificar antígenos extraños. En condiciones normales, las células T a través de sus TCRs, interactúan constantemente con proteínas u otros antígenos propios. Es crítico que puedan discriminar los antígenos de los no propios. La célula T a través de su TCR, se une a las moléculas MHC y entonces puede reconocer los antígenos extraños embebidos en la estructura del MHC; una célula puede reconocer a un antígeno extraño a menos que sea presentado en el contexto de una proteína MHC.

¿Cómo ocurre esto? Como se expuso con anterioridad, un antígeno es captado por una célula del hospedador, procesado y luego degradado; este antígeno procesado queda embebido o unido a la proteína MHC, y es llevado hasta la membrana citoplasmática y se expresa en la superficie de la célula. Se conocen dos mecanismos distintos de procesamiento del antígeno, uno para la presentación de antígenos de clase I y el otro para la presentación de antígenos de clase II (Figura 20.16). En el esquema de clase I (Figura 20.16a), los antígenos son degradados en el citoplasma y proteínas de clase I en el retículo endoplásmico. El procesamiento tiene unos 10 aminoácidos. Este método de procesamiento es muy importante en varias infecciones donde la célula hospedadora es la responsable de la síntesis de proteínas víricas. Los péptidos víricos degradados no propios, se complejan después con proteínas de clase I y son exportados a la superficie celular, donde son reconocidos por células T específicas a través de TCRs específicos y de MHC, con la ayuda de la molécula CD8. Las células T se activan, y como son efectores de la respuesta celular, destruyen la célula que contiene el virus, que se asemeja a una célula diana para la respuesta inmune. Efectivamente, las moléculas MHC actúan como una plataforma a la que se une el antígeno extraño (Figura 20.15). Por lo tanto, la infección vírica de una célula animal produce la liberación de los antígenos víricos en las moléculas de clase I en la superficie de la célula infectada (Figura 20.16a). Las células T están expuestas constantemente a toda la población de células T_c muestran especificidad de péptido y de

MHC para péptidos no propios. En condiciones normales, todas las células sanas expresan proteínas de clase I sobre su superficie, pero las moléculas clase I contienen péptidos propios que no son reconocidos por las células T. Sin embargo, las células T reconocen la célula infectada por el virus porque exponen el antígeno vírico no propio unido a la molécula MHC de clase I propia (Figura 20.16a). Por consiguiente, el TCR sobre la superficie de las células T interactúa a la vez con moléculas específicas de antígeno (no propias) y sitios específicos de moléculas MHC (propias).

Un segundo esquema de presentación antigénica involucra a la molécula de clase II (Figura 20.16b). En este caso, las moléculas clase II se completan con un polipéptido propio denominado *Ii* o cadena Invariante (*Ii*) (véase Sección 20.3). Cuando el fagosoma que contiene el antígeno fagocitado se fusiona con el lisosoma formando un *fagolisosoma*, los antígenos son digeridos por enzimas proteolíticas junto con la cadena *Ii* que acompaña a las moléculas de clase II, y es la responsable de que estas moléculas se dirijan hacia la zona donde se degradan los antígenos extraños captados del exterior celular. Los péptidos generados, habitualmente de unos 11 a 15 aminoácidos de longitud (ligeramente mayores que los péptidos de unión a clase I), se unen entonces al sitio de unión del antígeno de clase II recién expuesto (Figura 20.15a), y todo el complejo se expresa a la superficie sobre la membrana citoplasmática externa donde es presentado a las células T_H. Las células T_H, a través del TCR y del coreceptor CD4, reconocen a continuación el complejo MHC de clase II-péptido extraño sobre la superficie de las APCs. Las células T_H son activadas por el contacto con el antígeno extraño y secretan moléculas que estimulan la producción de anticuerpo por clones específicos de células B.

Dada la variación individual limitada de las proteínas MHC (sólo dos por locus y sólo tres loci por cada clase I y clase II), debe utilizarse un mecanismo diferente al que usan los anticuerpos y los TCRs, para la unión de grandes cantidades de péptidos distintos. Los péptidos unidos por una sola proteína MHC comparten patrones estructurales comunes o **motivos**, y cada molécula MHC distinta puede unirse a un motivo diferente. Por ejemplo, una proteína de clase I se une a todos los péptidos que poseen tirosina en la posición 2 y leucina en la posición 7. Por tanto, esta proteína MHC es capaz de presentar a cualquier péptido con la secuencia de aminoácidos X-tirosina-

REVISIÓN DE CONCEPTOS

20.7

Las proteínas codificadas por el MHC son marcadores moleculares de referencia que permiten a las células T interactuar con el antígeno. Se encuentran sobre las superficies de APCs y células diana. Las proteínas MHC procesan el antígeno y lo presentan a las células T. Esta es la única forma por la que las células T pueden reconocer los antígenos no propios e iniciar una respuesta inmune específica.

¿ En qué células se encuentran las proteínas MHC de clase I y de clase II?

¿ Qué diferencias existen entre los antígenos presentados por MHC clase I y los presentados por MHC de clase II?

secuencia se denominan *polimorfismos*. En el hombre, por ejemplo, pueden existir 100 alelos MHC distintos o polimorfismos, para cada locus en alguno de los genes, pero cada individuo tiene únicamente dos de estos alelos y solamente se expresan dos proteínas; un alelo es de origen paterno y el otro materno. En conjunto, existen tres posiciones génicas (loci) para los genes de clase I y tres loci para los genes de clase II. Por lo tanto un individuo sólo tiene seis proteínas de clase I y seis proteínas de clase II de diferentes secuencias, siempre que sea heterocigótico. Además, *entre* las distintas especies animales siempre se encuentran cambios estructurales importantes en las proteínas MHC. Estas diferencias, tanto intra como interespecies, son la causa principal por la que los tejidos trasplantados de un individuo a otro, o de una especie a otra, raramente coinciden, siendo reconocidos como no propios y habitualmente se rechazan.

Función de las proteínas MHC

Las proteínas MHC sirven como puntos de referencia molecular que permiten a las células T identificar antígenos extraños. En un animal normal, las células T a través de sus TCRs, interaccionan constantemente con proteínas u otros antígenos potenciales. Es crítico que puedan discriminar los antígenos propios de los no propios. La célula T a través de su TCR, se une a las moléculas MHC y entonces puede reconocer los antígenos extraños embebidos en la estructura del MHC; una célula T no puede reconocer a un antígeno extraño a menos que sea presentado en el contexto de una proteína MHC.

¿Cómo ocurre esto? Como se expuso con anterioridad, cuando un antígeno es captado por una célula del hospedador, la célula lo «procesa» o lo degrada; este antígeno procesado acaba por quedar embebido o unido a la proteína MHC, y el complejo va hasta la membrana citoplasmática y se expresa en la superficie de la célula. Se conocen dos mecanismos distintos para el procesamiento del antígeno, uno para la presentación de antígenos de clase I y el otro para la presentación de antígenos clase II (Figura 20.16). En el esquema de clase I (Figura 20.16a), los antígenos son degradados en el citoplasma y unidos a proteínas de clase I en el retículo endoplásmico. El péptido procesado tiene unos 10 aminoácidos. Este método de contacto antigénico es muy importante en varias infecciones víricas, donde la célula hospedadora es la responsable de la síntesis de las proteínas víricas. Los péptidos víricos degradados que son no propios, se acomplexan después con proteínas de clase I y son exportados a la superficie celular, donde son reconocidos por células T específicas a través de TCRs específicos de antígeno y de MHC, con la ayuda de la molécula CD8. Las células T se activan, y como son efectores de la respuesta inmune celular, destruyen la célula que contiene el virus, que se convierte así en una *célula diana* para la respuesta inmune.

En efecto, las moléculas MHC actúan como una *plataforma* sobre la que se une el antígeno extraño (Figura 20.15). Por ejemplo, la infección vírica de una célula animal produce la inclusión de los antígenos víricos en las moléculas de clase I sobre la superficie de la célula infectada (Figura 20.16a). Las células T_c están expuestas constantemente a toda la población celular. Estas células T_c muestran especificidad de péptido y de

MHC para péptidos no propios. En condiciones normales, todas las células sanas expresan proteínas de clase I sobre su superficie, pero las moléculas clase I contienen péptidos propios que no son reconocidos por las células T. Sin embargo, las células T reconocen la célula infectada por el virus porque exponen el antígeno vírico no propio unido a la molécula MHC de clase I propia (Figura 20.16a). Por consiguiente, el TCR sobre la superficie de las células T interacciona a la vez con moléculas específicas de antígeno (no propias) y sitios específicos de moléculas MHC (propias).

Un segundo esquema de presentación antigénica involucra a la molécula de clase II (Figura 20.16b). En este caso, las moléculas clase II se completan con un polipéptido propio denominado *Ii* o cadena Invariante (//) (véase Sección 20.3). Cuando el fagosoma que contiene el antígeno fagocitado se fusiona con el lisosoma formando un *fagolisosoma*, los antígenos son digeridos por enzimas proteolíticas junto con la cadena *Ii* que acompaña a las moléculas de clase II, y es la responsable de que estas moléculas se dirijan hacia la zona donde se degradan los antígenos extraños captados del exterior celular. Los péptidos generados, habitualmente de unos 11 a 15 aminoácidos de longitud (ligeramente mayores que los péptidos de unión a clase I), se unen entonces al sitio de unión del antígeno de clase II recién expuesto (Figura 20.15b), y todo el complejo se expresa a la postre sobre la membrana citoplasmática externa donde es presentado a las células T_H. Las células T_H, a través del TCR y del correceptor CD4, reconocen a continuación el complejo MHC de clase II-péptido extraño sobre la superficie de las APCs. Las células T_H son activadas por el contacto con el antígeno extraño y secretan moléculas que estimulan la producción de anticuerpo por clones específicos de células B.

Dada la variación individual limitada de las proteínas MHC (sólo dos por locus y sólo tres loci por cada clase I y clase II), debe utilizarse un mecanismo diferente al que usan los anticuerpos y los TCRs, para la unión de grandes cantidades de péptidos distintos. Los péptidos unidos por una sola proteína MHC comparten patrones estructurales comunes o **motivos**, y cada molécula MHC distinta puede unirse a un motivo diferente. Por ejemplo, una proteína de clase I se une a todos los péptidos que poseen tirosina en la posición 2 y leucina en la posición 7. Por tanto, esta proteína MHC es capaz de presentar a cualquier péptido con la secuencia de aminoácidos X-tirosina-

REVISIÓN DE CONCEPTOS

20.7

Las proteínas codificadas por el MHC son marcadores moleculares de referencia que permiten a las células T interactuar con el antígeno. Se encuentran sobre las superficies de APCs y células diana. Las proteínas MHC procesan el antígeno y lo presentan a las células T. Esta es la única forma por la que las células T pueden reconocer los antígenos no propios e iniciar una respuesta inmune específica.

¿En qué células se encuentran las proteínas MHC de clase I y de clase II?

¿Qué diferencias existen entre los antígenos presentados por MHC clase I y los presentados por MHC de clase II?

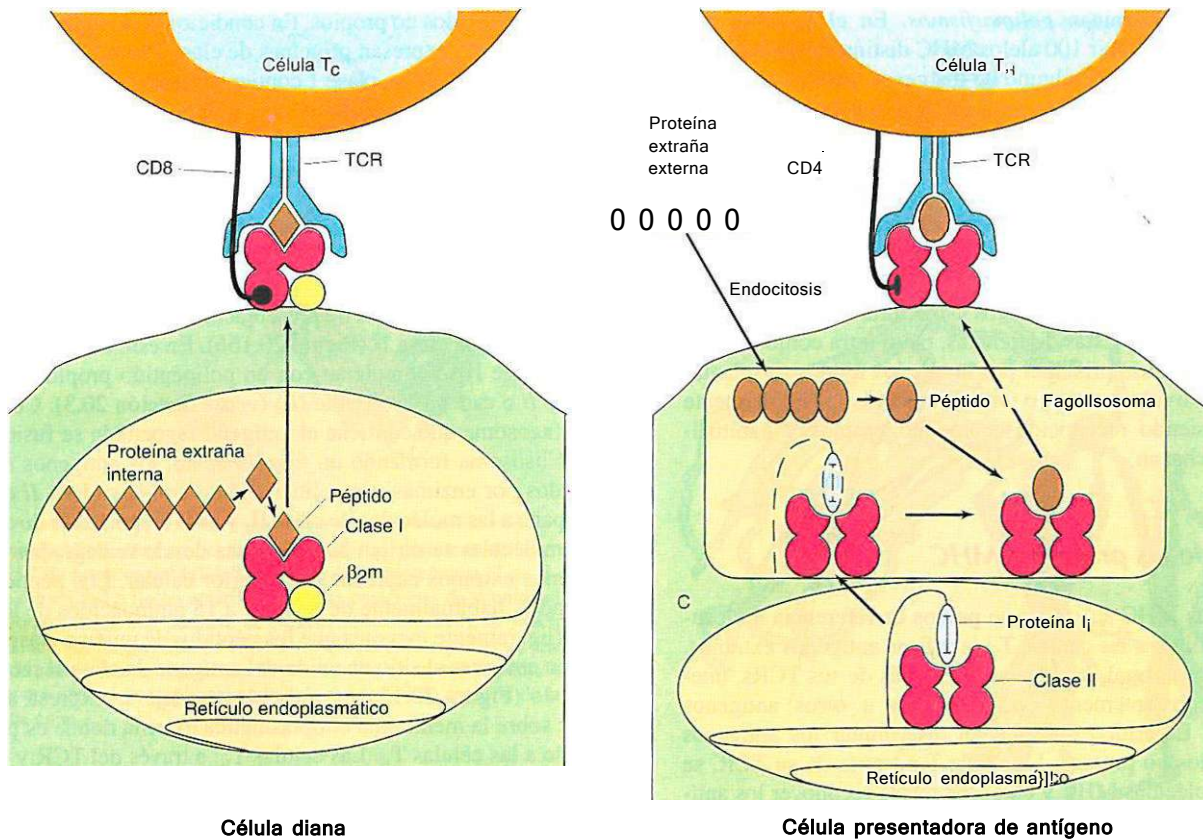


Figura 20.16 Presentación antigénica por proteínas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) de clase I y clase II. (a) En la vía de presentación antigénica de clase I se forman y se ensamblan las proteínas de clase I en el retículo endoplasmático junto con otras proteínas, incluyendo los antígenos víricos y tumorales. Después los péptidos digeridos en el citoplasma son transportados al lumen del retículo endoplasmático y se unen a clase I, y, posteriormente, se expresan sobre la superficie celular donde interactúan con los receptores de la célula T (TCRs) en la superficie de las células Te. El correpresor CD8 de la célula Te también interactúa con el MHC clase I, dando lugar a un complejo más estable. Las células Te pueden entonces liberar citocinas y citotoxinas, proteínas que destruyen a la célula diana. Cualquier célula nucleada puede actuar como una célula diana para clase I. (b) En la vía de presentación antigénica por clase II, las proteínas de clase II se producen en el retículo endoplasmático y se ensamblan con una proteína bloqueante, Ii (cadena invariante) que evita que clase II se acompleje con otros péptidos fabricados en el retículo endoplasmático de las células presentadoras de antígeno (APCs). Después, clase II va al fagolisosoma donde Ii y las proteínas extrañas, importadas desde el exterior de la célula (por endocitosis), son digeridas. A continuación la proteína de clase II se une a los péptidos extraños procesados, y el complejo se expresa sobre la superficie celular donde interactúa con los TCRs y el correpresor CD4 de las células TH. Las células TH liberan después citocinas que estimulan a las células B a producir anticuerpos. Las APCs incluyen a ciertos fagocitos y células B.

X-X-X-X- leucina-X-X-X-, donde X es cualquier aminoácido. De este modo, todas las proteínas MHC pueden presentar un gran número de péptidos distintos con un número limitado de sitios de unión de péptidos.

20.8

Citocinas

En la Sección 20.1 se describió cómo se desarrollan las células del sistema inmune a partir de distintos tipos de leucocitos (Figura 20.3). Para realizar tareas individuales, las células del sistema inmune deben comunicarse, y un método para hacerlo

es a través de una serie de proteínas solubles denominadas **citocinas**. Las citocinas son un grupo de proteínas solubles que regulan las funciones celulares. A las citocinas especializadas producidas por los linfocitos se les conoce a veces como *linfocinas*. En general, las citocinas son secretadas por una célula y se unen a los correspondientes receptores específicos en una célula diana. Algunas citocinas se unen a receptores sobre la célula que los produce. Por lo tanto, estas citocinas poseen capacidades *autocrinas* (autoestimulación). Los receptores responsables de la transducción de señales (véase Sección 7.7) envían información al interior celular, para modular la actividad metabólica como la síntesis proteica y controlar la división celular. Estas señales pueden originar finalmente la diferenciación y proliferación clonal de los leucocitos. Muchas de las

citocinas se denominan *interleucinas* (ILs) porque son moléculas que median interacciones entre leucocitos. La Tabla 20.4 enumera algunas de las citocinas inmunológicamente relevantes, las células que las producen, las células diana y sus efectos biológicos. En conjunto, existen cerca de 40 citocinas conocidas, la mayoría de las cuales están producidas por células T_H o monocitos y macrófagos. Las citocinas son generalmente proteínas pequeñas de menos de 30.000 Dalton de peso molecular y la mayoría pertenecen a una de las cuatro familias diferentes que existen, según su estructura proteica. Como ejemplos de función de una citocina, exploraremos ahora la acción de dos citocinas que son fundamentales para la respuesta inmune específica.

IL-1 e IL-2

Como hemos visto, los macrófagos son los responsables de la captación del antígeno, su procesamiento y presentación (véanse Secciones 20.3 y 20.7). Además, secretan una potente citocina llamada IL-1 que actúa sobre distintos tipos de células (Tabla 20.4 y Figura 20.17). La IL-1 es un componente esencial de la respuesta inmune porque las células T_H son una de sus principales dianas. Dada la proximidad de los macrófagos y las células T_H en los ganglios linfáticos, las células T_H que se activan son por lo general aquellas que se encuentran próximas. De ahí que sean las células T_H en contacto directo con los macró-

fagos, cuando va a ser presentado un antígeno específico, las que más probablemente vayan a activarse. La unión de IL-1 a sus receptores (IL-1R) en las células T_H actúa como una señal de activación y hace que las células T_H se dividan produciendo réplicas clonales (Figura 20.17). Durante esta fase de activación, las células T_H estimuladas comienzan a fabricar IL-2, que a su vez estimula a otros precursores T_H y T_H para que formen células T_H activas. La IL-2 secretada por las células T_H actúa junto con otras citocinas como IL-4 (véase más adelante), estimulando a que las células B activadas por el antígeno proliferen y den lugar a células plasmáticas productoras de anticuerpos. El resultado final es la estimulación de varias células por la acción de IL-1 e IL-2, originando las respuestas inmunes humoral y celular.

Otras citocinas

La IL-1 y la IL-2 poseen efectos muy específicos sobre tipos específicos de células. La Tabla 20.4 muestra la acción de otras citocinas. Muchas de estas proteínas afectan a las células involucradas en la inmunidad específica. Por ejemplo, IL-4 e IL-6 actúan primariamente sobre células B. Sin embargo, distintas citocinas afectan a células no inmunes y sirven como importantes moduladores de las respuestas inespecíficas del hospedado. Por ejemplo, el interferón (IFN- α e IFN- γ) es producido por leucocitos e inhibe la replicación viral en prácticamente

Propiedades de algunas citocinas importantes

Citocinas**	Células que las producen	Células diana	Efecto
IL-1	Monocitos Macrófagos Células B	T_H , B	Activación Maduración y expansión clonal
IL-2	T_H	B T_H , T_H	Proliferación de células activadas Induce proliferación
IL-4	T_H	B (previamente estimuladas por el antígeno) B (activadas)	Activación Proliferación, cambio de clase de las Ig
IL-6	T_H	Células B en proliferación	Diferenciación a células plasmáticas
	Monocitos	Células plasmáticas	Secreción de anticuerpos
	Macrófagos	Células progenitoras mieloides	Diferenciación
IL-10	T_H	Macrófagos	Suprime la producción de IL-1
IL-12	Macrófagos	T_H	Diferenciación a T_H
	Células B	T_H	Proliferación
IFN- α	Leucocitos	Células normales	Efecto antivírico
IFN- γ	T_H , T_H , NK	Macrófagos	Activación
		Células normales	Efecto antivírico
GM-CSF	Macrófagos	Células progenitoras mieloides	Diferenciación a granulocitos, monocitos
	Células T		
TNF- α	Macrófagos, NK	Células tumorales	Citotóxico
TNF- β	Células T, B	Células tumorales	Citotóxico

**IL, interleucina; IFN, interferón; GM-CSF, estimulador de la proliferación en monocitos y granulocitos; TNF, factor de necrosis tumoral.

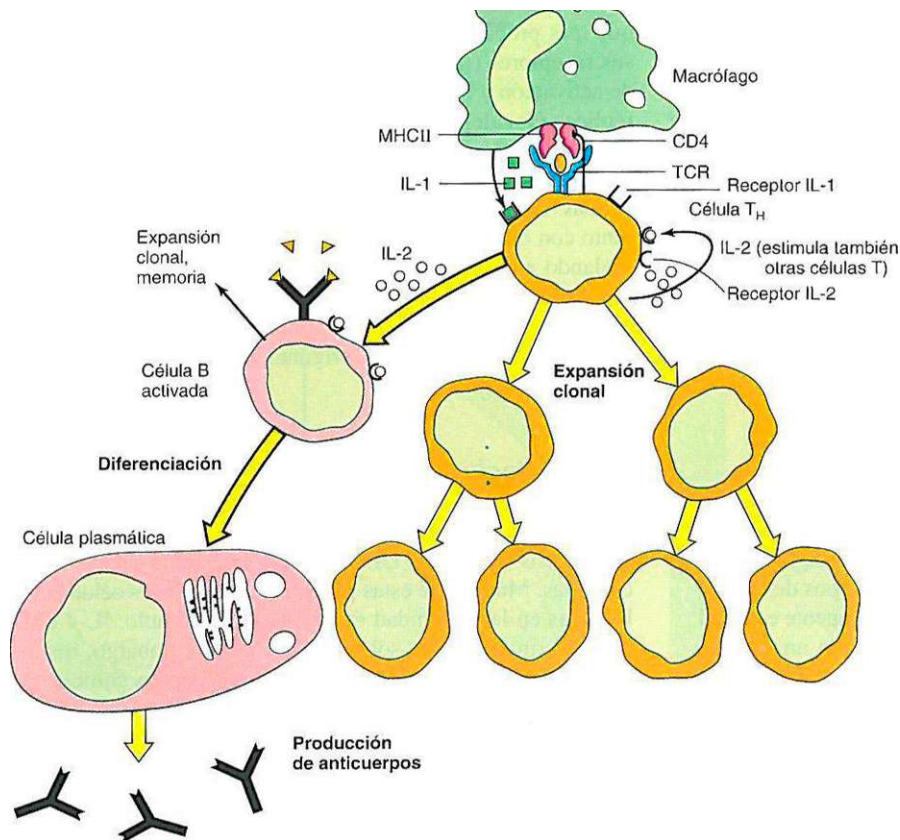


Figura 20.17 Algunos de los efectos principales de las citocinas IL-1 e IL-2.

cualquier célula del organismo. Los factores de necrosis tumoral (TNF- α y TNF- β) son capaces de destruir distintos tumores, siempre que las células que producen TNF puedan acceder al tumor. Los interferones y los TNFs parecen no tener especificidad de célula diana, si bien al ser producidos por células T aumentan los efectos de las células inmunes.

