

GENÉTICA Y ONTOGENIA DE CÉLULAS T

Amanda Maestre, María Fabiola Toro Castaño
Universidad de Antioquia

Abreviaturas usadas en este capítulo:

BCR:	Receptor de células B
C:	Región constante
CET:	Células epiteliales tímicas
CMH:	Complejo mayor de histocompatibilidad
CPA:	Célula presentadora de antígeno
CTL:	Linfocitos citotóxicos
DP:	Doble positivo
EGF:	Factor de crecimiento epidérmico
ERK:	Quinasas reguladas extracelularmente
HSC:	Células madres hematopoyéticas
ICAM:	Molécula de adhesión intercelular
IL-R:	Receptor de interleuquina
J:	Región de unión
JNK:	Quinasa C-jun N-terminal
kDa:	Kilodalton
LFA:	Antígeno asociado a la función leucocitaria
MDC:	Quimioatrayente derivado de macrófagos
SDF:	Factor derivado del estroma
SP:	Simple positivo
RAG:	Recombinasas
RSS:	Secuencias de señales de recombinación
TCR:	Receptor de células T
TN:	Triple negativo
V:	Región variable

INTRODUCCIÓN

La importancia de las células provenientes del timo para diferentes aspectos de la respuesta inmune solo se hizo evidente a principios de la década de 1960s gracias a los trabajos con ratones timectomizados y al estudio de niños con defectos en el desarrollo del timo. A finales de esa misma década e inicios de la siguiente se empezó a comprender los mecanismos mediante los cuales las células T ayudaban a establecer una respuesta adecuada de anticuerpos y a que se establecieran los mecanismos efectores de la respuesta inmune mediada por células. De esta manera, se llegó a definir que existían al menos dos poblaciones diferentes de linfocitos T: la primera es la de los linfocitos Th, mientras que la efectora corresponde a los CTL. Puesto que estas funciones de los linfocitos T eran específicas del antígeno, rápidamente fue evidente que al igual que los linfocitos B, las células que maduraban en el timo deberían tener un receptor específico para reconocer epítopes presentes en los antígenos. Sin embargo, la caracterización de dicho receptor permaneció elusiva y solo fue hasta 1988, gracias a los desarrollos de los méto-

dos de la biología molecular, que Davis y Björkman describieron las bases genéticas y estructurales de esta molécula. A partir de este momento, ocurrió un desarrollo acelerado de los estudios que hoy nos permiten comprender los procesos de reconocimiento antigénico por las células T y cómo ocurre la generación y selección del repertorio en el timo.

El receptor para el antígeno en los linfocitos T se conoce como TCR y constituye uno de los elementos centrales de la respuesta inmune en los vertebrados. El TCR es una proteína que hace parte de la superfamilia de las inmunoglobulinas pues las cadenas que lo constituyen poseen en su estructura dominios similares a los dominios de las inmunoglobulinas. Dicho TCR está constituido por dos cadenas polipeptídicas, cada una con una masa molecular de 40 a 60 kDa, las cuales se asocian entre sí covalentemente por un puente disulfuro ubicado en la porción transmembrana del receptor; ambos polipéptidos contienen un dominio variable y otro constante, el primero corresponde a la porción amino de la molécula y es la que le confiere la especificidad por un antígeno. En la porción transmembrana las cadenas del TCR se asocian, no covalentemente, a los polipéptidos que constituyen la molécula CD3 (cadenas γ , δ , ϵ), a la cadena zeta (ζ) y en algunos casos a una variante de Zeta llamada η . Existen dos tipos de TCR α/β y γ/δ , de acuerdo con las cadenas polipeptídicas que lo conforman. En los tejidos linfoides y en sangre periférica predominan los linfocitos T con TCR $\alpha\beta$ (90- 95%), los cuales expresan además la molécula CD4 o CD8. Por su parte, los linfocitos T que expresan el receptor $\gamma\delta$ se localizan preferencialmente en mucosas y en piel, muchos de ellos como linfocitos intraepiteliales; sin embargo, también se encuentran en circulación donde constituyen el 5- 10% de los linfocitos de la sangre; en su mayoría los linfocitos T $\gamma\delta$ no expresan CD4 ni CD8, es decir, son doblemente negativos.