Las citocinas son importantes mediadores de varias funciones inmunes. Algunas citocinas poseen más actividades, interactuando con distintas células normales. Sin embargo, la característica común de estas proteínas heterogéneas es que todas están producidas por leucocitos.

REVISIÓN DE CONCEPTOS

20.8

Las citocinas son mediadores solubles que regulan las interacciones entre los leucocitos. Algunas como IL-1 e IL-2 actúan sólo sobre los leucocitos y son componentes esenciales para la generación de una respuesta inmune específica. Otras, como los IFNs y TNFs, son producidas por leucocitos y actúan en una amplia variedad de células.

%/ ¿Qué células fabrican IL-2? ¿Qué células responden a IL-2?

1/ Compare las células diana de IL-1, IL-4, IL-12, IFN- γ , y TNF- β .

20.9

Inmunidad mediada por células

Los términos **inmunidad mediada por células (CMI, del inglés Cell Mediated Immunity)** e **inmunidad celular** se utilizan indistintamente para describir cualquier respuesta inmune en la que participan directamente las células del sistema inmune específicas de antígeno, pero en la que la producción de anticuerpos o su actividad es secundaria.

La inmunidad celular se diferencia de la inmunidad mediada por anticuerpos en que la respuesta inmune no puede ser transferida de un animal a otro a través de anticuerpos o de un antisuero, sino sólo mediante linfocitos extraídos de la sangre. Los linfocitos que participan en la transferencia de la inmunidad celular son células T activadas.

En la Figura 20.18 se resumen los eventos que se producen cuando se expone un animal a un antígeno. Volvamos ahora nuestra atención a las células T citotóxicas, las células asesinas naturales y las células T del tipo de la hipersensibilidad retardada, y expongamos el papel que cada una juega en la inmunidad celular.

Linfocitos T citotóxicos

Las células *T* citotóxicas (células T_c) (véase Sección 20.4) participan en la destrucción de células extrañas. Como se mencionó anteriormente en relación con el complejo principal de histocompatibilidad (MHC) (véase Sección 20.7), las células T_c

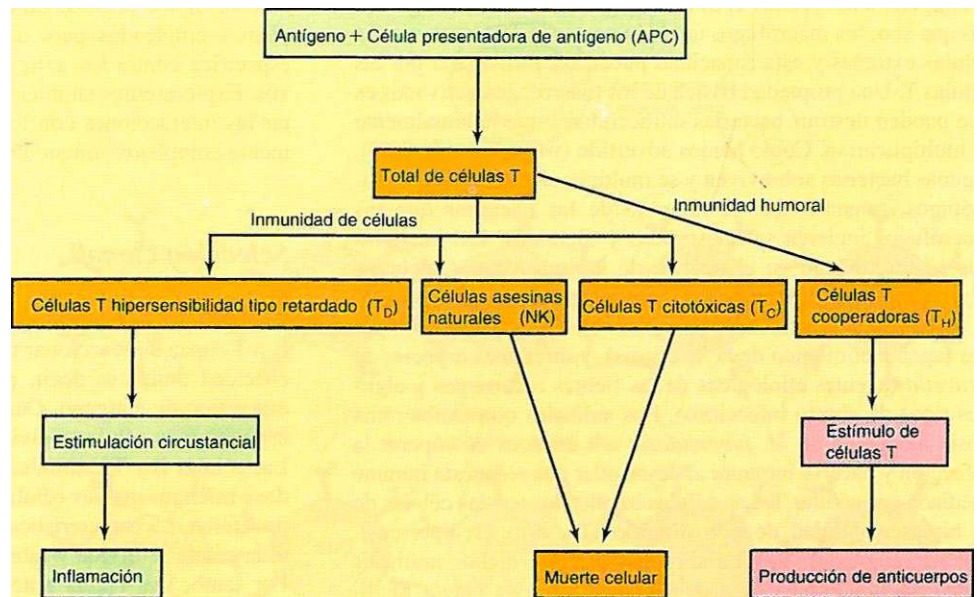


Figura 20.18 Visión de conjunto de la inmunidad celular y su relación con la inmunidad humoral.

reconocen antígenos extraños presentados por moléculas MHC de clase I. Cualquier célula que porte un antígeno extraño, como ocurre en aquellas de los injertos de tejidos incompatibles, o mediante células que hospedan a virus, puede ser lisada por células T_C (en la Sección 20.6 se expuso el reconocimiento de antígenos víricos por células T_C en relación con el receptor de la célula T). Si se hacen injertos entre dos especies diferentes, o incluso entre dos individuos de la misma especie, con distintos antígenos de histocompatibilidad, las células T_C responden destruyendo al tejido extraño, dando lugar al rechazo del injerto. En los trasplantes de órganos en el hombre, se realizan pruebas cruzadas para cerciorarse de que los antígenos de histocompatibilidad del donante y del receptor son los mismos (o muy parecidos). Es deseable una identidad o cuasiidentidad del tejido para el éxito del trasplante de piel o de órganos.

Es necesario el contacto entre una célula T_C y una célula diana para que se produzca la lisis. El inicio de dicho contacto depende del TCR: el complejo Ag-MHC (Figura 20.16a). El contacto con la célula diana provoca el acumulo de los granulos en los sitios de contacto con la célula T, y la liberación de su contenido. Estos granulos contienen monómeros de *perforina*, que traspasa la membrana de la célula diana, se polimeriza y forma un poro. El contenido celular se pierde y la célula diana muere, pero la célula T no se ve afectada. Curiosamente, a diferencia de la naturaleza inespecífica de la acción lítica de los macrófagos activados, las células T_C son eficaces sólo en la lisis de células blanco específicas que contienen al antígeno extraño. La lisis de otras células circundantes ocurre con muy poca frecuencia. Presumiblemente la concentración de *perforina* que escapa del área de contacto celular no es suficiente para dañar a las células cercanas^{1*}.

Células asesinas naturales

Las células asesinas representan una nueva clase de linfocitos distintos a las células T citotóxicas que juegan un papel en la des-

trucción de células extrañas. Las *células asesinas* (NK, del inglés *natural killer*) no son células T ni B. Tras la estimulación, su número no aumenta ni se genera memoria. Sin embargo, las células NK se parecen a las células T_C en su capacidad para destruir células extrañas. Por ejemplo, las células NK utilizan la *perforina* para lisar sus células blanco. Sin embargo, las células NK difieren de las células T_C en que, estas últimas, no pueden destruir en *ausencia* de estimulación por un antígeno específico. Las células NK son capaces de destruir células neoplásicas y células infectadas por virus, *in vitro*, sin previa exposición o contacto con el antígeno extraño. La diana molecular para las células NK parece ser la *ausencia* de proteínas MHC de clase I adecuadas. Las células NK reconocen a las células normales y a sus proteínas de clase I a través de un conjunto de receptores especiales para clase I. La unión de estos receptores a clase I *desactiva* el mecanismo lítico aunque cuando no existe unión el mecanismo lítico es activo y la célula NK lisa a la célula que no reconoce. Como se mencionó previamente, las principales dianas de las células NK son las células tumorales y las células infectadas por virus, que con frecuencia presentan una expresión de clase I disminuida o alterada.

Células T_d y activación del macrófago

Los macrófagos juegan un papel fundamental como **células presentadoras de antígeno (APCs)** tanto en la inmunidad humoral (mediada por anticuerpos) como en la celular, siempre que se trate de antígenos timodependientes. Tal como se ilustra en la Figura 20.16, los macrófagos unen, procesan y presentan

* N. del T.: Este tipo de descripción de la lisis mediada por las células T citotóxicas puede inducir a error, pues puede pensarse que el mecanismo lítico utilizado por los linfocitos T es completamente similar al del complemento. Esto es verdad en parte, pero una diferencia fundamental es que los linfocitos T citotóxicos son capaces de inducir apoptosis en la célula diana. Este punto es importante porque mediante la apoptosis se induce la destrucción no sólo de la célula diana, sino también de sus ácidos nucleicos. Si la célula diana está infectada por un virus este aspecto es fundamental.

el antígeno a las células T. Sin embargo, como células fagocíticas que son, los macrófagos también captan y destruyen ciertas células extrañas y esta capacidad puede ser estimulada por las células T. Una propiedad básica de los macrófagos activados es que pueden destruir bacterias intracelulares que habitualmente se multiplicarían. Como hemos advertido (véase Sección 20.3), algunas bacterias sobreviven y se multiplican dentro de los macrófagos, mientras que la mayoría de las bacterias que los macrófagos ingieren son destruidas y digeridas. Las bacterias que se multiplican en el interior de los macrófagos incluyen *Mycobacterium tuberculosis*, *M. leprae* (agentes ecológicos de la tuberculosis y lepra, respectivamente), *Listeria monocytogenes* (agente etiológico de la listeriosis), y diferentes especies de *Brucella* (agentes etiológicos de las fiebres recurrentes y algunos tipos de aborto infeccioso). Los animales que reciben una dosis moderada de *M. tuberculosis* son capaces de superar la infección y hacerse inmunes al desarrollar una respuesta inmune mediada por células T. Las células implicadas son las células de la hipersensibilidad de tipo diferido (T_D , esto es hipersensibilidad retardada). Resulta sorprendente que dichos animales inmunizados también fagociten y destruyan, con mayor facilidad, a organismos no relacionados como *Listeria*, y que pueda demostrarse que los macrófagos en el animal inmunizado hayan sido activados pudiendo destruir con más facilidad al invasor.

Los macrófagos no sólo destruyen patógenos extraños, sino que también participan en la destrucción de células extrañas de mamífero. Esto se evidencia en el desarrollo de la inmunidad frente a trasplantes, y constituye un problema importante en el trasplante de órganos y tejidos de una persona a otra. Los macrófagos en algunos casos destruyen igualmente células tumorales. Estas contienen determinados antígenos específicos que no aparecen en células normales, y los tumores se comportan como injertos impuestos al propio hospedador. Resulta bastante evidente que las células tumorales habitualmente son reconocidas y destruidas fundamentalmente por los macrófagos, que son reclutados por citocinas secretadas por células T activadas.

REVISIÓN DE CONCEPTOS

20.9

La inmunidad mediada por células involucra varias células T que son activadas tras la interacción con los complejos MHC-antígeno. Las células T activadas pueden interactuar directamente para destruir células blancas o pueden facilitar la participación de otras células efectoras, especialmente macrófagos, a través de citocinas.

¿Qué antígenos reconocen las células TC?

¿Por qué en algunas ocasiones los macrófagos participan en la respuesta a antígenos específicos?

20.10

Selección clonal y tolerancia inmune

Hemos desarrollado hasta ahora una visión general de la respuesta inmune, especialmente en relación con las moléculas y

mecanismos efectores. En esta sección, tratamos de los mecanismos implicados para dirigir esta respuesta tan potente y específica contra los antígenos extraños potencialmente nocivos. Exploraremos también los mecanismos utilizados para evitar las interacciones con los antígenos propios que son igualmente complejos aunque inocuos.

Selección clonal

La **teoría de la selección clonal** establece que cualquier célula B o T capaz de reaccionar frente a un antígeno posee una especificidad única, es decir, posee en su superficie un receptor específico de antígeno. Cuando es estimulada por un antígeno específico, la célula se divide y fabrica una copia de sí misma. Las células B y T estimuladas por un antígeno siguen dividiéndose mientras que las células no estimuladas por el antígeno no proliferan. La característica clave de la selección clonal es que toda célula se divide y fabrica una réplica exacta de sí misma. Por tanto, una célula reactiva al antígeno produce múltiples copias o clones de sí misma tras el contacto antigénico. Puesto que todos los precursores celulares crean su propio receptor antigénico, los clones resultantes fabrican muchas copias del mismo receptor (Figura 20.19).

Debido a la ilimitada variedad de antígenos disponible, debería existir en el organismo una cantidad enorme de células antígeno específicas, y cada célula debería ser capaz de expandirse en un clon antígeno específico. Sin embargo, las células antígeno específicas deben evitar interacciones y reacciones inmunes con los antígenos *propios* en el hospedador. ¿Cómo se produce esto? La teoría de la selección clonal nos da otra vez una respuesta. El fin último de la respuesta inmune consistiría en desarrollar la capacidad para discriminar entre los invasores extraños (no propios y potencialmente perjudiciales) y los tejidos del hospedador (propios e inofensivos) mediante la eliminación o inactivación de los clones auto-reactivos. Esta capacidad para la *falta* de respuesta inmune antígeno específica se conoce como **tolerancia** y se produce en células T y B. Ahora vamos a considerar el desarrollo normal de la tolerancia. En la Sección 20.16, examinaremos el fallo en la tolerancia y el consiguiente desarrollo de autoinmunidad.

Tolerancia inmune

El desarrollo de la tolerancia T tiene lugar en el timo, un órgano del tamaño de una nuez que se sitúa en el mediastino, encima del corazón. El timo juega un papel crítico en la maduración y desarrollo de células T y es por ello un órgano linfóide primario (Figura 20.3). En el primer estadio de la maduración de células T llamado *selección positiva*, los linfocitos que se convertirán en células T abandonan la médula ósea y colonizan el timo, vía sanguínea, en la mayoría de los casos, o desde los conductos linfáticos (Figura 20.20). Después de la entrada, algunas de estas células T inmaduras a través de sus receptores de células T (TCRs) recién desarrollados, interactúan con moléculas propias del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) en el timo. Las células T que no se unen a moléculas

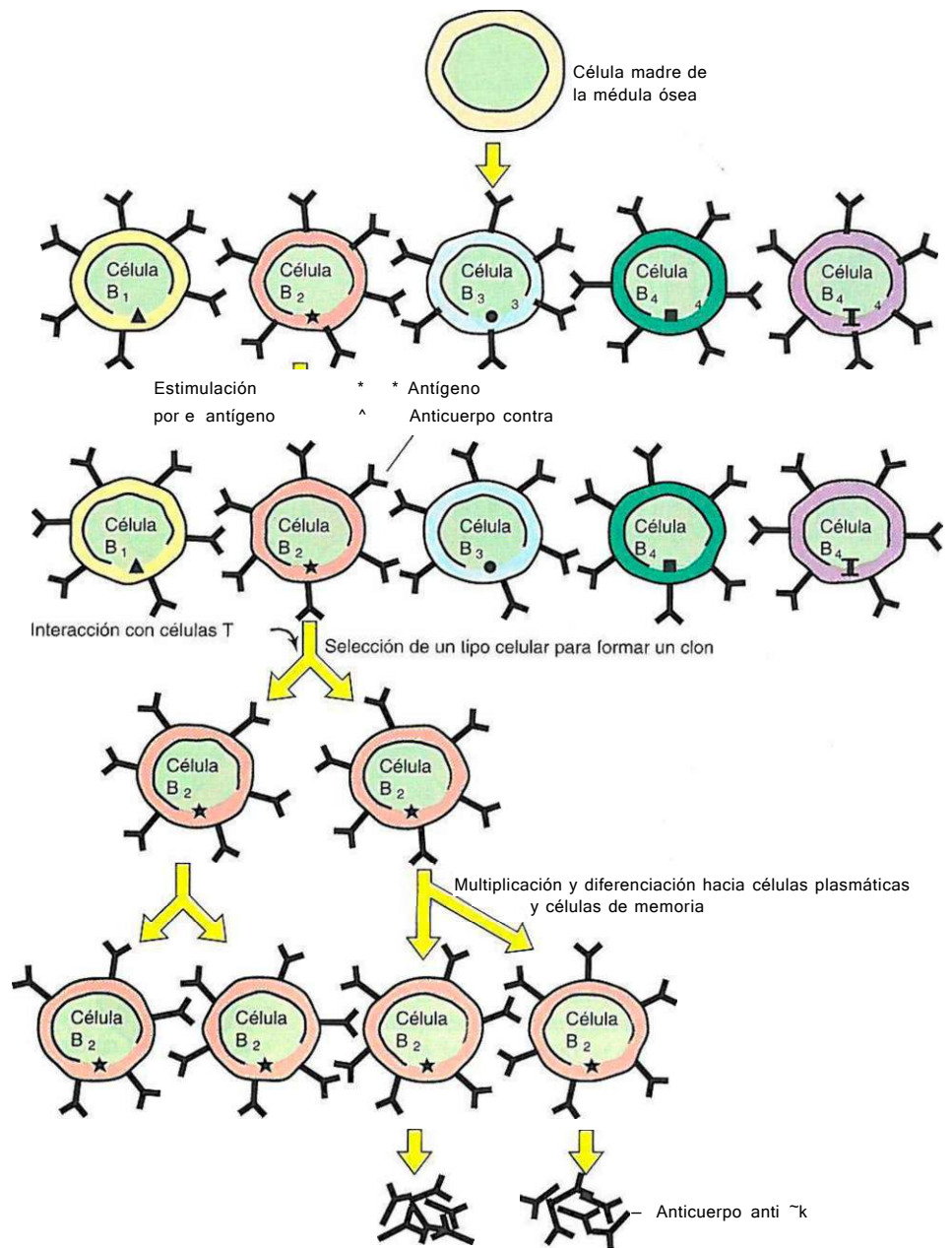


Figura 20.19 Selección clonal. Expansión de una determinada línea celular productora de anticuerpo tras la estimulación con el antígeno.

Las MHC son programadas después para morir, un proceso que se denomina *apoptosis*, mientras que las células T que se unen a proteínas MHC del timo siguen el proceso de maduración y proliferación. De ahí que la selección positiva *escoja* a las células T que *pueden* reconocer a las proteínas MHC propias y *elimine* aquellas que *no pueden* reconocer las proteínas MHC propias.

La segunda etapa del desarrollo de células T se denomina *selección negativa*. Después de la proliferación, las células T seleccionadas positivamente siguen reaccionando a las moléculas MHC que se aComplejan con el antígeno (véase Sección 20.7). La mayoría de los antígenos en el timo son propios.

Las células T que reaccionan con estos autoantígenos del timo son potencialmente perjudiciales porque pueden llevar a la destrucción de los propios tejidos. Por tanto, estas células T *autorreactivas* deben eliminarse. Las células T autorreactivas acaban por morir. Las células T que no mueren, abandonan el timo y migran al bazo y a los ganglios linfáticos donde contactan con antígenos extraños presentados por células diana, o por células presentadoras de antígenos (APCs), como los linfocitos B (Figura 20.20).

Este mecanismo de inducción de tolerancia se denomina *eliminación clonal*, los precursores de los clones de células T que no son útiles, o incluso son perjudiciales, son eliminados.

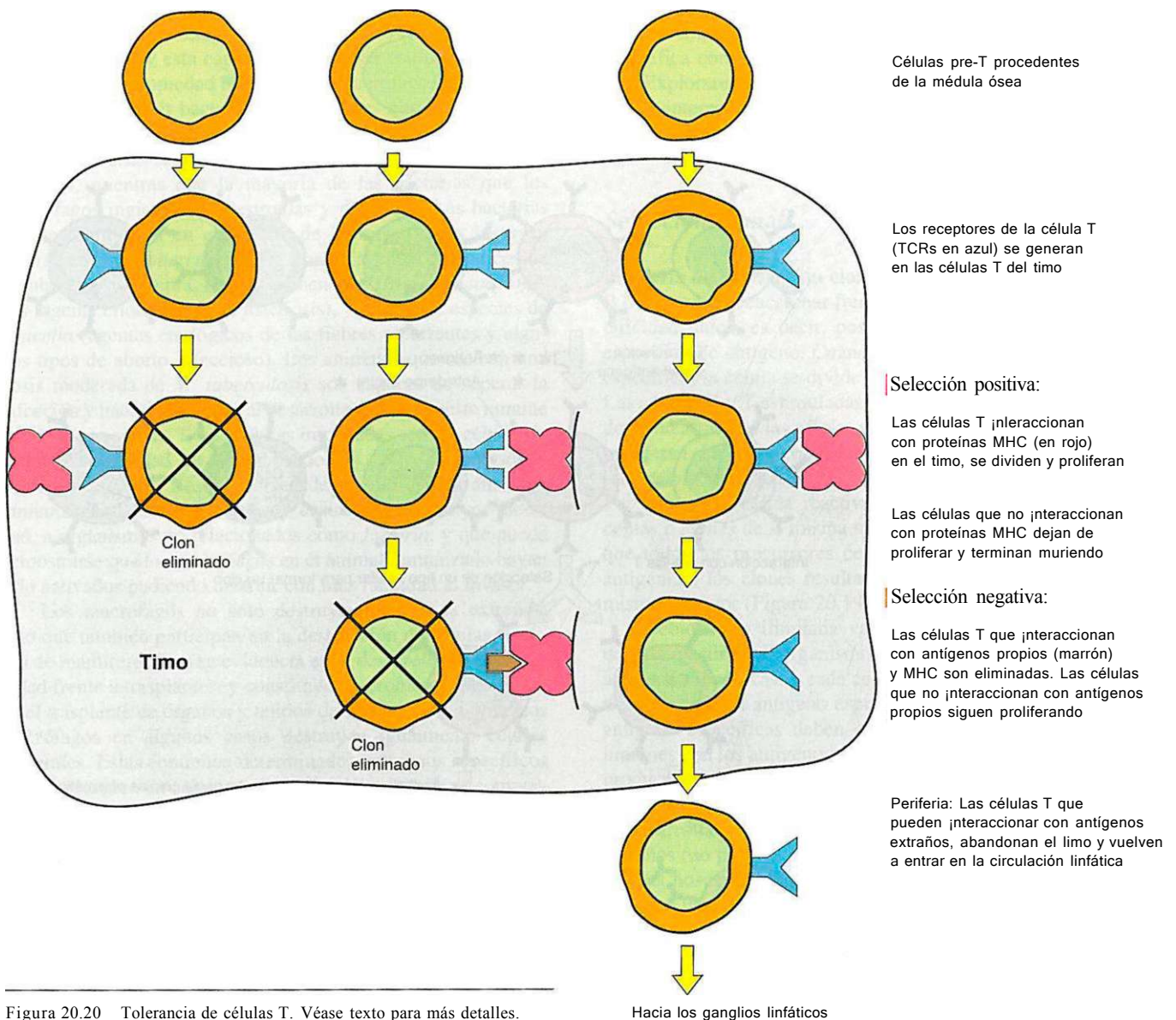


Figura 20.20 Tolerancia de células T. Véase texto para más detalles.

durante el desarrollo. Existe también cierta evidencia en favor de otro mecanismo de tolerancia. En algunos casos, los clones de células T auto-reactivos evitan de alguna manera la destrucción, aunque llegan a ser tolerantes a los antígenos propios a través de interacciones en los órganos linfoides secundarios. Este mecanismo se llama *emergia clonal*. Sin embargo, estos clones permanecen en la sangre y, en ciertos individuos, pueden reactivarse posteriormente. Estos clones auto-reactivos reactivados se asocian frecuentemente con enfermedades autoinmunes (véase Sección 20.16).

También es necesario el desarrollo de tolerancia inmune en las células B, por cuanto los anticuerpos que producen las células B auto-reactivas (**autoanticuerpos**) pueden lesionar los tejidos del hospedador [véase Sección 20.16]. El mecanismo para lograr la tolerancia de células B es paralelo al que ya se ha visto para la tolerancia de células T.

Las células B sufren también eliminación clonal; muchas células B auto-reactivas son eliminadas durante el desarrollo. Además, la anergia clonal también tiene una función; las células que son auto-reactivas no se desarrollan tras la exposición al antígeno. Son posibles varias explicaciones para explicar la inducción de anergia clonal en células B. Esta puede ser el resultado de altas concentraciones de autoantígenos que indefectiblemente están presentes. Estos antígenos ocupan permanentemente los receptores de superficie de células B, impidiendo, por mecanismos que todavía no están claros, que se responda frente a ese antígeno. La anergia clonal de células B también puede provenir de la ausencia de células T antígeno-reactivas (al haber sido eliminadas durante la maduración de células T) que ayudan a las células B a producir anticuerpos, como se expondrá en la próxima sección.

REVISIÓN DE CONCEPTOS

20.10

La única función del timo es producir clones de células T que no reaccionan con los antígenos propios. La mayoría de las células T auto-reactivas son eliminadas durante el desarrollo y maduración tímicos. Otras células T, así como células B, son anergizadas en los órganos linfoides secundarios aunque ocasionalmente pueden reactivarse y producir enfermedad auto-inmune.

%/ Distinga entre selección de células T positiva y negativa.

✓ ¿ En qué se diferencian la eliminación y la anergia clonales?

20/11

Mecanismo de formación de las inmunoglobulinas

La formación de anticuerpos es un proceso complejo que se dividirá en dos secciones distintas. En esta sección, definiremos la naturaleza de una respuesta de anticuerpos típica, especialmente en relación con las interacciones celulares necesarias para producir inmunidad eficaz. En la próxima sección, exploraremos la singularidad de los mecanismos genéticos que se utilizan para generar la asombrosa diversidad de anticuerpos que requiere el hospedador para la defensa específica frente al antígeno.

La producción de inmunoglobulinas en respuesta a la estimulación por antígenos implica a células T, células B y células presentadoras de antígeno (APCs. *verhi gratin* macrófagos) y la estrecha interacción entre diferentes moléculas de la superficie celular como se explicó con anterioridad. Como hemos descrito, las APCs actúan de forma inespecífica para ingerir antígenos extraños. Una vez que es procesado el antígeno, la APC lo presenta a la célula T_H. El antígeno también puede ser presentado a la célula T por las células B. Tras el reconocimiento, la célula T, libera citocinas como IL-2, IL-4 e IL-6 (véase Sección 20.8) que estimulan a las células B para comenzar la síntesis de anticuerpo. Aunque la interacción inicial entre el antígeno y la APC puede ser inespecífica, todas las fases posteriores del proceso de la producción de anticuerpos son muy específicas; las moléculas de receptor sobre las superficies de células T (receptores de células T) (véase Sección 20.6) y células B (moléculas de anticuerpo) (véase Sección 20.5) son muy específicas para ese antígeno.

El control genético de la producción de anticuerpos es también un proceso extraordinariamente complejo. Un animal puede ser capaz de fabricar aproximadamente 1.000 millones de moléculas de anticuerpos estructuralmente distintas. Aunque esto parece suponer, en principio, una demanda enorme sobre el potencial del código genético del organismo, veremos que solamente se necesitan relativamente unos pocos genes para codificar esta inmensa diversidad de anticuerpos, lo que se debe a un fenómeno conocido como **reordenamiento génico**. Durante el desarrollo de los linfocitos en la médula ósea, las células B sufren reordenamientos génicos y delecciones para finalmente dar lugar a dos unidades transcripcionales comple-

tas de la molécula de anticuerpo, una de las cuales codifica para la síntesis de una cadena pesada específica y la otra para una cadena ligera. El número de posibles reordenamientos génicos, incluso implicando a un número relativamente pequeño de genes, es suficiente para explicar la diversidad de moléculas de inmunoglobulinas (véase Sección 20.12). Durante el desarrollo de células T se producen reordenamientos similares que dan lugar a la conocida diversidad de receptores de células T. Ahora entramos en detalle sobre las fases de la producción de anticuerpos, comenzando con la entrada de un antígeno y terminando con la producción de un anticuerpo específico que va a reaccionar con dicho antígeno.

Exposición al antígeno

Al considerar el mecanismo de formación de los anticuerpos, debemos explorar en primer lugar el destino del antígeno en el organismo del hospedador. Los antígenos son transportados por todo el cuerpo a través de la sangre y el sistema linfático, tal como se ilustra en la Figura 20.3. Los sitios principales donde se localiza el antígeno en el organismo son los ganglios linfáticos, el bazo y el hígado. Sin embargo, los anticuerpos se forman solamente en el bazo y los ganglios linfáticos, y no en el hígado. Si se inyecta el antígeno por vía intravenosa, el bazo es el lugar más importante en la fabricación de anticuerpos, mientras que cuando la administración es subcutánea, intradérmica e intraperitoneal son los ganglios linfáticos los sitios donde predomina la formación de anticuerpos. Fragmentos de un ganglio linfático o del bazo de animales inmunizados siguen produciendo anticuerpos cuando se colocan en un cultivo de tejidos o al transferirse a otros animales no inmunizados.

Después de la primera inoculación del antígeno, existe un lapso de tiempo (período de latencia) antes de que aparezca el anticuerpo específico en la sangre, seguido por un aumento progresivo en el *título* de anticuerpos (es decir, la concentración) para después disminuir ligeramente. Esta reacción a la exposición a un solo antígeno se denomina **respuesta primaria de anticuerpos** (Figura 20.21). Tras la segunda exposición al antígeno, algunos días o semanas después, el título aumenta rápidamente hasta un pico de 10-100 veces sobre el nivel de la primera exposición. Este importante incremento en el título de anticuerpos se conoce como **respuesta secundaria de anticuerpos** (Figura 20.21). Con el tiempo, este título vuelve a disminuir, si bien exposiciones ulteriores al mismo antígeno pueden volver a elevarlo. Esta respuesta secundaria es el fundamento de la técnica de la vacunación conocida como «dosis de refuerzo» (por ejemplo, las dosis anuales de refuerzo que se administran, a los animales domésticos), cuyo objeto es mantener altos niveles de anticuerpos circulantes específicos frente a un antígeno determinado.

Interacciones celulares

¿De qué forma cooperan las células B, las células T_H y las APCs para fabricar inmunoglobulinas? Las APCs implicadas en la producción de anticuerpos incluyen macrófagos, células dendríticas y células B. Los macrófagos son capaces de procesar y presentar inespecíficamente el antígeno a las células T. Las

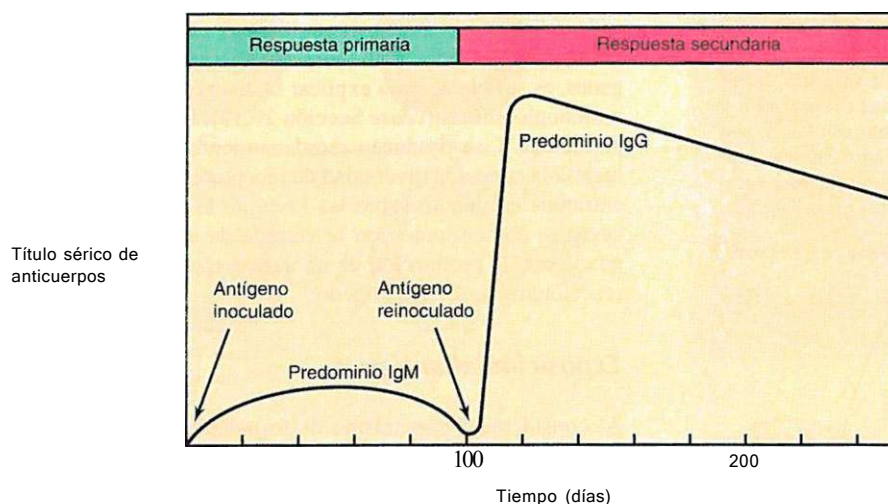


Figura 20.21 Respuestas primaria y secundaria de anticuerpos. La respuesta secundaria puede ser de 10 a 100 veces mayor que la respuesta primaria.

células dendríticas son otro grupo de células fagocíticas que junto a los macrófagos, son capaces de presentar antígeno. Poseen también proteínas de clase II sobre su superficie y se encuentran en la corteza de los ganglios linfáticos (véase Figura 20.3c). Sin embargo, la célula B es probablemente la APC más eficaz (Figura 20.22). La célula B como APCs, a través de sus receptores de inmunoglobulinas en la superficie celular, son capaces de unir el antígeno e internalizarlo. Después el antígeno es procesado (digerido) (Figura 20.16/?). Los péptidos resultantes se expresan en la superficie unidos a proteínas de clase II del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) (Figura 20.22). El macrófago y la célula dendrítica funcionan como APC de una forma básicamente igual, y, a diferencia de las células B, no poseen un receptor antígeno-específico de tipo inmunoglobulina. Sin embargo, los macrófagos y los dendrocitos se adhieren eficazmente a los antígenos extraños, lo que facilita su fagocitosis. A continuación, los antígenos son procesados y presentados asociados a antígenos de clase II en la superficie celular, como ocurre con las células B. El paso siguiente es que la APC presenta el complejo antígeno-MHC a la célula T, que lo reconoce a través del receptor de la célula T (TCR). Las moléculas MHC de clase II de las APCs interactúan específicamente con la molécula CD4 de las células T_H (Figura 20.16b), centrándose en las células T_H , la presentación antígenica. La célula T_H a través de la acción de las citocinas que se liberan (véase Sección 20.8), estimulan la proliferación de la célula B y la formación de muchas copias de sí misma, originándose un clon de células B. Este grupo de células producidas por expansión clonal producen exclusivamente anticuerpos de especificidad única.

Posteriormente se produce la diferenciación del clon de células B activado que conduce a la generación de gran cantidad de células productoras de anticuerpos llamadas **células plasmáticas** y a células B especiales denominadas **células de memoria** (Figura 20.22). Las células plasmáticas son de vida relativamente corta (menos de 1 semana) pero secretan enor-

mes cantidades de anticuerpo durante este período. Por el contrario, las células de memoria son células de vida muy larga y, tras la reexposición al estímulo antigénico inicial, rápidamente se transforman en células plasmáticas y comienzan a secretar anticuerpos. Esto explica la *memoria inmunológica*, también conocida como respuesta secundaria, que da lugar a una producción rápida y más abundante de anticuerpos tras una estimulación antigénica repetida (Figura 20.21). Una respuesta secundaria habitualmente implica un cambio en la clase de anticuerpo, casi siempre de IgM a IgG. Este proceso se denomina *cambio de clase* y está mediado por la IL-4 producida por la célula T_H que activa a la célula B de memoria (véase Tabla 20.4).

Algunos antígenos pueden estimular la producción de un nivel bajo de anticuerpos en *ausencia* de interacciones previas con células T (se les llama *antígenos T independientes*). La mayor parte de los antígenos T independientes son grandes polímeros con determinantes antigénicos repetidos (por ejemplo, polisacáridos). Las inmunoglobulinas producidas frente a los antígenos T independientes son por lo general de la clase IgM y tienen una baja afinidad por el antígeno. Además, las células B que responden a los antígenos T independientes no poseen memoria inmunológica.

Hasta aquí los principios generales para la producción de anticuerpos. Cada antígeno (hablando con propiedad, cada determinante antigénico) potencia, a través de la acción de APCs y de las células T_H auxiliares, el crecimiento de una línea de células B *diferente*, que es capaz de fabricar anticuerpos que reaccionan específicamente con ese antígeno. De esta forma, el hospedador normal puede responder probablemente a 1.000 millones de antígenos distintos, desarrollando un clon específico de células B en respuesta a la estimulación por el antígeno.

Volvamos ahora a la orquestación de estos eventos inmunes y profundicemos en la diversidad molecular de anticuerpos y receptores de células T, desde el punto de vista de la genética, a nivel del ácido desoxirribonucleico (DNA).

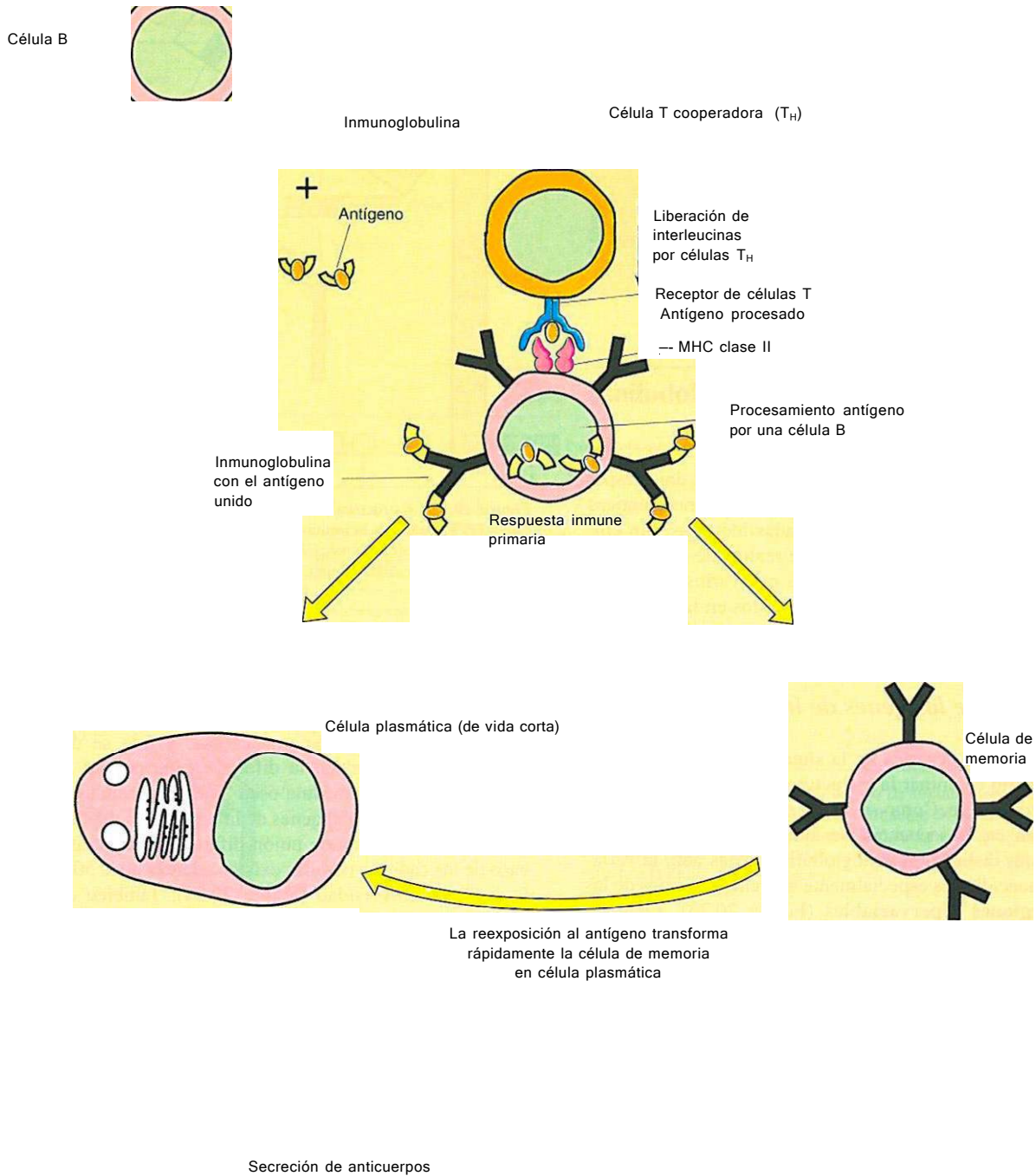


Figura 20.22 Interacción célula T-célula B y producción de anticuerpos. La célula B funciona como una célula presentadora de antígeno (APC) y concentra el antígeno con receptores específicos de inmunoglobulina. Tras el procesamiento, el antígeno es presentado a la célula T_H por una molécula MHC de clase II. La célula T_H a su vez envía una señal a la misma célula B para que proliferé y forme células plasmáticas (productoras de anticuerpos) o células de memoria. Después de una posterior exposición al antígeno, parte de las células de memoria se transforman rápidamente en células plasmáticas.

REVISIÓN DE CONCEPTOS

20.11

La producción de anticuerpos se inicia por el contacto del antígeno a través de una APC, con una célula TH antígeno-específica. A su vez, la célula TH envía señales para que la célula B específica de antígeno produzca anticuerpos. El antígeno actúa como un agente selectivo, provocando solamente la proliferación de aquellos clones de células que reaccionan con un antígeno concreto. Los clones permanecen activos durante años como células de memoria e inmediatamente pueden ser estimulados tras la exposición al antígeno.

%/ ¿Qué APCs participan en la presentación antigénica?

¿De qué manera las células T_H activan a las células B antígeno-específicas?

20.12

Genética y evolución de las inmunoglobulinas y de los receptores de las células T

Si un linfocito B produce inmunoglobulinas de una única especificidad, un gen debería codificar dos cadenas ligeras idénticas y otro gen codificaría dos cadenas pesadas idénticas. Sin embargo, este no es el caso. Lo que ocurre realmente es que cada cadena ligera o pesada está codificada por varios genes que sufren una serie compleja de reordenamientos en las células B maduras. ¿Cómo se producen esta serie de eventos?

Organización de los genes de inmunoglobulinas

Para comprender la genética de la síntesis de inmunoglobulinas, es necesario examinar la estructura de las inmunoglobulinas con mayor detalle. Como se ilustra en la Figura 20.9, existe una variación en la secuencia de aminoácidos en la *región variable* de las distintas inmunoglobulinas. Más aún, la variabilidad aminoacídica es especialmente aparente en varias de las llamadas **regiones hipervariables** (Figura 20.23). En estos sitios hipervariables se produce realmente la combinación del anticuerpo con el antígeno. Cada región variable en las cadenas ligera y pesada posee tres regiones hipervariables. Una parte de la tercera región hipervariable de la cadena pesada está codificada por un gen distinto denominado gen D (diversidad), estando codificados los otros dos sitios hipervariables por el propio gen de la región variable (V) (Figura 20.24). Además, en la unión entre la región de diversidad y los genes de la región constante, existe una franja de nucleótidos de alrededor de 40 bases de longitud, denominada región J (unión, del inglés *joining*) que está codificada por un gen diferente (*gen J*). La tercera región hipervariable está codificada por una porción del gen V y por los genes D y J completos. Por último, la región constante que define la clase de la molécula de inmunoglobulina está codificada por el gen C (constante). Las cadenas ligeras se hallan codificadas por los genes de sus propias regiones variables, genes de la región de unión y genes de la región constante, pero no contienen regiones de diversidad (Figura 20.24).

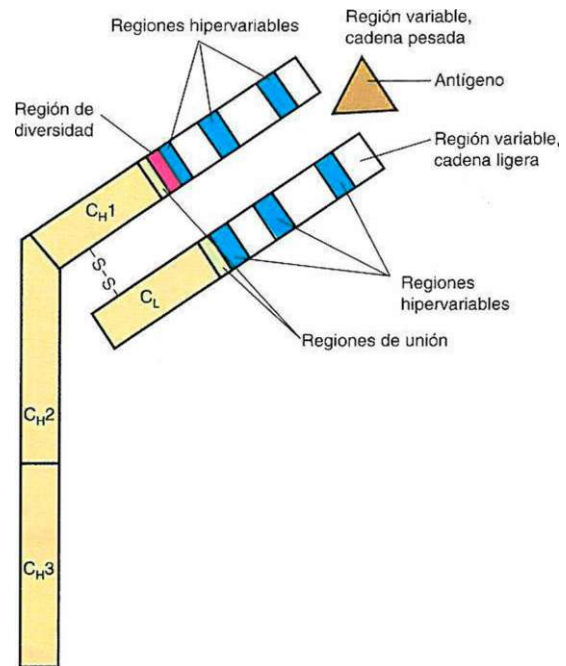


Figura 20.23 Estructura detallada de las regiones variables de las cadenas ligera y pesada de la inmunoglobulina. Se muestra solamente una mitad de una molécula de inmunoglobulina. CH y CL son las regiones constantes de las cadenas pesada y ligera, respectivamente.