A diferencia del BCR, la región variable del TCR solo reconoce determinantes antigénicos que se encuentran unidos a moléculas del CMH clase I o II, por lo tanto solo puede reconocer péptidos que provienen del procesamiento de antígenos complejos que han sido capturados por las CPA. Dentro de la región variable de las cadenas del TCR existen secuencias hipervariables conocidas como CDR, las cuales corresponden a los sitios en los que se localizan los residuos de aminoácidos que tienen un contacto real con el antígeno y, por lo tanto, son las que poseen mayor variabilidad en su secuencia. Cada cadena α y β contiene tres CDR (CDR1, CDR2, CDR3), que se asocian entre sí para unirse al antígeno; existe un CDR adicional en la cadena β a través del cual se unen superantígenos (moléculas que activan linfocitos T sin ser procesadas ni presentadas como los antígenos convencionales).

Para el reconocimiento del antígeno por la célula T existe una restricción adicional, pues la molécula del CMH-I interactúa con el CD8 mientras que el CMH-II lo hace con el CD4; por lo tanto, los linfocitos T CD8+ y T CD4+ van a reconocer péptidos antigénicos que están siendo presentados por el CMH clase I y II, respectivamente.

Existe un gran repertorio de TCR, lo cual implica el reconocimiento por parte de los linfocitos T de una amplia gama de antígenos, de manera semejante a lo que ocurre con los BCR de los linfocitos B; esta diversidad de TCR se produce en línea germinal durante la maduración de los linfocitos T en el timo, gracias a una serie de rearrreglos genéticos que se describirán más adelante. Ahora se presentarán los aspectos más importantes del proceso de diferenciación de los linfocitos T en el timo, lo que constituye la denominada ontogenia de células T.

ONTOGENIA DE CÉLULAS T

La organogénesis tímica es una cascada compleja de eventos que involucran interacciones recíprocas entre células y tejidos adyacentes derivados de las 3 líneas germinales embrionarias. El timo difiere de los órganos linfoides secundarios en que, mientras estos últimos se originan a partir del mesodermo, el timo se origina a partir del endodermo y ectodermo, lo que explica la naturaleza epitelial de las células estromales tímicas. Un rasgo estructural importante para la función del timo es el hecho que la organización de sus células epiteliales difiere completamente de la de otros órganos que poseen tejido epitelial. Es así como, en lugar que las células se posicionen sobre una membrana basal formando capas, las del timo conforman una red tridimensional, similar a una esponja, con extensiones citoplasmáticas e interconexiones mediante desmosomas. Esta configuración en tres dimensiones facilita la migración de células T en desarrollo, a través del estroma y facilita el contacto entre las superficies celulares de los diferentes tipos de células.

La comprensión del desarrollo del timo y de la ontogenia de las células T se ha logrado gracias al estudio detallado de los cambios embriológicos en los modelos animales, particularmente el murino; por lo tanto, mucha de la información que se describirá a continuación proviene de estos trabajos y de la correlación que se ha establecido con este proceso en el ser humano.

Fases del desarrollo tímico

La estructura única del estroma tímico se aprecia en fases tempranas del desarrollo, y se origina después de una serie consecutiva de procesos discretos, los cuales terminan en la creación bilateral de un primordio tímico que se convierte en un receptáculo para células

progenitoras hematopoyéticas provenientes del hígado fetal o de la médula ósea.

Existen múltiples puntos de control que determinan diversos microambientes durante el desarrollo tímico; estos microambientes están definidos no solo por cambios estructurales sino también funcionales. El primer punto de control regula la fusión de ectodermo y endodermo en la región del tercer saco faríngeo y de la tercera hendidura branquial, lo cual es inducido por la migración de células de la cresta neural derivadas del cerebro posterior del embrión. Estas dos estructuras se invaginan, y se cierran, y las dos capas quedan superpuestas, de modo que la ectodérmica rodea a la endodérmica, formando el llamado rudimento tímico. La capa ectodérmica formará los tejidos epiteliales corticales del timo, mientras la capa endodérmica formará los tejidos epiteliales medulares. Alrededor del día 10 de la gestación en el ratón (antes de la semana 8 en el humano), ya se han creado 2 primordios tímicos localizados lateralmente en el embrión. A continuación, estos primordios migran centralmente y se fusionan en la línea media corporal, sobre el corazón.