Reordenamientos génicos en linfocitos

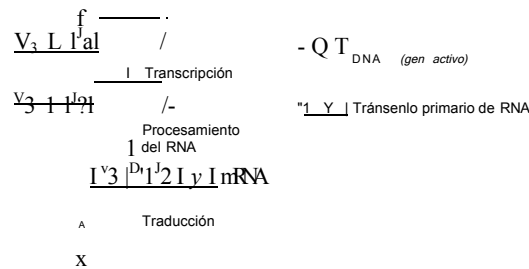
En la Figura 20.2 se muestra el origen de las células del sistema inmune. En los linfocitos existe toda la diversidad genética que se necesita para fabricar anticuerpos, y ésta se desarrolla a medida que se produce la diferenciación celular a partir de células madre de la médula ósea. Todas las células B *inmaduras* contienen unos 150 genes de la región variable de la cadena ligera y 5 secuencias de unión diferentes, mientras que en el caso de las cadenas pesadas existen además unos 50 genes para la región de diversidad (Figura 20.24). También existen 9^{*} genes correspondientes a las regiones constantes de cadenas pesadas y 2 genes de regiones constantes de cadenas ligeras (a y λ). Los genes V, J, D y C no se yuxtaponen, sino que se encuentran separados por secuencias no codificantes (intrones) que se encuentran normalmente en los genes de los eucariotas y facilitan sus reordenamientos génicos (véase Sección 6.1). Durante la maduración de los linfocitos B se produce la recombinación génica en las células B, lo que da lugar a la construcción de un *gen de cadena ligera activo*, y otro de cadena pesada, que se transcriben y traducen para fabricar las cadenas ligera y pesada de la molécula de inmunoglobulina (Figura 20.24). En todas las células B, los segmentos V, D y J *seleccionados aleatoriamente* se fusionan merced a la acción de enzimas que delecionan el DNA intercalado. El gen activo (que contiene una secuencia intercalada entre el segmento génico VDJ y el segmento génico de la región constante) se transcribe,

* N. del T.: Aunque en la figura sólo se indican 5 genes de las cadenas pesadas, hay que tener en cuenta que en realidad existen 4 isótipos de IgG (IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4) y dos isótipos de IgA (IgA1 e IgA2).

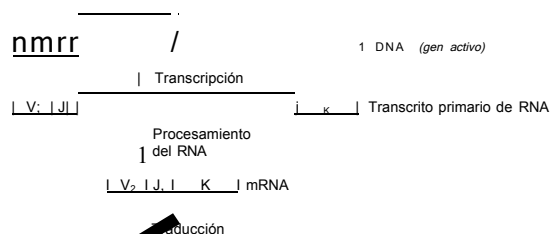
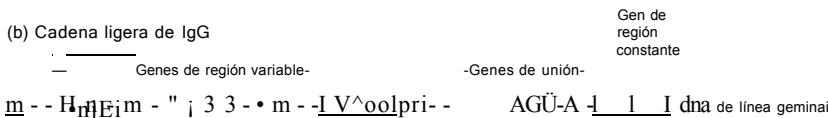
(a) Cadena pesada de IgG



Formación de un gen activo durante el desarrollo del linfocito (recombinación somática)



(b) Cadena ligera de IgG



(c) Suma de A y B



Figura 20.24 Reordenamiento génico de inmunoglobulinas en linfocitos B inmaduros y mecanismo de la formación de la forma activa del gen. (a) Cadena pesada, (b) Cadena ligera kappa. La cadena ligera lambda está codificada en un locus situado en otro cromosoma, (c) Formación de una mitad de la molécula de anticuerpo.

y el ácido ribonucleico (RNA) primario resultante es procesado para dar lugar al RNA mensajero final (Figura 20.24).

El gen final correspondiente a la cadena ligera y pesada en una célula B determinada sufre un *reordenamiento aleatorio*. El número de combinaciones génicas posibles puede llegar a ser de hasta 1.000 millones de moléculas de anticuerpo distintas. Sin embargo, para cada célula B, únicamente se produce un reordenamiento capaz de producir una sola proteína, tanto para los genes de cadenas ligeras como pesadas. De ahí que cada célula B produzca una sola inmunoglobulina. En otras palabras, cada célula B fabrica copias de una sola inmunoglobulina con regiones variables idénticas para las cadenas pesadas y otro tipo de región variable, también idéntica para todas las cadenas ligeras.

Durante la formación de un gen activo para la cadena pesada del anticuerpo se produce aún más diversidad. El mecanismo de unión del DNA parece ser más bien impreciso y varía a menudo en el sitio de las fusiones VDJ en unos pocos nucleótidos. Esto es, desde luego, suficiente para modificar uno o

dos aminoácidos y este mecanismo, aparentemente poco preciso, es fundamental para añadir más diversidad. Finalmente, tras la exposición de las células B al antígeno, frecuentemente se producen cambios mutacionales. Estas mutaciones somáticas seleccionadas activamente por el antígeno proporcionan mayor diversidad aún a las inmunoglobulinas (véase el recuadro, anticuerpos catalíticos, enzimas y selección natural).

En consecuencia, una cantidad relativamente pequeña de DNA puede codificar un gran número de anticuerpos. El descubrimiento de los reordenamientos génicos en linfocitos ha tenido un gran impacto en nuestra comprensión de la genética eucariota. Tradicionalmente se ha asumido que cualquier célula de un organismo multicelular era genéticamente idéntico (exceptuando cualquier mutación en células somáticas) y que las diferencias entre los tipos celulares eran consecuencia de la distinta expresión génica. No es éste el caso de los linfocitos B ya que en los vertebrados existen varios millones (o tal vez miles de millones) de linfocitos genéticamente distintos que son el producto de recombinación de *células somáticas*. Los linfocitos

ATENCIÓN A . . .

ANTICUERPOS CATALÍTICOS, ENZIMAS Y SELECCIÓN NATURAL

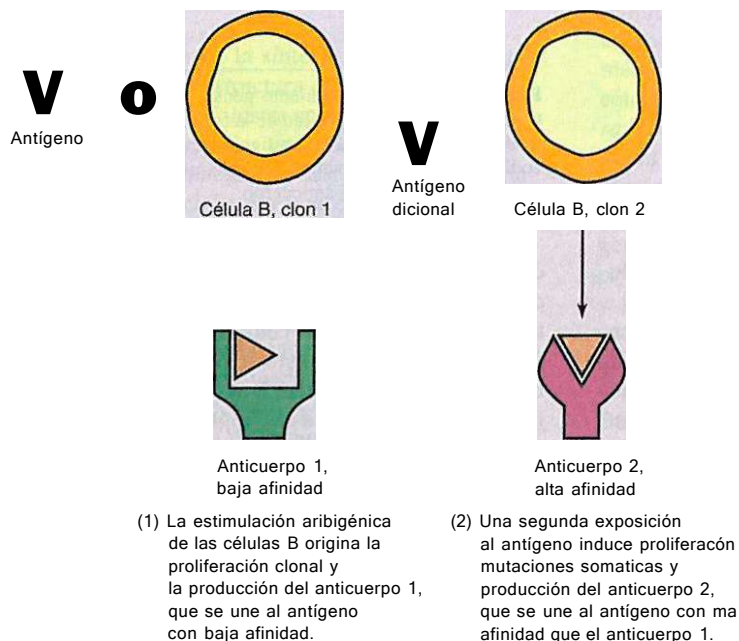
La teoría de la selección clonal (véase Sección 20.10) establece que la interacción con el antígeno es la fuerza motriz que estimula a las células B específicas de antígeno, a expandirse y a producir anticuerpos, que después reaccionan con el antígeno original. Los inmunólogos piensan que la selección clonal es una característica fundamental de la respuesta inmune. Sin embargo, existen otros factores que ayudan a modular la fuerza final de la interacción antígeno-anticuerpo, incluso después de que el clon original haya sido seleccionado por el antígeno. Estos factores se denominan en conjunto mecanismos *somáticos* porque no afectan a los genes de la línea germinal original, sino que actúan sobre los genes de Ig reorganizados en las células B maduras. En consecuencia, cada clon, incluso si deriva de la misma población de genes de la línea germinal, puede sufrir cambios somáticos distintos que determinarán a la postre la producción de un anticuerpo diferente.

Como resultado de los mecanismos somáticos, una segunda exposición al antígeno inmunizante produce habitualmente un cambio en la clase de anticuerpo predominante (generalmente de IgM a IgG (cambio de clase) y un incremento en la fuerza de interacción antígeno-anticuerpo (afinidad). Esta *afinidad de maduración* es uno de los factores responsables de la altísima eficacia de la respuesta secundaria. ¿Cómo sucede esto? Quizá la mejor evidencia proviene de los estudios experimentales utilizando anticuerpos que funcionan como enzimas, los llamados *abzimas*. Los abzimas son anticuerpos que van dirigidos contra sustratos y moléculas análogas. Los abzimas llevan a cabo reacciones catalíticas sobre sustratos a los que se unen y dan lugar a una modificación covalente del sustrato y la formación, por tanto, de un producto. Los mecanismos de reacción implicados en la catálisis mediada por anticuerpo parecen ser idénticos a los que median las clásicas interacciones enzima-sustrato (véase Sección 4.5). Desafortunada-

mente, la mayoría de los abzimas poseen una afinidad muy baja por el sustrato y no transforman eficazmente el sustrato en producto. Sin embargo, cuando los clones de células B productores de abzimas son reexpuestos al antígeno, la afinidad por el sustrato aumenta habitualmente para algunos anticuerpos (véase figura). Datos experimentales han demostrado que un abzima producido por un clon aislado después de repetidas inmunizaciones se une al sustrato con una fuerza 10.000 veces superior que el anticuerpo original.

Cuando se realizaron estudios del clon que ha dado lugar a un mejor abzima, se descubrieron varios principios básicos. En primer lugar, se observaron alteraciones en nueve aminoácidos del abzima de alta afinidad, cuando se compararon con el abzima del clon original. Estas alteraciones se correlacionaban con el aumento de la afinidad de unión por el sustrato y se debían a mutaciones en los genes de la región V de la cadena pesada y ligera, casi siempre en las regiones hipervariables. Sorprendentemente, las mutaciones no afectaron a los aminoácidos que interaccionaban directamente con el sustrato; las mutaciones se produjeron en áreas adyacentes que afectaban a la forma del sitio de unión.

Los bioquímicos especializados en el estudio de las proteínas están muy ilusionados con estos resultados que proporcionan una vía sencilla para diseñar proteínas catalíticas de elevada eficacia. La posibilidad de desarrollar anticuerpos catalíticos útiles a través de inmunizaciones repetidas con análogos del sustrato, abre un campo ilimitado de aplicaciones prácticas. Mediante una selección cuidadosa del sustrato antigénico adecuado, se puede inducir a las células B a la fabricación de abzimas que van a reaccionar virtualmente con cualquier estructura imaginable. Por último, este sistema proporciona un modelo experimental magnífico para investigar la selección natural y la evolución de los abzimas utilizando el antígeno sustrato como un agente selectivo bien definido.



son las únicas células eucariotas en las que se ha descubierto este tipo de reordenamientos génicos.

La selección de ciertas células B como precursoras de un clon productor de inniunoglobulinas es, hasta cierto punto, una función de la historia antigénica del hospedador. A partir del repertorio variado de linfocitos B maduros que se ha presentado con anterioridad, una célula B específica es estimulada por el antígeno para que se expanda y forme un clon de células B, todas con idéntica constitución genética (véase Figura 20.19). La teoría de la selección clonal predice que muchos tipos de células B permanecerán «silenciosos» de por vida dentro del organismo del hospedador, debido a la falta de exposición al correspondiente antígeno. Es de esperar que este enorme repertorio de diversidad de anticuerpos se halle disponible para una futura selección si se encuentra con nuevos inmunógenos.

Genética de los receptores de la célula T

En la Sección 20.6 hemos expuesto pormenorizadamente la estructura del receptor de la célula T (TCR). Recordemos que los TCRs reconocen fragmentos de antígeno embebidos en el complejo principal de histocompatibilidad (MHC) que se expresa en la superficie celular. Por tanto, los TCRs deben ser capaces de reconocer al mismo tiempo regiones conservadas de la molécula MHC y un determinante antigénico específico. ¿Cómo se explica esto en términos genéticos?

Al igual que las inniunoglobulinas, los TCRs contienen regiones constantes y variables de secuencias de aminoácidos. De ahí que no sorprenda que, al igual que ocurre con las inniunoglobulinas, un cierto número de genes codifiquen las regiones variables de los TCRs. En el ratón, la cadena posee alrededor de 100 genes para la región variable y unos 50 segmentos de unión, mientras que la cadena β tiene 25 genes variables, 2 genes de diversidad y 12 segmentos de unión. Además, existen pequeños segmentos de 1 a 6 nucleótidos que pueden insertarse en los TCRs entre los segmentos génicos variables, de diversidad y de unión. Por tanto, el número de combinaciones posibles

de secuencia es enorme, probablemente del orden de 10^4 que es incluso mayor que el número de combinaciones de inniunoglobulinas.

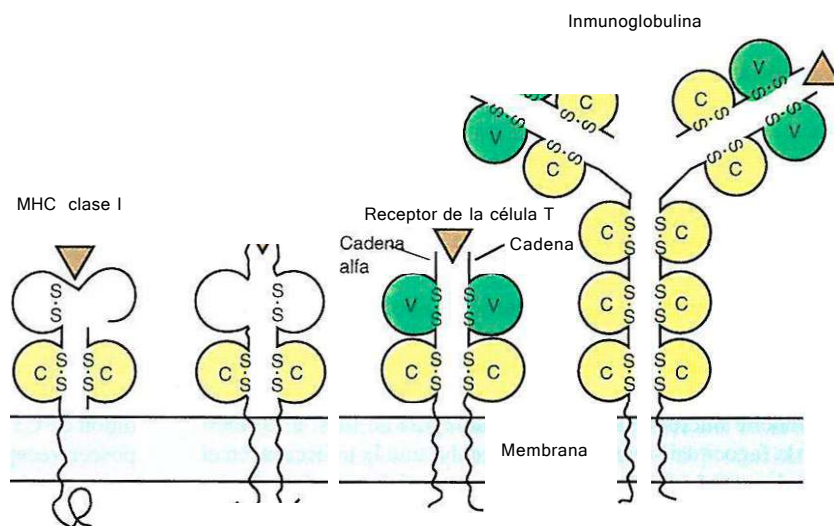
Partiendo de las similitudes estructurales y genéticas entre inniunoglobulinas y TCRs, es fácil imaginarse que son moléculas relacionadas evolutivamente, posibilidad que vamos a considerar a continuación.

Evolución de las moléculas del sistema inmune

Desde un punto de vista evolutivo, las tres categorías de moléculas específicas inmunológicamente, las proteínas MHC, los TCRs y las inniunoglobulinas, comparten algunas características estructurales comunes y representan sin duda moléculas íntimamente relacionadas. El clonaje molecular y la secuenciación de genes que codifican para inniunoglobulinas y TCRs, sugiere claramente que existe una familia de genes que ha evolucionado a partir de un gen primordial o ancestral que en su origen codificaba moléculas receptoras muy sencillas y presumiblemente mucho menos específicas. Esto puede comprobarse al comparar las estructuras de las moléculas que se han expuesto hasta el momento en este capítulo (Figura 20.25).

La obvia relación evolutiva de las moléculas del sistema inmune ha llevado a proponer el término de *superfamilia génica* para describir a los genes que codifican estas estructuras. Esta *superfamilia de genes de inniunoglobulinas* se originó probablemente por selección evolutiva a partir de genes que codificaban para moléculas inmunes primitivas en organismos ancestrales. Hoy en día, tras la comparación de los sistemas inmunes de varios animales resulta clara esta progresión genética. Por ejemplo, la comparación de las reacciones de tipo inmune en vertebrados e invertebrados sugiere que en los invertebrados existen solamente partes de la superfamilia génica. Los invertebrados son capaces de desencadenar respuestas defensivas inespecíficas muy simples, como la secreción de sustancias antibacterianas y la fagocitosis. Los cangrejos herradura, por ejemplo, secretan linfocinas y proteínas con actividad

Figura 20.25 Estructura comparada de varias moléculas del sistema inmune. Advierta que las regiones con una secuencia de aminoácidos homologa o casi homologa sugieren fuertemente una relación evolutiva. C, regiones constantes; V, regiones variables. Cada una de estas moléculas es un miembro de la superfamilia de inniunoglobulinas.



antibacteriana semejantes en cierta medida a los anticuerpos, y poseen también células capaces de fagocitar (véase Sección 19.10). Sin embargo, los invertebrados no desarrollan respuestas inmunes mediadas por células T ni B. Aunque algunos invertebrados superiores pueden rechazar injertos extraños, lo que sugiere que expresarían en sus células moléculas parecidas a MHC, solamente en los vertebrados podemos encontrar plenamente desarrolladas las funciones dependientes del MHC y los sistemas génicos complejos que se necesitan para codificar muchas de las moléculas implicadas.

REVISIÓN DE CONCEPTOS

20.12

La diversidad de los genes de inmunoglobulinas y TCRs se genera a través de un proceso de duplicación y modificación génica. La diversidad resultante es mucho mayor que la esperada por el número de genes involucrados.

%/ Describa la organización génica del DNA genómico de la cadena pesada de inmunoglobulinas.

¿Qué moléculas se relacionan evolutivamente con las inmunoglobulinas?

20.13

El sistema del complemento

El **complemento** interacciona con complejos específicos antígeno-anticuerpo para poner en marcha reacciones que no ocurrirían de otro modo. El complemento también es un importante mecanismo efector y, como veremos, estimula los efectos de las interacciones antígeno-anticuerpo. Estas reacciones se describen en la **Tabla 20.6**.

El complemento está formado por un número de enzimas séricas que interaccionan de una manera secuencial y ordenada con las células bacterianas u otro material extraño, provocando la lisis o pérdida de los componentes celulares como resultado del daño a la membrana celular. Estas enzimas, que se encuentran en niveles comparables en todos los individuos, son habitualmente inactivas pero se activan cuando se produce una reacción antígeno-anticuerpo. De hecho, una de las principales funciones de un anticuerpo es reconocer a las células invasoras y activar el complemento para el ataque. Un sistema como éste se rige por el principio de economía al existir una gran variedad de anticuerpos, cada uno específico de un solo antígeno, capaz de reclutar la maquinaria enzimática del complemento. Por tanto, el organismo no necesita enzimas distintas para atacar a cada uno de los agentes invasores.

Las reacciones en las que participa el complemento incluyen (1) lisis bacteriana, especialmente de bacterias gram-negativas, cuando el anticuerpo específico se combina con el antígeno de las células bacterianas en presencia del complemento; (2) muerte microbiana, incluso en ausencia de lisis; y (3) facilitar la fagocitosis que no se produce durante la infección, en el caso de que el microorganismo invasor esté dotado de una cápsula u otra estructura de superficie que impida la fagocito-

sis (véase Sección 20.3). Cuando un anticuerpo específico se combina con un microorganismo se facilita la fagocitosis y el proceso se denomina **opsonización específica**. Puede darse también la **opsonización inespecífica** en presencia del complemento, algunos de cuyos componentes se unen a las superficies de los microorganismos y los modifican de tal manera que se facilita la fagocitosis.

Activación del sistema del complemento

El sistema del complemento consta de 11 proteínas denominadas C1, C2, C3 y así sucesivamente. La activación del complemento tiene lugar sólo con anticuerpos de las clases IgG e IgM (véase Tabla 20.3). Cuando dichos anticuerpos se combinan con sus respectivos antígenos, sobre todo en la superficie celular, los anticuerpos adquieren conformaciones nuevas en sus dominios de regiones constantes que les permiten fijarse (unirse) a proteínas del complemento presente (Figura 20.26). Las proteínas del complemento actúan en cascada, de tal manera que la activación de un componente origina la activación del siguiente. En resumen, las fases son (1) unión del anticuerpo al antígeno (iniciación); (2) reconocimiento del complejo antígeno-anticuerpo por C1; (3) unión de C4-C2 a un lugar próximo de la membrana; (4) activación de C3; (5) formación del complejo C5-C6-C7 en la membrana; y (6) formación del complejo C8-C9, causando la lisis celular.

Como se observa en la Figura 20.26, las reacciones del complemento C3 inducen una atracción quimiotáctica de fagocitos sobre los agentes invasores y la fagocitosis tras la opsonización. La reacción de C5 conduce también a la atracción de leucocitos. La serie de reacciones finales desde C5 a C9 origina la lisis celular y la muerte. La lisis es el resultado de la destrucción de la membrana citoplasmática que determina la formación de agujeros a través de los cuales sale el contenido citoplasmático (Figura 20.27).

El complemento es necesario para la acción bactericida y lítica de los anticuerpos frente a las bacterias Gram negativas (es interesante destacar que las bacterias Gram positivas no son destruidas por anticuerpos específicos, ya sea en presencia o en ausencia del complemento, si bien las bacterias Gram positivas son opsonizadas de forma específica en presencia de anticuerpos). La muerte de las bacterias Gram negativas requiere anticuerpos frente a antígenos de la superficie celular. Cuando se mezclan solamente células y complemento no se observa efecto citocida ni lítico, pero si el anticuerpo se fija primero a la célula, rápidamente se produce la muerte o la lisis después de añadir el complemento. La presencia de anticuerpos es absolutamente necesaria para la fijación del complemento.

La presencia del complemento o la de anticuerpos específicos frente a componentes de las cápsulas bacterianas facilita la fagocitosis. Sin embargo, la opsonización inespecífica no necesita la vía clásica del complemento sino solamente las proteínas a través de C3. La opsonización se produce porque la unión de C3 hace que las células se adhieran a los fagocitos que poseen receptores de C3 en su superficie. Estos receptores participan en la adherencia a los fagocitos de las células bacterianas recubiertas de C3.

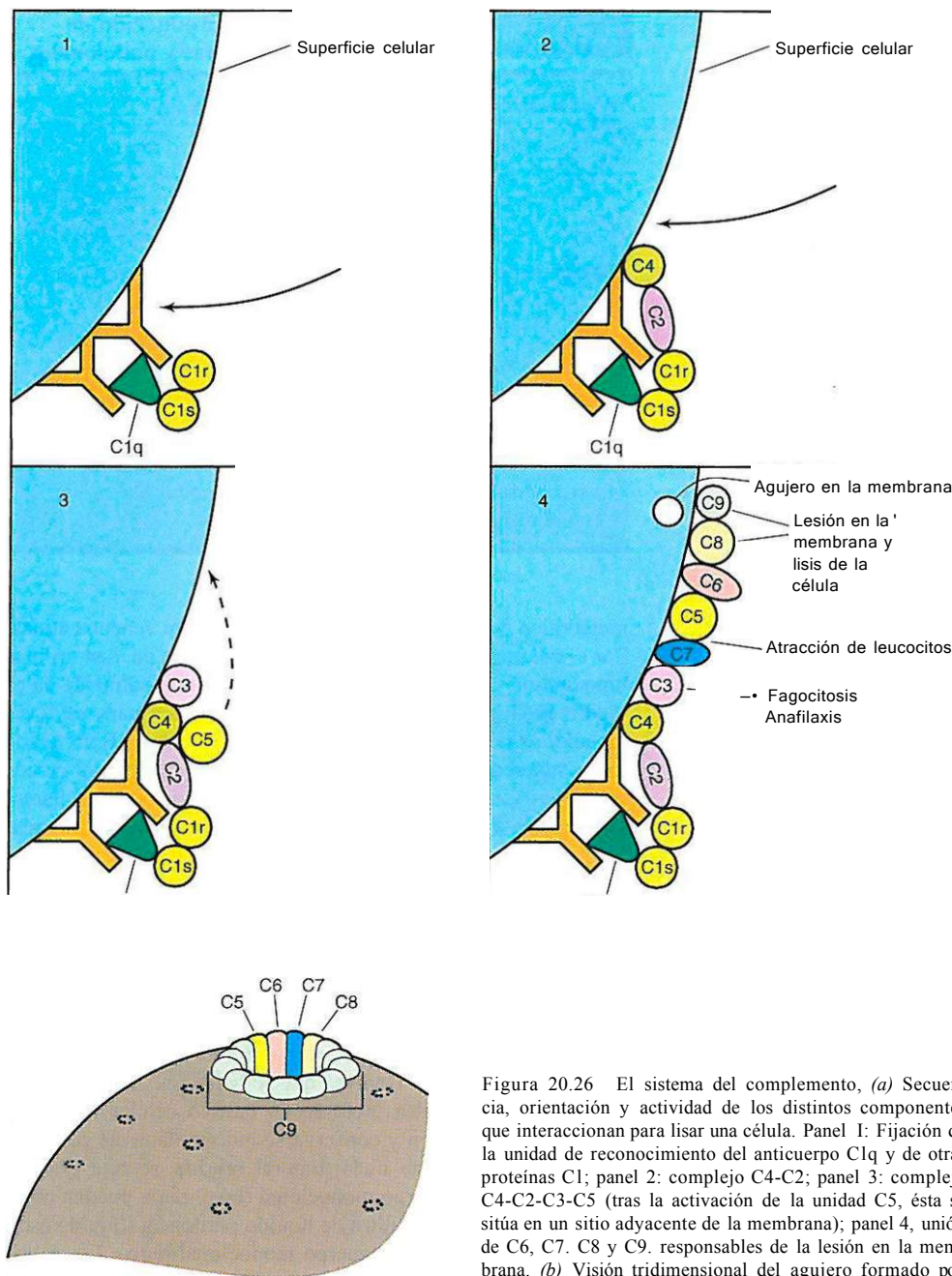


Figura 20.26 El sistema del complemento, (a) Secuencia, orientación y actividad de los distintos componentes que interaccionan para lisar una célula. Panel 1: Fijación de la unidad de reconocimiento del anticuerpo C1q y de otras proteínas C1; panel 2: complejo C4-C2; panel 3: complejo C4-C2-C3-C5 (tras la activación de la unidad C5, ésta se sitúa en un sitio adyacente de la membrana); panel 4, unión de C6, C7, C8 y C9, responsables de la lesión en la membrana. (b) Visión tridimensional del agujero formado por los componentes C5 a C9 del complemento.

REVISIÓN DE CONCEPTOS

20.13

La cascada de proteínas del complemento representa un mecanismo inespecífico para la destrucción celular y la opsonización. Está desencadenada por interacciones inmunes mediadas por anticuerpos específicos y constituye un componente fundamental de la defensa del hospedador.

- ¿Qué clases de inmuno globulinas fijan el complemento?
- ✓ ¿Qué componentes del complemento son necesarios para una lisis celular completa?

20.14

Anticuerpos policlonales y monoclonales

Una respuesta inmune típica en el animal da como resultado la producción de un amplio espectro de inmunoglobulinas de distintas clases, afinidades y especificidades para los determinantes antigénicos. Las inmunoglobulinas dirigidas contra un determinante concreto representan sólo una parte del reservorio total de anticuerpos. Cada inmunoglobulina está producida por un solo clon que es el resultado de la proliferación por un estímulo antigénico; un antisuero que contenga una mezcla de

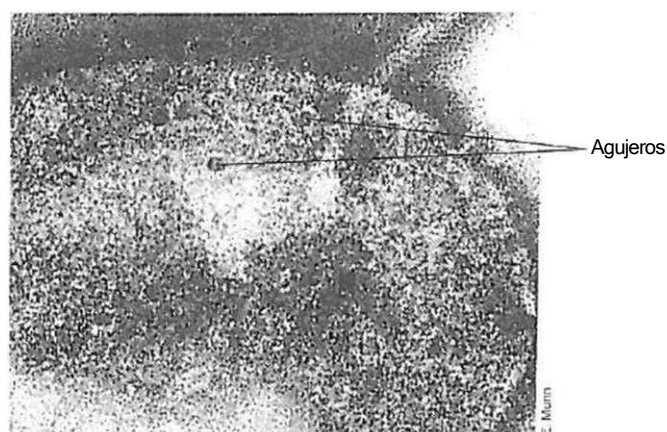


Figura 20.27 Miero fotografía electrónica de una preparación por tinción negativa de *Salmonella paratyphi*, que muestra los agujeros creados en la envuelta celular como resultado de la reacción que implica a antígenos de envoltura, anticuerpos específicos y complemento.

Características de la producción de anticuerpos monoclonas y policlonales	
Policlonales	Monoclonales
Contienen muchos anticuerpos que reconocen muchos determinantes antigénicos	Contienen un único anticuerpo que reconoce solamente un determinante
Existen varias clases de anticuerpos (IgC, IgM, etc.)	Se produce una sola clase de anticuerpos
Para fabricar un anticuerpo específico es necesario utilizar un antígeno muy purificado	Se puede fabricar un anticuerpo específico utilizando un antígeno no purificado
La reproducibilidad y estandarización son difíciles	Muy reproducible

dichos anticuerpos se denomina por tanto **antisuero policlonal**. Sin embargo, es posible producir anticuerpos de una especificidad *única*, a partir de un solo clon de células B. Una variedad de dichos anticuerpos mono-específicos se denomina **anticuerpos monoclonales**, que se utilizan en investigación y en medicina clínica. La **Tabla 20.5** compara las propiedades de los anticuerpos preparados frente a un antígeno por los métodos habituales (mediante la preparación de un suero policlonal) con las de los anticuerpos monoclonales.

Hibridomas y anticuerpos monoclonales

Las células B activadas por antígeno se convierten en clones que producen un anticuerpo monoclonal (véase Sección 20.12). Ahora abordaremos el problema del aislamiento y el crecimiento de un solo clon de células B para la producción experimental de anticuerpos monoclonales. Los linfocitos normales no pueden crecer y mantenerse en cultivo celular. Sin embargo, los linfocitos B pueden fusionarse con células de mieloma (un tumor de célula B) para formar líneas celulares híbridas que crecen en cultivo y conservan su capacidad para fabricar anticuerpos. Esta técnica de la fusión de células B y células de mieloma se conoce como **técnica del hibridoma** y se resume en la Figura 20.28.

En primer lugar, ha de inmunizarse un ratón con el antígeno de interés y durante unas semanas dejar que los clones de células B proliferen y comiencen a producir anticuerpo a través de una secuencia normal de eventos. Después se extrae el tejido esplénico (bazo) que es rico en linfocitos B, y se fusionan las células B con células de mieloma (Figura 20.28). Aunque las verdaderas fusiones solamente suponen una pequeña fracción del total de la población celular que permanece en el cultivo, la adición al medio de los compuestos hipoxantina, aminopterina y timidina (denominado por tanto medio HAT) selecciona positivamente los híbridos *fusionados*. La explicación reside en que las células no fusionadas del mieloma son incapaces de usar los metabolitos hipoxantina y timidina para escapar de un bloqueo

metabólico debido a la aminopterina, que es un veneno celular. Por el contrario, las células híbridas fusionadas pueden utilizar hipoxantina y timidina. Los híbridos crecen normalmente en el medio HAT al recibir la información genética para esta vía metabólica procedente de las células B. Las células B no fusionadas mueren al cabo de una o dos semanas al no poder crecer en cultivo durante más de unas cuantas divisiones celulares. Después de la fusión, deben identificarse los clones de interés. Si las células fusionadas se colocan en pocillos de placas de microtitulación, y se les deja crecer y fabricar anticuerpos, ¿cómo es posible saber qué células producen el anticuerpo de interés?

Pueden emplearse varias técnicas de ensayo para identificar los clones que producen anticuerpos monoclonales. A partir de una fusión típica se aíslan varios clones distintos, cada uno produce un anticuerpo monoclonal frente a un determinante antigénico distinto. Una vez que se han identificado los clones de interés, pueden crecerse en cultivo celular o pueden inyectarse en un ratón y conservarse indefinidamente como un mieloma murino. Esta línea tumoral murina, secreta grandes cantidades de anticuerpo monoclonal (en el ratón pueden obtenerse a partir de un mililitro de líquido peritoneal (líquido ascítico), unos 10 mg de anticuerpo monoclonal puro). Los hibridomas específicos de interés también pueden congelarse. Después, el hibridoma puede descongelarse cuidadosamente y volver a inyectarse en el ratón, o crecerse *in vitro* en un sistema de cultivo de tejidos, cuando se necesite un anticuerpo monoclonal.

Los anticuerpos monoclonales son reactivos extraordinariamente útiles para la investigación y la medicina. En investigación básica, pueden usarse anticuerpos monoclonales dirigidos contra marcadores específicos de la célula, por ejemplo, CD4 y CD8 en linfocitos T, con el fin de identificar y separar entre sí mezclas de estos linfocitos. Exploraremos los métodos para la utilización de anticuerpos monoclonales, aprovechando esta capacidad de discriminación en el Capítulo 21.

Otras aplicaciones de los anticuerpos monoclonales en investigación incluyen los estudios del centro activo de las en-

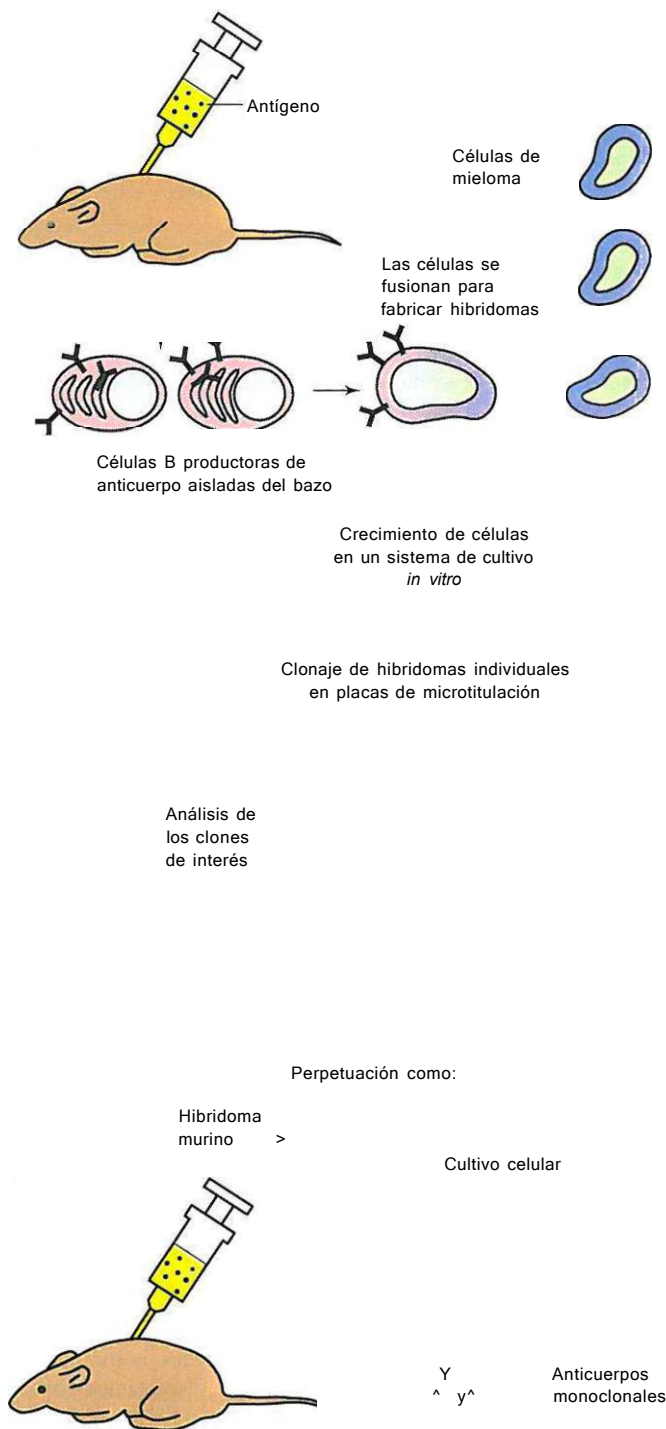


Figura 20.28 Técnica del hibridoma y producción de anticuerpos monoclonales.

zimas, mediante la observación del efecto en la actividad enzimática cuando se emplean anticuerpos monoclonales contra determinantes específicos de la enzima. Los anticuerpos monoclonales son también útiles en el tipaje inmunológico de bacterias y en la identificación de células que contienen antígenos de superficie extraños (por ejemplo, una célula infectada por un

virus). Los anticuerpos monoclonales se han utilizado igualmente en ingeniería genética para la identificación y cuantificación de los niveles de productos génicos no detectables por otros métodos.

Anticuerpos monoclonales y medicina

Unas de las aplicaciones más importantes de los anticuerpos monoclonales son en el diagnóstico clínico y en terapéutica. Hablaremos de la utilización de los anticuerpos monoclonales en el diagnóstico clínico en la Sección 21.4. En cuanto a la terapéutica, quizá la aplicación más destacable de los anticuerpos monoclonales sea la detección y el tratamiento de neoplasias en el hombre. Las células neoplásicas contienen varios antígenos de superficie que no se expresan en las células normales. Los antígenos de tumor incluyen a los antígenos de diferenciación expresados durante el desarrollo fetal pero no en el adulto normal, y a los antígenos de superficie específicos de tumor que son característicos (éstos se detectaron originalmente mediante anticuerpos monoclonales preparados frente a antígenos de superficie tumorales escogidos al azar). Puesto que los anticuerpos monoclonales preparados contra determinantes antígenicos relacionados con el cáncer deben discriminar entre células normales y malignas, los anticuerpos monoclonales sirven como vehículos para la liberación de toxinas contra células malignas. Estos anticuerpos específicos de tumor unidos covalentemente a toxinas, se están probando ahora en ensayos clínicos. La especificidad del tratamiento con anticuerpos monoclonales puede mejorar mucho la quimioterapia en el cáncer y evitar el daño en las células normales inherentes al tratamiento con sustancias químicas tóxicas y radiaciones empleados en la quimioterapia oncológica convencional.

También se han preparado anticuerpos monoclonales que distinguen antígenos de trasplante en el hombre, mejorando de este modo la especificidad en las pruebas cruzadas que es esencial para el éxito de los trasplantes. También existen esperanzas fundadas de que los anticuerpos monoclonales puedan aumentar la especificidad de diversas pruebas clínicas convencionales como el tipaje de grupo sanguíneo, determinación del factor reumatoide e incluso en el diagnóstico de embarazo; este último test utiliza anticuerpos monoclonales dirigidos contra hormonas específicas del embarazo (véase el recuadro Kits de inmunodiagnóstico). Se están desarrollando otras moléculas para el diagnóstico *in vivo*. Por ejemplo, se han utilizado experimentalmente anticuerpos monoclonales para detectar la miosina expuesta del miocardio; la miosina es la principal proteína del músculo cardíaco que en condiciones normales llega a detectarse únicamente después de una lesión del miocardio. De ahí que un anticuerpo monoclonal específico de miosina sería útil para diagnosticar la extensión de la lesión cardíaca tras un infarto.

Al igual que ocurre con cualquier reactivo clínico, cuanto mayor sea su especificidad, mayor será su utilidad en el diagnóstico clínico. Actualmente, los anticuerpos monoclonales brindan al médico y al microbiólogo clínico la mayor especificidad inmunológica (para la detección de medicamentos prohibidos, véase el recuadro Prueba de la orina para diagnosticar la intoxicación por medicamentos).

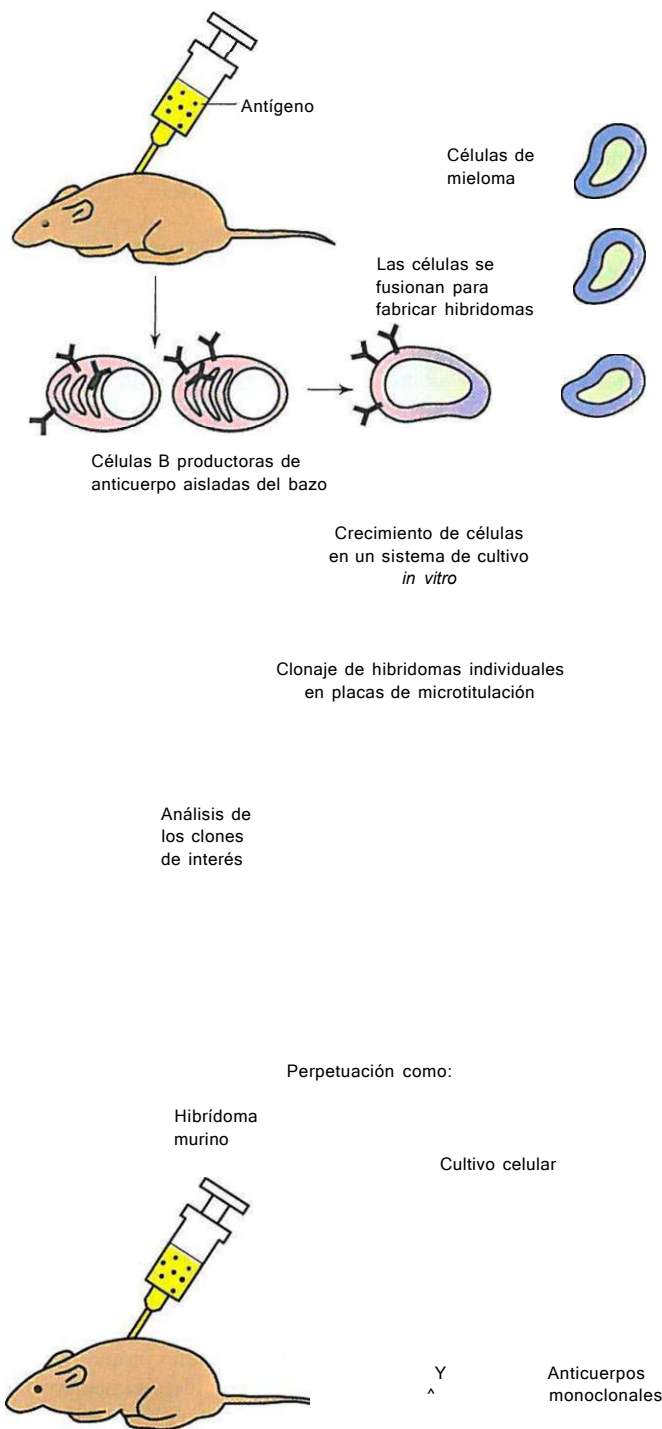


Figura 20.28 Técnica del hibridoma y producción de anticuerpos monoclonales.

zimas, mediante la observación del efecto en la actividad enzimática cuando se emplean anticuerpos monoclonales contra determinantes específicos de la enzima. Los anticuerpos monoclonales son también útiles en el tipaje inmunológico de bacterias y en la identificación de células que contienen antígenos de superficie extraños (por ejemplo, una célula infectada por un

virus). Los anticuerpos monoclonales se han utilizado igualmente en ingeniería genética para la identificación y cuantificación de los niveles de productos génicos no detectables por otros métodos.

Anticuerpos monoclonales y medicina

Unas de las aplicaciones más importantes de los anticuerpos monoclonales son en el diagnóstico clínico y en terapéutica. Hablaremos de la utilización de los anticuerpos monoclonales en el diagnóstico clínico en la Sección 21.4. En cuanto a la terapéutica, quizá la aplicación más destacable de los anticuerpos monoclonales sea la detección y el tratamiento de neoplasias en el hombre. Las células neoplásicas contienen varios antígenos de superficie que no se expresan en las células normales. Los antígenos de tumor incluyen a los antígenos de diferenciación expresados durante el desarrollo fetal pero no en el adulto normal, y a los antígenos de superficie específicos de tumor que son característicos (éstos se detectaron originalmente mediante anticuerpos monoclonales preparados frente a antígenos de superficie tumorales escogidos al azar). Puesto que los anticuerpos monoclonales preparados contra determinantes antigénicos relacionados con el cáncer deben discriminar entre células normales y malignas, los anticuerpos monoclonales sirven como vehículos para la liberación de toxinas contra células malignas. Estos anticuerpos específicos de tumor unidos covalentemente a toxinas, se están probando ahora en ensayos clínicos. La especificidad del tratamiento con anticuerpos monoclonales puede mejorar mucho la quimioterapia en el cáncer y evitar el daño en las células normales inherentes al tratamiento con sustancias químicas tóxicas y radiaciones empleados en la quimioterapia oncológica convencional.

También se han preparado anticuerpos monoclonales que distinguen antígenos de trasplante en el hombre, mejorando de este modo la especificidad en las pruebas cruzadas que es esencial para el éxito de los trasplantes. También existen esperanzas fundadas de que los anticuerpos monoclonales puedan aumentar la especificidad de diversas pruebas clínicas convencionales como el tipaje de grupo sanguíneo, determinación del factor reumatoide e incluso en el diagnóstico de embarazo; este último test utiliza anticuerpos monoclonales dirigidos contra hormonas específicas del embarazo (véase el recuadro Kits de inmunodiagnóstico). Se están desarrollando otras moléculas para el diagnóstico *in vivo*. Por ejemplo, se han utilizado experimentalmente anticuerpos monoclonales para detectar la miosina expuesta del miocardio; la miosina es la principal proteína del músculo cardíaco que en condiciones normales llega a detectarse únicamente después de una lesión del miocardio. De ahí que un anticuerpo monoclonal específico de miosina sería útil para diagnosticar la extensión de la lesión cardíaca tras un infarto.