En un segundo punto de control, el factor de transcripción Whn (producto del locus "nude") y la proteína reguladora transcripcional Pax1, se expresan alrededor del día 11 de gestación del ratón (en humanos esto ocurre en las semanas 8^a y 9^a). Esto es seguido por la atracción de células precursoras hematopoyéticas Ikaros+ hacia los primordios diferenciados, como consecuencia de la producción de factores quimiotácticos por las células epiteliales tímicas. Adicionalmente, llegan otras células de origen hematopoyético: células dendríticas y macrófagos. Una vez establecidas allí, se inicia una interacción sostenida entre células mesenquimales derivadas de la cresta neural y las células epiteliales en el timo. Esta interacción

genera la formación de lóbulos en el órgano primitivo y, posteriormente, la aparición de vasos sanguíneos en el pedúnculo.

El día 12 de la gestación del ratón coincide con el tercer punto de control, el cual permite la diferenciación en células de tipo cortical y células de tipo medular. El día 14 de la gestación ocurre el cuarto punto de control del desarrollo, con el cual se regula el posicionamiento de la médula y la corteza. Finalmente, el día 16 del desarrollo embrionario, ocurre el quinto punto de control cuando el estroma tímico adquiere competencia funcional para madurar los timocitos en desarrollo.

Al nacer, los humanos tienen ya plenamente desarrollado el timo. En su corteza encontramos sólo timocitos en fases tempranas de su maduración, junto con algunos macrófagos, dentro del estroma cortical constituido por células corticales epiteliales. En la médula, se encuentran timocitos en fases más avanzadas de maduración con células dendríticas y macrófagos, todos inmersos en un estroma medular conformado por células epiteliales medulares. A diferencia de los humanos, los ratones al nacer, aún no han terminado de formar el timo adulto.

Migración intratímica

Los timocitos parecen desempeñar un papel importante en la organización funcional de los microambientes tímicos. El intercambio de señales entre timocitos y células epiteliales regu-

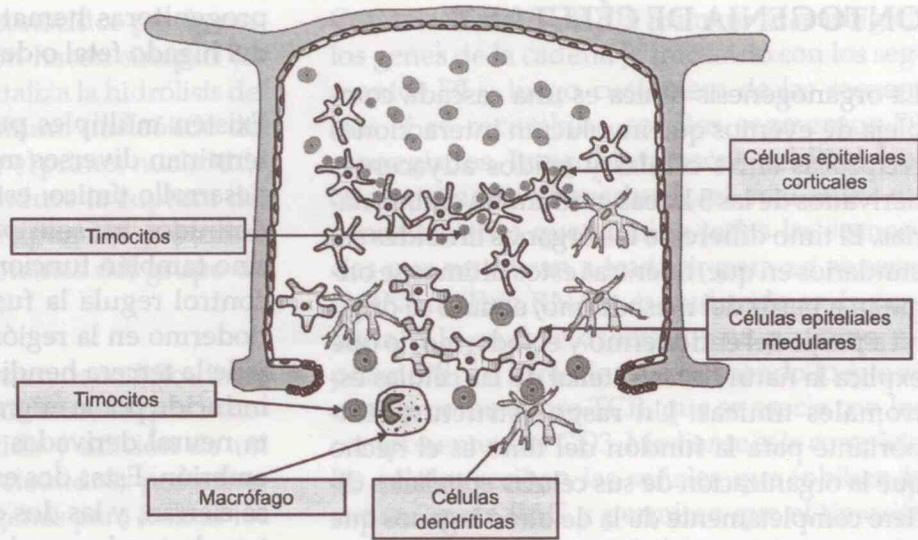


Figura 1. Organización e interacciones entre las diferentes células del timo

la la creación de estos microambientes tímicos de una manera gradual y escalonada (Figura 1). Se ha confirmado que en ratones con ausencia del desarrollo de células T más allá del estadio triple negativo (CD3-, CD4-, CD8-), existen alteraciones marcadas de los microambientes tímicos, con pérdida de áreas corticales y medulares y con formación de quistes. Mediante experimentos de trasplante de precursores normales de células T, los microambientes corticales se restablecen, pero la médula no se desarrolla, conformándose un timo que solo tiene corteza. La progresión de los timocitos a los estadios doble positivo y simple positivo, induce la formación de microambientes en la médula del timo. Estos experimentos permitieron concluir que los timocitos TN envían señales a las células epiteliales corticales tímicas, las cuales dan inicio a la formación de microambientes corticales organizados y funcionales. Estos a su vez permiten la progresión de la timopoyesis que lleva al desarrollo de células DP. Subsecuentemente, los timocitos que expresan el TCR, modulan a las células epiteliales medulares lo que resulta en la generación de microambientes propicios en la mé-

dula en donde se establecen los estadios finales del desarrollo de células SP.