Al igual que ocurre con cualquier reactivo clínico, cuanto mayor sea su especificidad, mayor será su utilidad en el diagnóstico clínico. Actualmente, los anticuerpos monoclonales brindan al médico y al microbiólogo clínico la mayor especificidad inmunológica (para la detección de medicamentos prohibidos, véase el recuadro Prueba de la orina para diagnosticar la intoxicación por medicamentos).

TÉCNICAS Y APLICACIONES

KITS INMUNODIAGNÓSTICOS

Actualmente existen en el mercado kits de inmunodiagnóstico para ser utilizados por el gran público. Por ejemplo, prácticamente todas las farmacias disponen de varias marcas comerciales de pruebas de embarazo y muchas también tienen en depósito kits para el diagnóstico del inicio de la ovulación en las mujeres.

Estos kits se basan primariamente en los principios de la detección de una hormona excretada por orina. Las pruebas de embarazo detectan la presencia de gonadotropina coriónica humana (HCG). Cuando es fertilizado el óvulo se produce HCG cuya función es mantener el cuerpo lúteo y favorecer el embarazo. A medida que progresa la gestación, el embrión produce y libera cantidades crecientes de HCG. Durante este período se produce HCG en grandes cantidades, liberándose a la sangre, excretándose por los riñones a través de la orina. La menstruación normal habitualmente tiene lugar hacia los días 10-14 tras la ovulación, cuando el óvulo no es fertilizado. Pero cuando se produce la fertilización, no se produce la menstruación, y en este momento el nivel de HCG en la orina de la mujer gestante es lo suficientemente alto para ser detectado con facilidad mediante estas pruebas. De ahí que la detección de HCG en orina sea una prueba diagnóstica de embarazo. Se advierte que las pruebas son lo suficientemente sensibles para detectar embarazo al primer día de una menstruación que no ha llegado, es decir,

10-14 días después de la fertilización pero *no* el primer día de un embarazo.

La clave del éxito de estos kits es su simplicidad. Puesto que la mayor parte de la gente que utiliza estos kits no está adiestrada en las técnicas estándar del laboratorio, los métodos de la prueba deben ser muy claros y los resultados fáciles de interpretar. La paciente toma en primer lugar una muestra de orina. La forma más sencilla de la prueba consiste en aplicar sobre la muestra de orina una tira reactiva. En otras pruebas, el primer paso implica vaciar la muestra sobre un filtro o la inmersión de una varilla en la orina, seguido de la exposición del filtro o de la varilla a una segunda solución. Los resultados se miden por un cambio de color: una prueba se considera positiva cuando hay un viraje del blanco al rosa (véanse figuras) en 30 minutos o menos. Todas las pruebas comparten ciertos principios. En algún momento, la HCG urinaria se une a un anticuerpo monoclonal específico de HCG que está inmovilizado sobre un soporte sólido (la varilla, la tira reactiva o el filtro). A continuación, un anticuerpo monoclonal específico de HCG en una solución para la prueba de la varilla o de la tira reactiva y previamente humedecido sobre la tira reactiva para la prueba de un solo paso, reacciona con el complejo anticuerpo inmovilizado-HCG. Este segundo anticuerpo está unido químicamente a partículas de oro coloidal. Si este segundo anticuerpo reacciona con el primero, unido a la HCG, queda

inmovilizado y el complejo entero se colorea.

Todo este tipo de pruebas que son modificaciones de las pruebas de inmunanálisis de partículas en solución (SPIA), se usan también con profusión en los despachos de los facultativos como ayuda al diagnóstico clínico. Por ejemplo, existen disponibles algunos tests específicos para los antígenos de superficie de *Streptococcus pyogenes* que causa peligrosas infecciones de garganta. Antes, la única manera de identificar con seguridad una infección estreptocócica era el cultivo y la identificación del organismo, un proceso que implicaba a personal y a un laboratorio cualificados. La incubación del cultivo requería tiempo, y esta era la causa de que no se dispusiera de los resultados hasta las 16 horas como mínimo. Hoy en día, los resultados están en minutos cuando se emplea material de la garganta obtenido con una torunda. Se dispone igualmente de varios kits de prueba para detectar autoanticuerpos en el suero. Estos kits son útiles en el diagnóstico de enfermedades autoinmunes como la artritis reumatoide.

Estas pruebas presentan varias ventajas. Son fáciles de realizar, no requieren experiencia técnica y son relativamente baratas y razonablemente precisas. También son habitualmente de caducidad larga y no necesitan de especiales condiciones de conservación. Tienen también inconvenientes. Se trata de pruebas cualitativas por lo que solamente puede recurrirse a ellas cuando el resultado es absoluto. Por ejemplo, existe o no existe embarazo. Sin embargo, en algunos casos podrían ser deseables las medidas cuantitativas de los niveles, como ocurre en las pruebas que identifican autoanticuerpos. Además, muchos fabricantes no suministran controles positivos y negativos adecuados para estar seguros de que las pruebas funcionan correctamente. Por lo tanto, los resultados deberían siempre interpretarse con precaución, teniendo en cuenta que podrían arrojar falsos resultados negativos o positivos a consecuencia de técnicas inadecuadas o reactivos de prueba defectuosos.



REVISIÓN DE CONCEPTOS

20. u

Los anticuerpos policlonales y monoclonales son útiles en investigación y en clínica aplicada. La tecnología monoclonal consigue hacer, sin embargo, que estas técnicas dispongan de anticuerpos monoespecíficos y reproducibles.

¿Puede un único anticuerpo monoclonal reconocer varios epítomos?

i/ ¿Existen anticuerpos monoclonales útiles para pruebas diagnósticas? ¿Por qué o por qué no?

20.15

Reacciones antígeno-anticuerpo

Las reacciones antígeno-anticuerpo se estudian más fácilmente *in vitro* recurriendo a preparaciones de antígenos y antiseros. El estudio de las reacciones antígeno-anticuerpo *in vitro* se denomina **serología** y constituye una parte esencial del diagnóstico en microbiología clínica. Se han descrito distintas reacciones serológicas (Tabla 20.6) según las propiedades específicas del antígeno y del anticuerpo y de las condiciones elegidas para la reacción. La serología tiene muchas aplicaciones de las que aquí se expondrán únicamente algunas de ellas. En el capítulo próximo se abordarán con detalle nuevas aplicaciones prácticas de estas reacciones básicas.

El principio de todas las reacciones antígeno-anticuerpo reside en la combinación *específica* de los determinantes antígenicos con la región *variable* del anticuerpo (Figura 20.29). La primera fase de cualquier reacción antígeno-anticuerpo se basa en la unión del antígeno. El sitio de combinación del anticuerpo mide aproximadamente 2 X 3 nm y es capaz de unir unos 10-15 aminoácidos de un antígeno proteico. Debe recordarse que el reconocimiento del antígeno por el anticuerpo depende en última instancia de la estructura secundaria, terciaria y cuaternaria de las cadenas polipeptídicas del anticuerpo. La estructura primaria (la secuencia de aminoácidos) es la que dicta el plegamiento que a su vez está controlado por la dotación genética de la célula B. El resultado final de este proceso

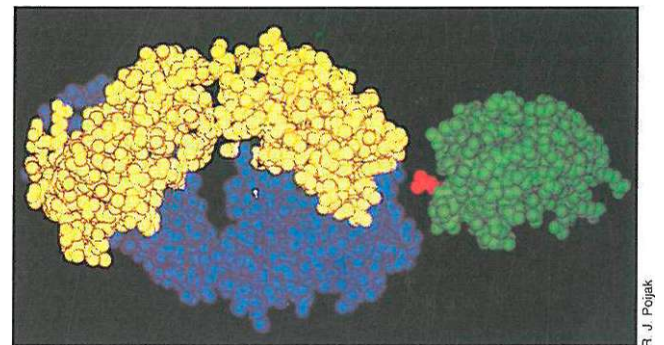
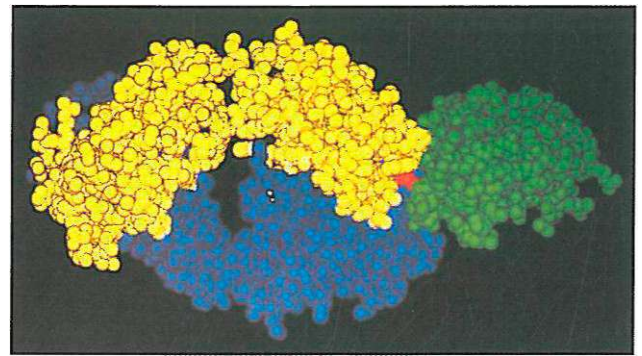


Figura 20.29 Estructura del sitio de combinación de un antígeno y de una inmunoglobulina. En verde, el antígeno (lisozima). En azul, la región variable de la cadena pesada de la inmunoglobulina, y en amarillo la cadena ligera. En rojo aparece el aminoácido glutamina de la lisozima. El residuo de glutamina se fija en un bolsillo de la molécula de inmunoglobulina, pero el reconocimiento global antígeno-anticuerpo implica el contacto entre distintos aminoácidos tanto en la inmunoglobulina como en el antígeno. Reproducido con permiso de *Science* 233: 747 (1986) ©AAAS.

complejo es un anticuerpo específico que se combina con un determinante antígeno específico tal como se muestra en la Figura 20.30. Esta combinación puede bloquear o alterar el antígeno de tal forma que disminuye o elimina completamente su actividad biológica.

En la Figura 20.30 se representan algunas reacciones antígeno-anticuerpo características.

Tipos de reacción antígeno-anticuerpo

Localización del antígeno	Factores accesorios requeridos	Reacción observada
Soluble	Ninguno	Precipitación
En la superficie de una célula o partícula inerte	Ninguno	Aglutinación
Flagelo	Ninguno	Inmovilización o aglutinación
En bacterias	Complemento	Lisis
En bacterias	Complemento	Muerte
En eritrocitos	Complemento	Hemolisis
Toxinas	Ninguno	Neutralización
Virus	Ninguno	Neutralización
En la célula bacteriana	Fagocito, complemento	Fagocitosis (opsonización)

TÉCNICAS Y APLICACIONES

PRUEBA DE LA ORINA PARA DIAGNOSTICAR LA INTOXICACIÓN POR DROGAS

Muchas agencias gubernamentales y compañías privadas llevan a cabo programas para la detección de drogas en un intento de controlar la intoxicación por drogas en el lugar de trabajo. Cuando una persona consume una droga, sus metabolitos se excretan por la orina. La investigación en la orina de dichos metabolitos permite por tanto el diagnóstico de la intoxicación por drogas y medicamentos. Las pruebas habituales para la detección de medicamentos y drogas incluyen las de cannabinoides (presentes en la marihuana), cocaína, fenciclidina, anfetaminas, propoxifeno, benzodiacepinas, opiáceos, esferoides y barbitúricos.

Las ínfimas cantidades de estas drogas o sus metabolitos en orina, justifican la necesidad de métodos de detección extremadamente sensibles y también muy específicos. Las técnicas inmunológicas se encuentran entre las más sensibles y específicas para los ensayos de orina. Habitualmente se emplean dos tipos de inmunoanálisis para las pruebas de orina, el radioinmunoensayo (RIA) y el enzimoimmunoanálisis (ELISA). En un enzimoimmunoensayo para medicamentos, en primer lugar debe prepararse un anticuerpo contra la medicamento o los metabolitos de la medicamento que se van a analizar. De esta forma, el anticuerpo reconoce específicamente un determinante antigénico de la medicamento. El ensayo se basa en el principio de la *competición*, entre un antígeno marcado presente en el sistema de ensayo y un antígeno no marcado (la medicamento o su metabolito en la orina), por los sitios de unión en el anticuerpo específico. Tanto en el RIA como en el ELISA, cuanto *mayor* sea la cantidad de droga en la orina, *menor* es la cantidad de droga marcada que se va a unir al anticuerpo.

En el RIA para el análisis de drogas, se añaden cantidades conocidas de droga marcada radiactivamente a una muestra de orina, junto con cantidades conocidas de un anticuerpo específico para la droga que se va a analizar. La presencia de la droga se mide determinando la radiactividad unida al anti-

cuerpo, que a su vez está unido a un sustrato sólido. Conforme aumenta la concentración de la droga en la orina, disminuye la radiactividad. En 1-5 hr pueden detectarse concentraciones de la droga tan pequeñas como 1-5 pg/ml. La prueba del RIA es muy adecuada para los programas de rastreo a gran escala, debido a las técnicas de pipeteo automático y conteo que pueden emplearse.

En la prueba de ELISA para el análisis de drogas, el antígeno (droga) se une covalentemente a una enzima, generalmente la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, cuya actividad puede detectarse mediante una prueba colorimétrica sencilla y sensible. Si la enzima, a través de la droga (ligando) a la que está unida, llega a unirse al anticuerpo, pierde su actividad enzimática aunque la enzima libre puede reaccionar con el sustrato. Se mezcla la orina con un reactivo que contiene el anticuerpo contra la droga, el derivado glucosa-6-fosfatasa deshidrogenasa-droga, y la glucosa-6-fosfato. Si la droga está presente en la orina, compite con el derivado enzima-droga por el anticuerpo específico y entonces la enzima está libre para reaccionar con su sustrato. Por lo tanto, a mayor droga presente en la orina, mayor intensidad de color. La técnica del ELISA tiene la ventaja de que el tiempo de análisis es corto y el cambio de color puede detectarse fácilmente. Sin embargo, esta técnica a veces es menos sensible que el RIA. La técnica del ELISA es especialmente válida cuando se quieren analizar un pequeño número de muestras en el lugar donde se recoge la orina (por ejemplo, lejos del laboratorio). En algunos casos,

los reactivos están incorporados a tiras de papel lo que facilita su utilización por personal no azeado (véase foto). Para pruebas a gran escala, los dispositivos informáticos tienen una capacidad de procesamiento de hasta 18.000 muestras de orina por hora, y cada muestra se identifica mediante una etiqueta autopegable de código de barras.

El análisis de drogas en orina puede utilizar anticuerpos policlonales o monoclonales indistintamente. Los anticuerpos monoclonales tienen la ventaja de su especificidad y el inconveniente de que su afinidad por la droga no es necesariamente mayor que la de un anticuerpo policlonal seleccionado. La selección de un anticuerpo depende de la especificidad y sensibilidad que se requieran, el coste del producto y la facilidad de uso.

Un problema que conlleva el empleo de cualquiera de estos métodos inmunológicos para el análisis de la orina es la reacción cruzada con otros compuestos químicos que pudieran estar presentes en la orina. Por ejemplo, el analgésico ibuprofen da una reacción cruzada con los metabolitos de la marihuana en algunas pruebas; y el antihistamínico difenhidramina puede reaccionar cruzadamente en un test de ELISA con la metadona, un narcótico que sólo se suministra con receta. La existencia de estas reacciones falsas positivas obliga a la confirmación de la positividad de los análisis mediante pruebas independientes, como son la utilización de la cromatografía de gases o la cromatografía líquida de alta resolución. También se dispone de métodos muy sensibles que combinan la espectrometría de masas con la cromatografía de gases y que son válidos para identificar drogas exóticas o drogas que desencadenan una escasa reacción inmune.

Las pruebas inmunológicas para las drogas en orina han proporcionado una técnica nueva, y potencialmente de uso general, para el control de la utilización de drogas ilegales en el mercado. La prueba de la detección de drogas en la orina es otro ejemplo de la utilidad de la inmunología en la sociedad moderna.



Keystone Diagnostics, Inc.

Neutralización

La neutralización de las toxinas microbianas por anticuerpos específicos puede ocurrir cuando se combinan las moléculas de toxina y antitoxina de tal manera que se bloquea la porción

activa de la toxina (Figura 20.30a). Las reacciones de neutralización de este tipo se cumplen para varias exotoxinas incluyendo la mayoría de las que se enumeran en la Tabla 19.4. Un antisuero que contenga un anticuerpo que neutralice una toxina se le denomina **antitoxina**. También pueden producirse reac-

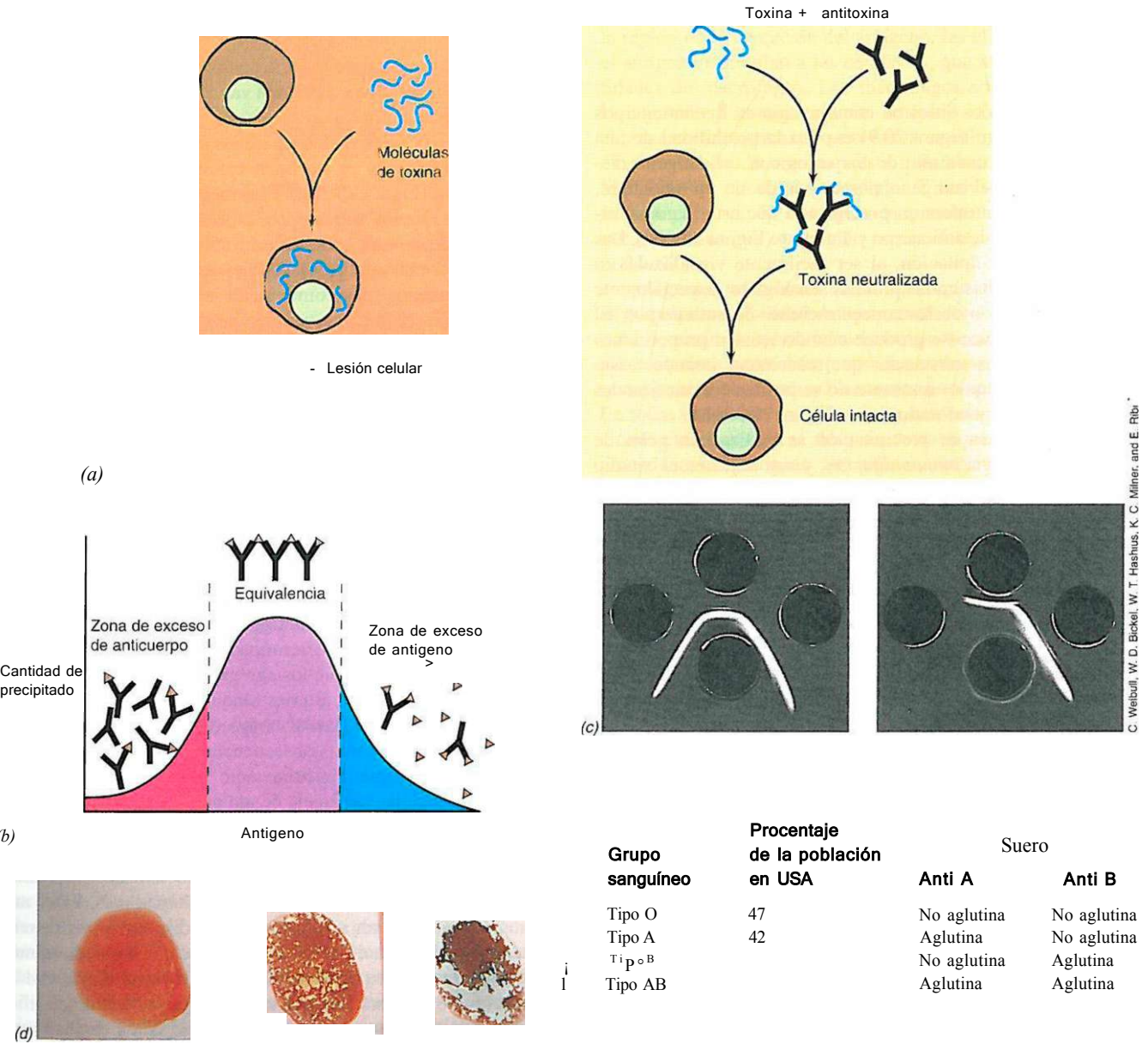


Figura 20.30 Algunas reacciones antígeno-anticuerpo. (a) Neutralización de una toxina por una antitoxina. (b) Reacción de precipitación entre un antígeno soluble y un anticuerpo. La gráfica muestra la extensión de la precipitación en función de la concentración de antígeno y anticuerpo. (c) Precipitación en un gel de agar, un proceso denominado inmunodifusión. Los pocillos S contienen anticuerpos contra *Proteus mirabilis*. Los pocillos A, B y C contienen extractos de *P. mirabilis*. (A a la izquierda) se observa una línea de identidad. (A a la derecha) El antígeno E no da reacción y el antígeno F muestra una línea de identidad parcial. (d) Aglutinación. Tipaje de sangre humana del sistema ABO. (A la izquierda) Patrón de aglutinación típico. (A la derecha) Tabla que muestra los resultados esperados con los distintos tipos de sangre.

ciones de parecida naturaleza entre virus y sus anticuerpos específicos. Por ejemplo, los anticuerpos contra las envolturas proteicas de los virus pueden evitar la adsorción de los virus a las células del hospedador. Este es uno de los medios a través de los cuales puede actuar una vacuna viral. Si la vacuna estimula la formación de anticuerpos que reaccionan con el virus libre, el virus es incapaz de fijarse y penetrar en las células del hospedador y no puede iniciar la infección.

Precipitación

La existencia de dos sitios de combinación en anticuerpos (bivalencia) (véase Figura 20.9) explica la posibilidad de una combinación por cada uno de los sitios con un antígeno distinto; si además el antígeno posee más de un epítipo libre, puede formarse entonces un precipitado que estaría constituido por agregados de anticuerpo y antígeno (Figura 20.30b). Las reacciones de precipitación, al ser fácilmente visualizadas *in vitro*, son muy útiles en las pruebas serológicas, especialmente en la cuantificación de las concentraciones de anticuerpos. El pico de precipitación se produce cuando existen proporciones óptimas de las dos sustancias que reaccionan; cuando existe un exceso de cualquier reactante no se pueden formar grandes agregados de antígeno-anticuerpo (Figura 20.30c).

Las reacciones de precipitación se realizan en geles de agar a través de una *inmunodifusión*, y son útiles en el estudio de la especificidad de las reacciones antígeno-anticuerpo. Antígeno y anticuerpo difunden hacia el exterior desde pocillos separados que se han cortado en el gel de agar, y se forman bandas de precipitación en la región donde el anticuerpo y el antígeno alcanzan proporciones óptimas (Figura 20.30c). Las formas de las bandas de precipitación y la distancia desde los pocillos son características de las sustancias reactantes, y es posible establecer si dos antígenos que reaccionan frente a los anticuerpos en un suero son idénticos. Para ello se observan las bandas que se han formado cuando los dos antígenos se colocan en pocillos adyacentes, cerca del pocilio del suero. Por ejemplo, si dos antígenos en pocillos adyacentes son idénticos, formarán una banda de precipitación fusionada. A ésta se le denomina *línea de identidad*. Por otro lado, si los pocillos adyacentes comparten un antígeno, pero un pocilio posee un segundo antígeno, se formará una *línea de identidad parcial* (Figura 20.30c). La pequeña línea de precipitación (representa una reacción entre el suero y el segundo antígeno) se conoce como un *espolón*. La inmunodifusión se usa habitualmente como una herramienta en la investigación bioquímica para valorar la relación de proteínas obtenidas a partir de distintas fuentes. Desafortunadamente, las reacciones de precipitación fácilmente visibles no son muy sensibles. Se necesitan cantidades de microgramos de anticuerpo para visualizar un precipitado (véase Tabla 21.6). Por tanto, las reacciones de precipitación no se utilizan con profusión.

Aglutinación

Cuando un antígeno no está en solución sino que se halla en la superficie de una célula u otra partícula, la reacción antígeno-

anticuerpo conlleva una agregación de las partículas que se denomina **aglutinación**.

Los antígenos solubles pueden ser adsorbidos o unidos químicamente a las células o a otras estructuras particuladas como bolitas de látex y entonces se pueden detectar por reacciones de aglutinación. La célula o la partícula sirve sólo como un transportador inerte. De esta forma se aumenta mucho la capacidad para detectar la presencia de anticuerpos contra antígenos solubles porque la aglutinación es mucho más sensible que la precipitación.

La aglutinación de los eritrocitos se denomina *hemaglutinación*. Los eritrocitos contienen varios antígenos y existen distintos antígenos eritrocitarios.

La clasificación de los antígenos de la sangre se denomina *tipado sanguíneo* y es un buen ejemplo de una reacción de aglutinación (Figura 20.30d). El principio del tipado sanguíneo consiste en que los anticuerpos, específicos para determinados antígenos de superficie de los eritrocitos, hacen que los glóbulos rojos formen agregados visibles. Los antígenos de los eritrocitos humanos más comúnmente analizados se denominan A, B y O. El ser humano también produce anticuerpos frente a algunos antígenos de un grupo sanguíneo que no sea el propio. Por ejemplo, las personas con grupo sanguíneo tipo A tienen anticuerpos frente a los antígenos del grupo B, mientras que los individuos de tipo O tienen actividad anti-A y anti-B. Los anticuerpos frente a los antígenos A y B se llaman *anticuerpos naturales* porque son producidos por la mayoría de las personas en respuesta a fuentes ubicuas de antígenos, tal como las bacterias entéricas.

La razón de realizar un tipado de la sangre previamente a una transfusión sanguínea, es evitar la destrucción de los glóbulos rojos que ocurriría si se transfundieran eritrocitos que expresen un determinado antígeno, a una persona que posea anticuerpos frente a ese determinado antígeno sanguíneo. Si se produjese la aglutinación, los agregados celulares podrían acumularse en las venas o arterias bloqueando el flujo sanguíneo, lo que incluso podría causar la muerte; si los anticuerpos produjesen hemólisis como consecuencia de la acción del complemento, podría originar anemia.

La presencia o ausencia de antígenos A y B o de anticuerpos, es el fundamento del ensayo de clasificación de la sangre en grupos ABO (Figura 20.3d). Se coloca una pequeña gota de sangre en un porta-objetos conteniendo suero preparado contra los antígenos A o B de eritrocitos humanos. Estos sueros con título alto de anticuerpos, disponibles comercialmente, se obtienen de personas donantes que han sido inmunizadas frente a estos antígenos de forma natural o artificial. La reacción de aglutinación que se observa en el test de clasificación de los grupos sanguíneos ABO es rápida y de fácil interpretación (Figura 20.30e); de ahí que este simple ensayo se use rutinariamente para los grupos sanguíneos humanos. Al menos 15 sistemas diferentes de grupos sanguíneos se han descrito en humanos; el sistema ABO es uno de los más importantes.

La reacción de aglutinación es alrededor de 100 veces más sensible que la precipitación, pero muchos inmunoensayos clínicos y diagnósticos se basan en técnicas que son aún más sensibles (véase Tabla 21.6). Examinaremos algunas de estas sensibles técnicas en el contexto de la inmunología aplicada en el Capítulo 21.

REVISION DE CONCEPTOS

20.15

Las reacciones antígeno-anticuerpo se basan en última instancia en la unión del antígeno. Las pruebas de aglutinación y precipitación son ejemplos de unión del antígeno a componentes macromoleculares o particulados.

/ ¿Cuál es el número mínimo de epítomos que debe poseer un antígeno macromolecular para que se produzca la precipitación con un anticuerpo bivalente?

/ ¿Es la aglutinación más o menos sensible que la precipitación? ¿Por qué?

20.16

Enfermedades inmunológicas

Las enfermedades inmunológicas son una consecuencia de la reacción lesiva del sistema inmune en el hospedador. En esta sección vamos a tratar de la **hipersensibilidad**, una respuesta inmunológica anormal que origina la *hipersensibilidad de tipo retardado* (mediada por linfocitos **T**) o respuesta inmune mediada por anticuerpos que provoca la *hipersensibilidad inmediata*. Después nos centraremos en la importancia cada vez mayor de las **enfermedades autoinmunes**, que se deben a una rotura de la tolerancia (véase Sección 20.10) y a reacciones anormales frente a los antígenos propios (autoantígenos). Por último, hablaremos de un grupo de toxinas denominadas **superantígenos** producidas por bacterias que causan una estimulación masiva de células inmunes y daño en el hospedador.

Hipersensibilidad de tipo retardado

Se trata de una forma de hipersensibilidad celular que implica a una subpoblación de células T llamadas células T de hipersensibilidad retardada (T_D) y cuya sintomatología aparece de unas horas a unos días después de la exposición al agente desencadenante. Las reacciones de hipersensibilidad de tipo retardado están dirigidas contra determinados microorganismos y son el resultado de un contacto de la piel con ciertos compuestos químicos sensibilizantes. El último fenómeno, conocido como **dermatitis de contacto**, es responsable de muchos de los trastornos alérgicos de la piel habituales en el hombre, entre los que se incluyen la reacción frente a la hiedra venenosa, cosméticos y ciertos medicamentos o sustancias químicas. Poco después de la exposición al agente, aparece prurito en la piel en el lugar de contacto, y en unas horas eritema e hinchazón, expresión de una respuesta inflamatoria generalizada. Como consecuencia de la acción de las células inmunes, se produce la destrucción localizada del tejido.

Un buen ejemplo de reacción de hipersensibilidad de tipo retardado es el desarrollo de inmunidad frente al agente etiológico de la tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis*. Esta respuesta inmune celular fue descubierta por vez primera por

Robert Koch durante su clásico trabajo sobre tuberculosis y se ha estudiado ampliamente. Los antígenos derivados del bacilo, que se inyectan por vía subcutánea en un animal previamente inmunizado frente al mismo antígeno, desencadenan una reacción típica en la piel que se desarrolla totalmente transcurridas de 24 a 48 horas (por el contrario, las reacciones cutáneas en respuesta a los anticuerpos, que se verán posteriormente en las reacciones alérgicas convencionales, se desarrollan casi inmediatamente tras la inyección del antígeno). En la región de la inyección del antígeno, las citocinas liberadas y el antígeno estimulan a las células T_D que atraen grandes cantidades de macrófagos. Los macrófagos son responsables de la ingestión y la digestión del antígeno invasor. La reacción cutánea característica que se observa en el lugar de la inyección es el resultado de una respuesta inflamatoria secundaria a la liberación de citocinas por células T activadas. Esta respuesta cutánea sirve de base para la **prueba de la tuberculina** que determina una exposición previa al *M. tuberculosis* (Figura 20.31).

Algunas infecciones microbianas desencadenan reacciones de hipersensibilidad de tipo retardado. Además de la tuberculosis, están la lepra, brucelosis, psitacosis (todas causadas por bacterias), parotiditis (causada por un virus) y coccidioidomicosis, histoplasmosis y blastomicosis (causadas por hongos). En todas estas reacciones inmunes celulares se producen reacciones cutáneas típicas después de la inyección del antígeno procedente del patógeno, que pueden usarse para el diagnóstico de una exposición previa al patógeno.

Hipersensibilidad de tipo inmediato

También existe otra forma de hipersensibilidad en la que se produce una respuesta inmune más rápida que en la respuesta de tipo diferido o retardado. Esta forma de hipersensibilidad se denomina **hipersensibilidad de tipo inmediato** y está mediada por anticuerpos en vez de células T activadas. Las hipersensibilidades de tipo inmediato engloban generalmente a las **alergias** y, según el individuo y el antígeno, pueden causar reacciones desde leves a muy graves, incluso que amenacen la vida, por un proceso que se denomina *anafilaxis*. Los antígenos que causan estas hipersensibilidades se llaman *alérgenos*.

En el hombre, de un 10% a un 20% de la población padece estos cuadros, incluyendo reacciones alérgicas (*anafilácticas*) a alérgenos específicos como pólenes, caspa de animales y otros agentes (Tabla 20.7). En una reacción anafiláctica característica, un antígeno desencadena (tras la primera exposición) la producción de inmunoglobulinas de la clase IgE. A diferencia de las inmunoglobulinas circulantes de la clase IgG o IgM, las moléculas IgE se fijan a través de su dominio constante a la superficie de células cebadas y basófilos (Figura 20.31). Las **células cebadas** (mastocitos) son células fijas del tejido conectivo adyacentes a los capilares a lo largo de todo el organismo, y los **basófilos** son leucocitos móviles que constituyen aproximadamente el 1% de toda la población leucocitaria. Tras una posterior exposición al antígeno, la IgE unida a la célula se une al antígeno. Esta unión estimula la liberación de varios mediadores alérgicos a partir de mastocitos y basófilos. Un antígeno debe ser capaz de unir como mínimo dos moléculas de IgE

sobre la célula para que se inicie la liberación de estas sustancias vasoactivas.

Los mediadores químicos fundamentales liberados por mastocitos y basófilos son histamina y serotonina (ambas son aminoácidos modificados). Se han caracterizado otros mediadores anafilácticos que son péptidos pequeños. La liberación de histamina y serotonina provoca vasodilatación y contracción del músculo liso, lo que da lugar a los signos característicos de la anafilaxis. Estos signos incluyen, entre otros, dificultad respiratoria, eritema, abundante producción de moco, estornudos y prurito y enrojecimiento oculares. En general, los síntomas suelen ser de corta duración pero tras la sensibilización al antígeno, pueden producirse sucesivas respuestas tras exposiciones repetidas al antígeno. Según el individuo, la intensidad de las reacciones anafilácticas puede variar desde síntomas leves (o ninguno) a síntomas graves que pueden llevar al individuo al choque anafiláctico. En el hombre, el choque anafiláctico se caracteriza por una grave dificultad respiratoria, dilatación capilar (que produce una caída importante de la tensión arterial) y eritema y prurito cutáneos. Si estos casos graves de choque anafiláctico no se tratan inmediatamente con dosis elevadas de adrenalina para contrarrestar la contracción del músculo liso y facilitar la respiración, puede producirse la muerte.

TABLE 20.7

Alérgenos frecuentes en la hipersensibilidad de tipo inmediato

Polen y esporas de hongos (fiebre del heno)
Venenos de insectos (picadura de abeja)
Penicilina y otros medicamentos
Algunos alimentos
Caspa (epitelio) de animales
Ácaros del polvo doméstico

Enfermedades autoinmunes

En la Sección 20.10 vimos cómo son eliminadas o anergizadas las células T y B que van a reaccionar con los autoantígenos durante la maduración de los linfocitos. Sin embargo, en algunos individuos, se produce la reactivación de los linfocitos T y B. La reactivación de estos clones auto-reactivos provoca trastornos inmunológicos que se conocen como *enfermedades autoinmunes*. La mayoría son trastornos de curso lento y progresivo en los que con el tiempo llega a agravarse progresivamente la función de algunos órganos o tejidos específicos

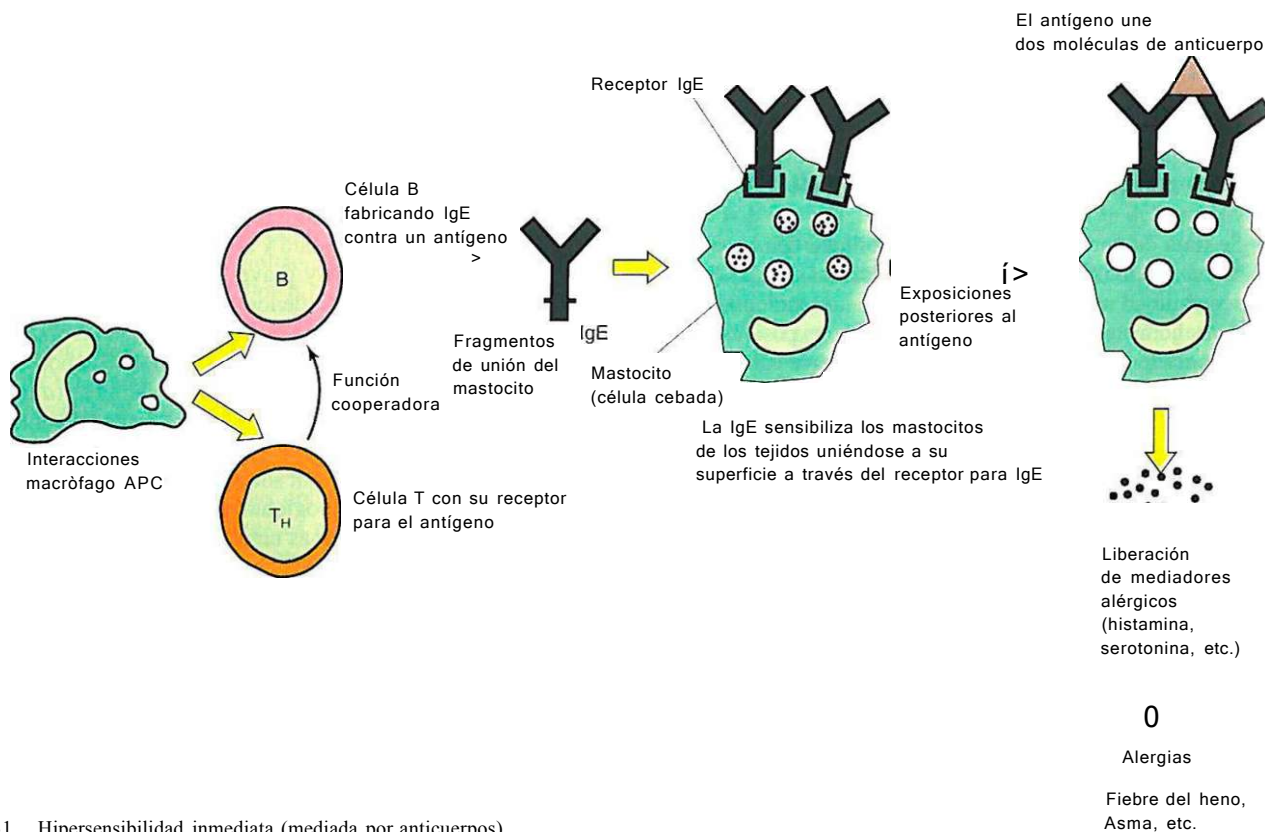


Figura 20.31 Hipersensibilidad inmediata (mediada por anticuerpos).

(Tabla 20.8). Según el trastorno específico, la autoinmunidad puede afectar a la respuesta inmune celular o de anticuerpos dirigida contra constituyentes propios. Determinadas enfermedades autoinmunes son típicamente órgano-específicas. Por ejemplo, en la *enfermedad de Hashimoto*, se fabrican autoanticuerpos contra la tiroglobulina, la principal proteína con yodo del tiroides. En la *diabetes juvenil* (diabetes mellitus insulina-dependiente), se observan autoanticuerpos contra las células productoras de insulina, en los islotes de Langerhans. Dichos autoanticuerpos pueden causar la enfermedad por destrucción de las células, o producirse como consecuencia de la liberación de antígenos a partir de las células insulares dañadas por otros mecanismos. El *lupus eritematoso sistémico* (SLE) afecta a la producción a gran escala de autoanticuerpos frente a constituyentes propios, incluyendo el DNA. Esta enfermedad, y otras parecidas, están inducidas por complejos circulantes antígeno-anticuerpo que pueden depositarse en distintos tejidos, como riñón y bazo. La fijación del complemento y las subsiguientes respuestas inmunes de naturaleza lítica e inflamatoria originan un daño celular local, aunque generalmente grave en el lugar donde se depositan los complejos. En ocasiones, las enfermedades autoinmunes órgano-específicas son más fácilmente controladas por la clínica pues el producto de la función del órgano, como tiroxina en el caso del hipotiroidismo o la insulina en la diabetes, con frecuencia pueden suplirse en su forma pura a partir de otra fuente. Los síndromes más generalizados como el SLE pueden controlarse únicamente mediante terapia inmunosupresora, si bien este abordaje no está exento de riesgo por el aumento de la probabilidad de infecciones oportunistas.

Cada vez es más evidente que la herencia tiene una influencia importante en la incidencia, tipo y gravedad de las enfermedades autoinmunes. Se sabe que existe una tendencia hereditaria a desarrollar determinadas enfermedades autoinmunes; muchas enfermedades autoinmunes se correlacionan fuertemente con la presencia o ausencia de ciertos antígenos del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) (véase Sección 20.7). Los estudios de modelos de enfermedades autoinmunes en el ratón apoyan dicha ligazón genética si bien es cierto que las condiciones necesarias para el desarrollo de autoinmunidad dependen de otros factores, incluyendo los niveles hormonales y la presencia de agentes infecciosos como bacterias y virus.

Superantígenos

En las Secciones 19.8 y 19.9 expusimos los efectos de las exotoxinas y enterotoxinas bacterianas sobre el hospedador. Como señalamos, no todas las exotoxinas, e incluso las enterotoxinas, funcionan del mismo modo descrito para la toxina del cólera (véase Figura 19.19). De hecho, existe una familia de exotoxinas denominada **superantígenos** que utilizan un mecanismo de acción totalmente distinto. Estas toxinas son producidas por estafilococos y estreptococos. Incluyen la *toxina del síndrome del choque tóxico*, la *enterotoxina estafilocócica* y la *toxina exfoliativa* (véase Tabla 19.4), y todas ellas poseen un mecanismo tóxico dependiente del sistema inmune. Todos estos antígenos se unen a la cadena p del receptor de la célula T (véase Sección 20.6) en un lugar distinto al sitio normal de unión al

Algunas enfermedades autoinmunes en el hombre

Enfermedad	Órgano o área afectados	Mecanismo
Diabetes juvenil (diabetes mellitus insulina-dependiente)	Páncreas	Autoanticuerpos contra antígenos de superficie y citoplasma de las células insulares de Langerhans
Miastenia grave	Músculo esquelético	Autoanticuerpos contra los receptores de acetilcolina en el músculo esquelético
Síndrome de Goodpasture	Riñón	Autoanticuerpos contra la membrana basal de los glomérulos renales
Artritis reumatoide	Cartilago	Autoanticuerpos contra anticuerpos de Ig G propios que forman complejos y se depositan en las articulaciones produciendo inflamación y destrucción del cartilago
Enfermedad de Hashimoto (hipotiroidismo)	Tiroides	Autoanticuerpos contra antígenos de superficie del tiroides
Infertilidad masculina (algunos casos)	Espermatozoides	Autoanticuerpos que aglutinan los espermatozoides del hospedador
Anemia perniciosa	Factor intrínseco	Autoanticuerpos que impiden la absorción de la vitamina B ₁₂
Lupus eritematoso sistémico	DNA, cardiolipina, nucleoproteínas, factores de la coagulación de la sangre	Respuesta masiva de autoanticuerpos contra distintos componentes celulares
Enfermedad de Addison	Glándulas suprarrenales	Autoanticuerpos contra antígenos de células suprarrenales
Encefalomiелitis alérgica	Cerebro	Respuesta celular contra el tejido cerebral
Esclerosis múltiple	Cerebro	Respuesta celular y por autoanticuerpos contra el sistema nervioso central

antígeno. En algunos casos, esta unión puede estimular a más del 10% de las células T normales en el individuo afectado. Un antígeno normal, incluso si es muy potente, estimula a menos del 0,1% del total de la población de células T. Dicha estimulación masiva da lugar a una participación simultánea de todas estas células T en una fulminante respuesta celular caracterizada por efectos inflamatorios generalizados, que producen algunas veces «shock» (como ocurre en el síndrome del choque tóxico). Este método general de estimulación del sistema inmune del hospedador para que produzca daño en el hospedador puede ser una estrategia patogénica empleada por estafilococos y estreptococos.

REVISIÓN DE CONCEPTOS

20. is

La alergia es la consecuencia de la acción de antígenos extraños que estimula la inmunidad celular o humoral y la reacción subsecuente de las células efectoras es tan intensa, que se produce un daño en el tejido (de) hospedador como resultado de la inflamación. La autoinmunidad es secundaria a una respuesta inmune o a una reacción cruzada dirigida contra antígenos propios (auto-antígenos).

%/ Distinga entre la fiebre del heno y la alergia a la hiedra venenosa.

%/ ¿Por qué se considera a la diabetes mellitus insulina-dependiente una enfermedad autoinmune?

20.17

Inmunidad frente a las enfermedades infecciosas

El papel más importante de la respuesta inmune en el organismo es la protección del hospedador frente a las consecuencias de una infección. La importancia de los anticuerpos en la resistencia a la enfermedad se muestra de una manera muy clara en los individuos con el trastorno genético agammaglobulinemia, en la que no se producen anticuerpos por deficiencia de células B. Dichos individuos son anormalmente sensibles a las infecciones, especialmente a aquellas provocadas por bacterias, y cuando no existían antibióticos, sólo unos pocos sobrevivían en la infancia. La falta general de una respuesta de anticuerpos se observa también en los individuos que padecen el síndrome de la inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Sin embargo, en este caso el problema no se debe a un defecto de células B. Los enfermos de SIDA sufren, por el contrario, una pérdida funcional casi total de las células CD4 (fundamentalmente T_H) (véase Sección 23.7). La importancia crucial de las células T en la generación de inmunidad resulta evidente en los enfermos de SIDA: la incapacidad de orquestar una respuesta inmune lleva a la muerte de estos enfermos por infecciones (véase. Sección 22.4).