Durante su desarrollo dentro del timo, los timocitos migran dentro y entre los diferentes microambientes tímicos para ponerse en contacto íntimo con las células estromales. Los mecanismos que controlan el tráfico de timocitos aún no están bien caracterizados; sin embargo, la evidencia más reciente, demuestra que las quimoquinas y sus receptores tienen un papel importante.

Las quimoquinas son polipéptidos básicos de tamaño pequeño y solubles que estimulan la migración celular; algunas de ellas son capaces de unirse a la matriz extracelular. Se ha confirmado la expresión diferencial de receptores de quimoquinas en subtipos de timocitos, así como de sus respectivos ligandos en elementos estromales tímicos. Estos hallazgos sugieren que diversas fases de la migración de los timocitos están influenciadas por diferentes gradientes de estos moduladores químicos. La expresión de CXCR4 por timocitos TN, media la atracción ejercida por la quimoquina CXCL12 o SDF, que se expresa por células estromales y de la corteza exterior. Aunque los timocitos deficientes en CXCR4 no evidencian defectos marcados en su desarrollo, muchos estudios indican que esta interacción tiene un papel importante en la diferenciación temprana de la célula T. Esta expresión de CXCR4 está limitada en células DP y SP, lo que sugiere que a medida que estas maduran, dejan de responder a dichas señales. Adicionalmente, el tráfico de células DP en y a través de la corteza está, muy probablemente, influenciado por las interacciones CCL25/CCR9. CCR9 es expresado por timocitos después de recibir señalización mediante el pre-TCR, mientras que su ligando CCL25 es la quimoquina TEK, que se expresa en abundancia por células corticales epiteliales. Finalmente, los timocitos recientemente seleccionados (CD69+), incrementan la

expresión de CCR4, lo que les permite realizar quimiotaxis hacia células del epitelio medular productoras de CCL22 o MDC.

Desarrollo de células T

Todas las células linfoides, eritroides y mieloides se desarrollan de un precursor común conocido como célula madre hematopoyética. En términos generales, se considera que la primera fase de diferenciación puede ocurrir antes o inmediatamente después de la colonización tímica. Durante esta fase, las células destinadas a dar origen a poblaciones linfoides, pierden su habilidad para diferenciarse en líneas eritroides. Como se mencionó anteriormente, una primera progenie de células HSC procedentes del hígado embrionario, son sembradas en el rudimento epitelial del timo, alrededor de los días 10-12 de la embriogénesis en el ratón. Estas subclases de timocitos no se multiplican y son continuamente reemplazadas por nuevas progenies de HSC derivadas de la médula ósea, durante toda la vida del individuo.

Los estadios más tempranos de desarrollo de las células T se definen con base en la ausencia de las moléculas CD3, CD4 y CD8 en la superficie de los timocitos (timocitos TN). Estas células pueden ser subdivididas en cuatro estadios de diferenciación con base en la marcación con anticuerpos que reconocen los marcadores CD44 (glicoproteína fagocítica 1 - PgP-1) y CD25 (cadena α del IL-2R). De esta manera, los timocitos TN progresan secuencialmente de TN CD44+CD25- a TN CD44+CD25+, luego a TN CD44-CD25+ y posteriormente a TN CD44-CD25-. Los timocitos en este estadio son los precursores de las células doble positivas CD4+,CD8+, las cuales a su vez maduran y dan origen a las células simple positiva CD4+ o CD8+ (Figura 2).

Los mecanismos que median la migración de células a través del timo incluyen la presencia de señales de células estromales no hematopoyéticas (células tímicas epiteliales y fibroblastos del mesénquima). Estas células residen en diferentes locaciones anatómicas en el timo y el movimiento de células precursoras en estos microambientes es crucial en la percepción de señales de diferenciación. Las células dejan el timo ya sea por el tejido conectivo que lo rodea, antes de que ocurra la vascularización en el feto, o por las vénulas post-capilares, una vez la vasculatura del timo está completamente conformada.