La inducción artificial de inmunidad específica antiinfecciosa representó, ciertamente, uno de los primeros triunfos del

método científico en la Medicina y fue una de las contribuciones más sobresalientes de la microbiología al tratamiento y la prevención de las enfermedades infecciosas. Un animal o un ser humano pueden adquirir inmunidad a una enfermedad de varias maneras.

(1) El individuo puede adquirir la infección y desarrollar inmunidad. Esta es una **inmunidad activa natural**, porque la inmunización ha sido el resultado natural de una infección y el individuo infectado generó una respuesta inmune. (2) Se pueden administrar al individuo inyecciones de un antígeno que se sepa que induce la producción de anticuerpos, un tipo de inmunidad denominada **inmunidad activa artificial** porque el individuo en cuestión produce anticuerpos, como consecuencia de la inyección del antígeno. (3) Existe un método alternativo que consiste en que el individuo reciba inyecciones de un antisero obtenido en otro individuo que previamente fabricó anticuerpos contra ese antígeno. Se habla entonces de **inmunidad artificial pasiva** pues el individuo que ha recibido los anticuerpos no ha tomado parte activa en el proceso de fabricación de los anticuerpos. (4) Por último, también puede darse la llamada **inmunidad natural pasiva**. Durante varios meses después del nacimiento, los recién nacidos conservan anticuerpos tipo IgG que han recibido de la madre en la etapa embrionaria. Estos anticuerpos adquiridos antes del nacimiento a través de la placenta, suponen una protección valiosa frente a la enfermedad mientras se produce la maduración del sistema inmune del recién nacido. En la Tabla 20.9 se cotejan inmunidad activa y pasiva.

Una diferencia básica entre inmunidad activa y pasiva radica en que en la inmunidad *activa* el individuo inmunizado es capaz de seguir fabricando anticuerpos específicos y generar una respuesta secundaria o de refuerzo cuando se expone a una nueva dosis del mismo antígeno (véase Figura 20.21). La inmunidad activa generalmente dura de por vida. Un individuo inmunizado *pasivamente* nunca posee más anticuerpos que los que recibió en la inyección inicial, y estos anticuerpos van desapareciendo gradualmente del organismo: además, una inoculación posterior con la dosis del antígeno no desencadena una respuesta de refuerzo. Habitualmente la inmunidad activa se utiliza como una medida *profiláctica* con el fin de proteger a una persona contra futuros ataques de un patógeno. La inmunidad pasiva es generalmente *terapéutica*, y su finalidad es curar a una persona que padece una enfermedad. Por ejemplo, el toxoide tetánico (véase próxima sección) inmuniza activamente a un individuo frente a la toxina del *Clostridium tetani*, mientras que el antisero tetánico (antitoxina) (véase más adelante) se administra para inmunizar pasivamente a un individuo sospechoso de haber entrado en contacto con la exotoxina del *C. tetani*.

Vacunación

El término de **vacuna** se utiliza para designar al antígeno o a la mezcla de antígenos que inducen inmunidad activa. Sin embargo, para desencadenar una inmunidad activa frente a enfermedades causadas por toxinas, no debe inyectarse la propia toxina. Muchas exotoxinas pueden ser modificadas químicamente de tal suerte que retienen su antigenicidad pero ya no son tóxicas. Esta toxina modificada se denomina **toxoides**. Los

jlyj Comparación entre inmunidad activa y pasiva

Inmunidad activa

Exposición al antígeno; se logra mediante inyección del antígeno

Los individuos que consiguen la inmunidad, fabrican anticuerpos

Sistema inmune activado por el antígeno; memoria inmunológica eficaz

El título de anticuerpos puede permanecer elevado mediante dosis de recuerdo posteriores

El estado de inmunidad tarda semanas en desarrollarse

Inmunidad pasiva

No exposición al antígeno; se logra mediante inyección de anticuerpos específicos

Los anticuerpos se fabrican en otro hospedador

No se activa el sistema inmune; no existe memoria inmunológica

El título de anticuerpos decae gradualmente

El estado de inmunidad se desarrolla inmediatamente

toxoides, por lo general, no son antígenos tan eficaces como las exotoxinas originales pero pueden administrarse a dosis altas y con seguridad. Cuando se requiere una inmunización contra el microorganismo completo, como es el caso de los organismos que producen endotoxinas, para destruir a los microorganismos habitualmente se usan agentes del tipo del formaldehído, fenol o el calor, y después se inyectan las células muertas. Las enfermedades causadas por endotoxinas para las que se dispone rutinariamente de vacunas son la tos ferina y la fiebre tifoidea. El tratamiento con formaldehído se emplea también para la inactivación de virus en la preparación de algunas vacunas como la vacuna antipolio de tipo Salk.

La inmunización con células o virus vivos es generalmente más eficaz que la que utiliza material muerto o inactivado. Con frecuencia es posible aislar una cepa mutante de un patógeno que ha perdido su virulencia pero que todavía conserva los antígenos inmunizantes; las cepas de este tipo se denominan **cepas atenuadas** (véase Sección 19.11).

En la Tabla 20.10 se resumen las vacunas disponibles para su utilización en el hombre.

La práctica de la vacunación

Los lactantes poseen anticuerpos procedentes de sus madres y de ahí que sean relativamente inmunes a las infecciones durante los primeros 6 meses de vida. Sin embargo, es deseable la inmunización de los lactantes para las infecciones más importantes, tan pronto como sea posible para que su propia inmunidad *activa* pueda sustituir a la inmunidad *pasiva* que recibieron de su madre. Sin embargo, los lactantes tienen una capacidad para fabricar anticuerpos más bien escasa por lo que no se comienza la inmunización hasta unos meses después del nacimiento. Como se expuso en la Sección 20.11, una sola inyección del antígeno no se sigue de un *título alto* de anticuerpos: por lo tanto, es deseable utilizar una serie de inyecciones para conseguir un título elevado de anticuerpos. En la Tabla 20.11 se muestra un programa de vacunación típico para niños desde el nacimiento a la edad escolar.

La importancia de las técnicas de inmunización en el control de las enfermedades infecciosas está bien establecido. Tras la introducción de un método de inmunización específica en la población, la incidencia de la enfermedad habitualmente disminuye de una manera notable (Figura 20.32). El grado de inmu-

nización obtenido mediante la vacunación varía enormemente, dependiendo del individuo y de la calidad y cantidad de la vacuna. Sin embargo, raramente se consigue una inmunidad de por vida por medio de una sola inyección, o incluso tras varias inyecciones, y la población de células inmunes inducida por la inmunización desaparece gradualmente del organismo. Una forma en la que ocurre la estimulación antigénica, incluso en ausencia de inmunización, es a través de infecciones asintomáticas o menores. Una infección natural da lugar a una respuesta de refuerzo rápida que desemboca en un aumento aun mayor de las células productoras de anticuerpos activadas y en la fabricación de anticuerpos. Cuando no existe estimulación antigénica alguna, se desconoce cuánto puede perdurar la inmunidad, variando el periodo inmune con los distintos antígenos. Sin embargo, la inmunidad activa frente a determinadas vacunas como el toxoide tetánico puede durar muchos años y, en algunos casos, de por vida.

Los métodos de inmunización no son únicamente beneficiosos para el individuo sino que son eficaces como métodos de salud pública puesto que la enfermedad se propaga escasamente en una población cuando una gran proporción de sus individuos son inmunes (véase Sección 22.6)

Inmunidad pasiva

El material que se emplea para inducir inmunidad pasiva (el suero conteniendo los anticuerpos) se denomina *suero* o también *antisuero* o *antitoxina* (este último término se aplica al suero que contiene anticuerpos dirigidos contra una toxina). Los antisueros se obtienen de animales inmunizados de gran tamaño, como son los caballos, o a partir de individuos con elevados **títulos** (cantidades) de anticuerpos. Se dice que estos individuos son **hiperinmunes**. El antisuero se estandariza para que contenga un título conocido de anticuerpos; debe inocularse un número suficiente de unidades de antisuero para neutralizar cualquier antígeno que pueda estar presente en el organismo. Algunas veces la fracción de inmunoglobulinas del pool de sueros humanos se utiliza como fuente de anticuerpos. Contiene una amplia variedad de anticuerpos que las personas normales han fabricado a lo largo de los años por medio de la exposición artificial o natural a distintos antígenos. El conjunto de sueros se utiliza cuando no se dispone de antisueros hiperinmunes, aunque recientemente va disminuyendo su uso

Vacunas frente a agentes infecciosos, disponibles para el hombre

Enfermedad	Tipo de vacuna utilizada
Enfermedades bacterianas	
Difteria	Toxoides
Tétanos	Toxoides
Tos ferina	Bacterias muertas (<i>Bordetella pertussis</i>)
Fiebre tifoidea	Bacterias muertas (<i>Salmonella typhi</i>)
Fiebre paratifoidea	Bacterias muertas (<i>Salmonella paratyphi</i>)
Cólera	Células muertas o extractos celulares (<i>Vibrio cholerae</i>)
Peste	Células muertas o extractos celulares (<i>Yersinia pestis</i>)
Tuberculosis	Cepa atenuada de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (BCG)
Meningitis	Polisacárido purificado de <i>Neisseria meningitidis</i>
Neumonía bacteriana	Polisacárido purificado de <i>Streptococcus pneumoniae</i>
Tifus exantemático	Bacterias muertas (<i>Rickettsia prowazekii</i>)
<i>Haemophilus influenzae</i> meningitis	Vacuna conjugada (polysaccharide of <i>Haemophilus influenzae</i> conjugated to protein)
Enfermedades víricas	
Fiebre amarilla	Virus atenuado
Sarampión	Virus atenuado
Parotiditis	Virus atenuado
Rubeola	Virus atenuado
Polio	Virus atenuado (Sabin) o inactivado (Salk)
Gripe	Virus inactivado
Rabia	Virus inactivado (humano) o atenuado (perros y otros animales)
Hepatitis A	Vacuna de DNA recombinante
Hepatitis B	Vacuna de DNA recombinante o virus inactivado
Varicela	Virus atenuado

rutinario debido a la amenaza de contaminación (por ejemplo, con el virus de la inmunodeficiencia humana. VIH, causante del SIDA).

La utilización más frecuente de inmunización pasiva es en la prevención de hepatitis infecciosa (por el virus de la hepatitis A) (véase Sección 23.13). La inmunoglobulina humana denominada generalmente como *gamma globulina*, contiene títulos bastante elevados de anticuerpos contra el virus de la hepatitis A debido a la difusión en la población de la infección por este virus. A los turistas que viajan a áreas donde es alta la incidencia de hepatitis infecciosa, como el África tropical y el Norte de África, Oriente Medio, Asia y regiones de Sudamérica, debe administrárseles dosis profilácticas de gammaglobu-

linas humanas. Una sola dosis de 0,02 ml/kg de peso debería proteger durante 2 meses si bien para exposiciones más prolongadas, deberían darse dosis a intervalos repetidos. La gammaglobulina humana también sería de utilidad en la *terapia* de la hepatitis infecciosa si se administrara precozmente en el período de incubación.

Estrategias alternativas de vacunación

La mayor parte de las vacunas que se emplean en la actualidad se elaboran a partir de organismos completos o toxoides, como se describió en esta sección. Sin embargo, existen otros méto-

Inmunizaciones recomendadas en los niños en USA

Vacuna	Al nacer	1-2 meses	2 meses	4 meses	6 meses	12 meses	15 meses	6-18 meses	4-6 años
DTP (difteria, tétanos, pertusis)			X	X			X		X
Polio (oral trivalente)			X	X			X		X
MMR (sarampión, parotiditis, rubéola)							X		X
HbCV (<i>Haemophilus influenzae</i> conjugado)									
Opción 1			X	X					
Opción 2			X	X					
HBv (virus de la hepatitis B)									
Opción 1		X						X	
Opción 2		X						X	

Fuente: Centro para el Control de las Enfermedades; Atlanta, Georgia, USA.

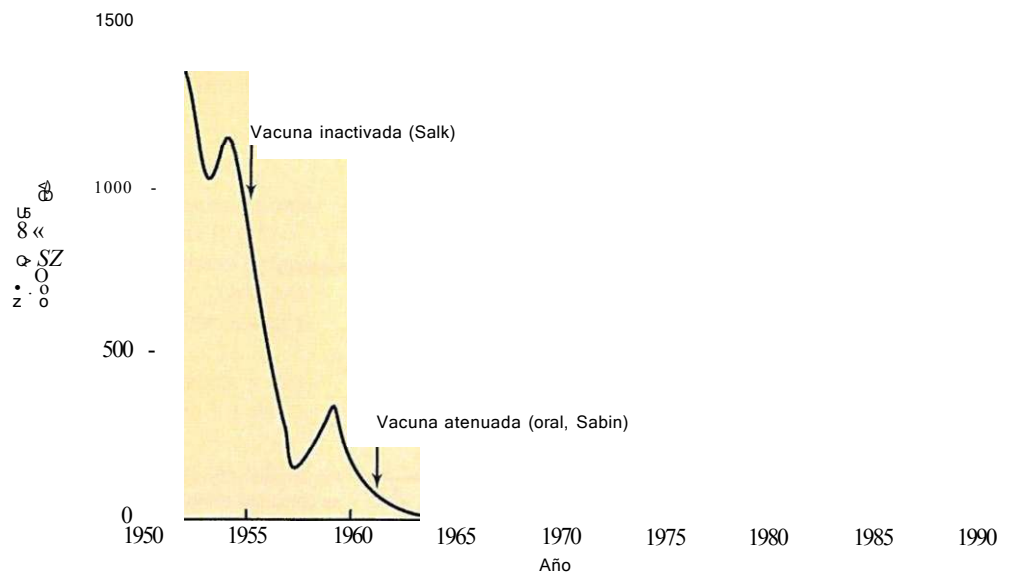


Figura 20.32 Casos de polio en USA de 1950 a 1990. Puede observarse el efecto de la introducción de la vacuna antipolio. Desde 1990 no se han detectado casos de polio en USA.

dos distintos para producir antígenos para vacunas. Las vacunas elaboradas a partir de estos métodos están sustituyendo a las vacunas más tradicionales.

El abordaje alternativo más sencillo para el desarrollo de vacunas es el uso de *péptidos sintéticos*. Para la elaboración de una vacuna de este tipo, se puede sintetizar un péptido que corresponda a un epítipo conocido del agente infeccioso. Por ejemplo, se conoce la estructura del antígeno proteico responsable de la inmunidad frente al virus de la glosopeda, un importante patógeno. Se ha fabricado un péptido sintético de 20 aminoácidos que constituye la porción antigénica de la proteína y se ha unido a moléculas de un portador («carrier») adecuado. Esta vacuna sintética induce una excelente respuesta de anticuerpos neutralizantes frente a este virus. El problema principal de este abordaje, al tratarse de un método general, reside en que debe conocerse la estructura antigénica completa de la proteína para fabricar una vacuna eficaz. Si bien se ha logrado satisfacer esta premisa en el caso del virus de la glosopeda, sólo muy pocos patógenos presentan un perfil antigénico muy bien definido.

Las sofisticadas técnicas de biología molecular también pueden utilizarse para la elaboración de vacunas. Como se muestra en la Figura 10.18, los genes que codifican los antígenos de prácticamente cualquier virus pueden clonarse en el genoma del virus de la vacuna y expresarse. El nuevo virus de la vacuna obtenido por *ingeniería genética* puede entonces usarse directamente para inducir inmunidad al producto del gen clonado. Ahora se utilizan según estos nuevos abordajes las vacunas para el antígeno de superficie de la hepatitis B y la varicela. Este método depende de la disponibilidad del gen clonado que codifica para el antígeno y también de la capacidad del virus de la vacuna para expresar el gen clonado en forma de proteína antigénica. En la Sección 10.13 se comentó el uso de los métodos del DNA recombinante para el desarrollo de vacunas.

Por último, nuestro conocimiento de la estructura de los anticuerpos ha permitido un nuevo abordaje experimental para

la producción de vacunas. El sitio de unión al antígeno en una molécula de anticuerpo puede por sí mismo comportarse como un antígeno capaz de desencadenar una nueva respuesta humoral, incluso en el organismo que generó el primer anticuerpo. La región variable de una molécula de anticuerpo se denomina *idiotipo*. Puesto que son estructuralmente regiones singulares (recuérdese que existen aproximadamente 10^6 regiones variables distintas), los idiotipos pueden comportarse como *antígenos* en el mismo hospedador que los produjo, dando lugar a anticuerpos *anti-idiotipo* (Figura 20.33). Si la región variable de un anticuerpo anti-idiotipo es *complementaria* del idiotipo, esta región debería parecerse estructuralmente al propio antígeno original. Parece que estos anticuerpos anti-idiotipo representan una parte normal de la respuesta inmune y su unión al idiotipo explicaría su papel en el control de la sobreproducción de idiotipos específicos.

Los idiotipos y anti-idiotipos presentan aplicaciones prácticas en inmunología. Dado que la región variable de un anticuerpo anti-idiotipo mimetiza el antígeno original, hay un gran interés en utilizar estos anticuerpos como *vacunas libres de antígeno*. ¿Cómo funcionan estas vacunas? El anticuerpo anti-idiotipo no causa enfermedad pero puede comportarse como un antígeno capaz de desencadenar la formación de anticuerpos protectores en el hospedador. El desarrollo de vacunas de este tipo parte del aislamiento de un anticuerpo monoclonal (que contiene un solo epítipo) reactivo dirigido contra un determinado microorganismo patógeno y después se emplea este anticuerpo como un *antígeno* para producir un anticuerpo anti-idiotipo (Figura 20.33). Este último, cuando se purifica convenientemente, puede emplearse después como una vacuna contra el patógeno. Las vacunas anti-idiotipo frente a *Escherichia coli*, virus de la rabia, virus de la hepatitis y el parásito *Trypanosoma cruzi*, han sido eficaces en animales de experimentación. Si pudieran desarrollarse vacunas libres de antígenos para numerosas enfermedades del hombre, la ingeniería genética entraría también en escena ya que los genes clonados que codi-

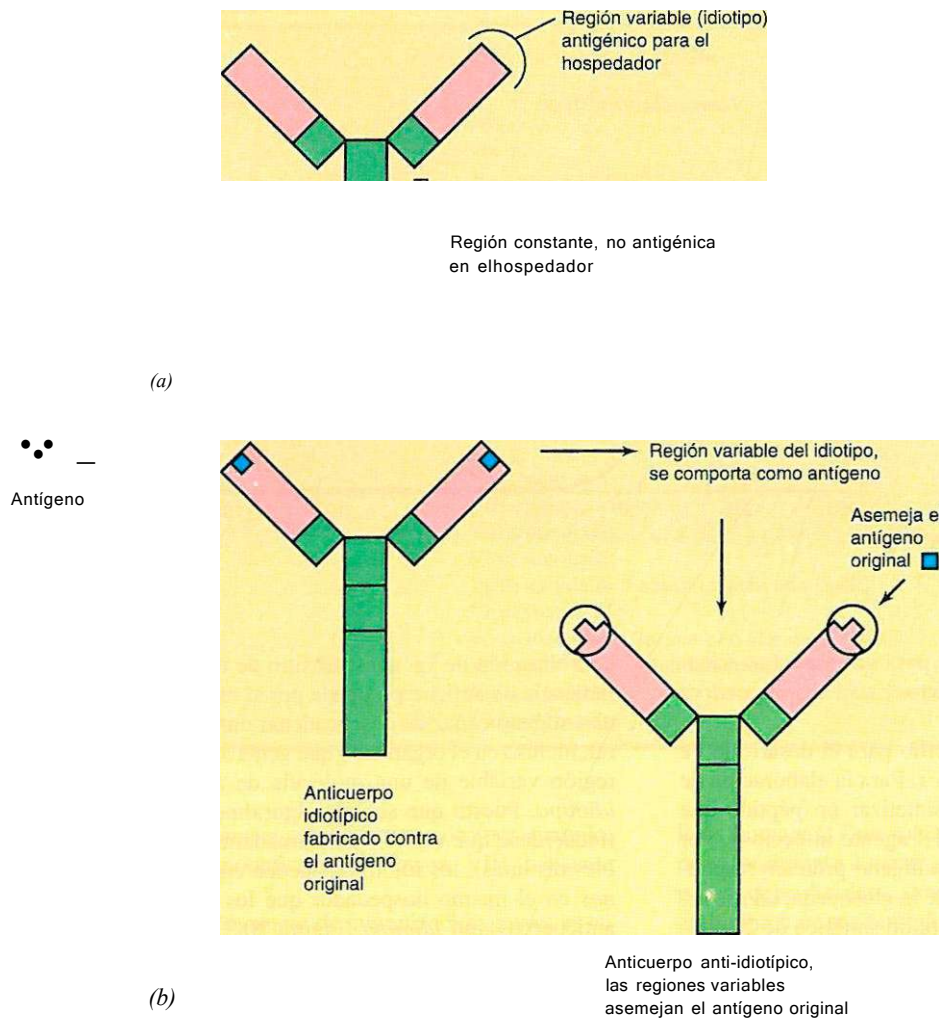


Figura 20.33 Generación de anticuerpos idiotípicos y anti-idiotípicos durante una respuesta inmune, (a) Estructura de una inmunoglobulina que muestra las partes inmunogénicas de la molécula en un animal productor. (b) Generación de anticuerpos anti-idiotipo. Observe el parecido de la región *variable* del anticuerpo anti-idiotipo con el antígeno original frente al cual va dirigido.

fican anticuerpos anti-idiotipo (obtenidos por los métodos estándar de la ingeniería genética) (véase Sección 10.13) permitirían que determinados microorganismos produjeran vacunas libres de antígenos.

Las vacunas libres de antígenos basadas en anticuerpos anti-idiotipo representan un medio novedoso y seguro de profilaxis de la enfermedad. Esta alternativa terapéutica ha emergido a partir del conocimiento básico de la estructura de los anticuerpos y la naturaleza de la respuesta inmune.

REVISIÓN DE CONCEPTOS

20.17

La inmunidad antiinfecciosa puede ser pasiva o activa, natural o artificial. La vacunación que es una forma de inmunidad artificial activa, se utiliza profusamente para prevenir y mitigar las enfermedades infecciosas.

¿/ Proponga un ejemplo de inmunidad natural pasiva.

^ ¿Qué estrategias alternativas existen a la inmunización con vacunas vivas?