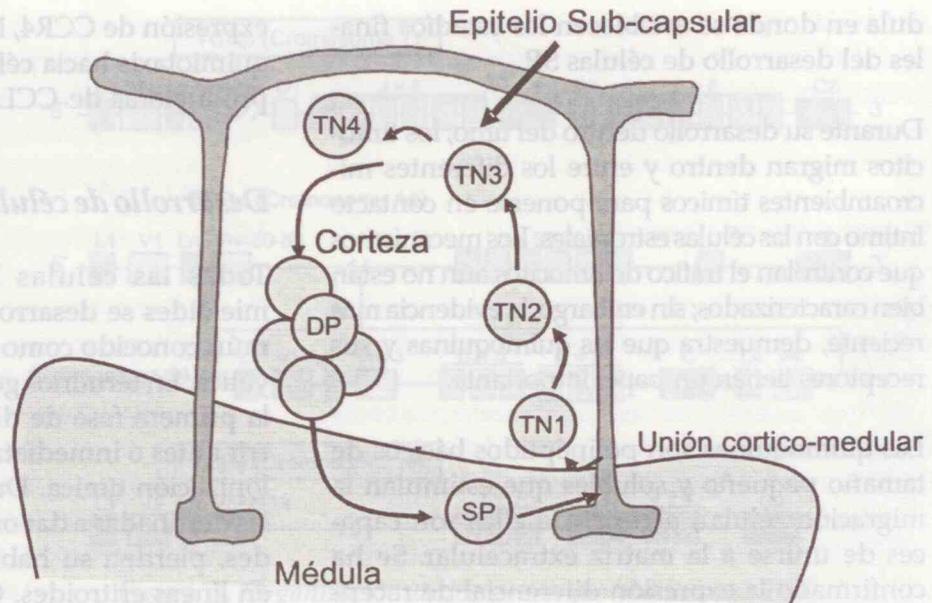


Figura 2. Secuencia de transformación de los timocitos durante su paso por el timo. Los progenitores provenientes de la médula ósea entran el timo del adulto cerca de la unión cortico-medular (TN1). A medida que migran hacia el epitelio subcapsular se expresa CD25 (TN2) y a continuación se disminuye la expresión de CD44 (TN3). A este nivel del desarrollo ocurren los re-arreglos del TCRβ que resultan en la disminución de la expresión de CD25 y en la proliferación de células CD8+ y CD4+ (DP). A continuación, ocurre el re-arreglo del TCRα y los timocitos corticales son sometidos a selección positiva o negativa. Las células que sobreviven migran a la médula antes de abandonar el timo.

Diferenciación de la línea de células T

En ratones, los precursores más primitivos, observados en el microambiente tímico, se definen como CD4^{lo}, c-kit+, CD44+, Thy-1-, Sca-1+. Sin embargo, estas células no generan exclusivamente células T, también dan origen a células B y células mieloides (o células dendríticas). Las células CD4^{lo} también corresponden a las células triple negativas (CD3-,CD4-,CD8-) y, como se describió antes, pueden ser subdivididas con base en la expresión de CD44 (Pgp1) y CD25 (IL-2Rα); sin embargo, también se ha utilizado la expresión de las moléculas CD117 (c-Kit) y CD127 (cadena α del IL-7R) como marcadores de maduración.

Los timocitos más inmaduros son clasificados como CD44+,CD25-,CD117+,CD127-; sin embargo, estas células TN inmaduras requieren de muchas citoquinas para sobrevivir, por lo cual empiezan a expresar los receptores para varias de éstas. Los timocitos adquieren CD25 y CD127 al mismo tiempo que aumentan la expresión del gen pre-TCRα (pTα), transformándose en célula TN2 con el fenotipo CD44+,CD25+,CD117+,CD127+. En este estado, solo la acción de IL-7 es suficiente para su supervivencia. Simultáneamente con estos cambios, se inicia el re-arreglo del TCR con lo que se pierde la capacidad para transformarse en células B.

La disminución de la expresión de CD117 se ha considerado como el evento definitivo que marca la transición más allá de TN2. Adicionalmente, estas células exhiben una disminución marcada tanto del tamaño celular como del nivel de expresión de CD44 y CD127, lo cual se correlaciona con rearrreglos adicionales del gen TCR- β (TN3 = CD44^{lo}, CD25⁺, CD117^{lo}, CD127^{lo}) y con diferenciación irreversible en células T (Figura 1). La expresión de pT α se considera como un indicador de esta diferenciación. El gen que codifica pT α se constituye en un blanco transcripcional directo de la señalización mediante el receptor Notch 1, por lo cual este receptor es esencial para la diferenciación de las células T. El ligando de Notch 1, "Delta-1 like", es el responsable de esta interacción. El hecho de que las células tímicas epiteliales expresen este ligando sugiere que la diferenciación de células T se inicia en el microambiente tímico.

Desarrollo del receptor de pre-células T

Las células progenitoras entran al timo por la unión cortico-medular y se mueven a través de la corteza a medida que ocurren las diferentes fases de la transformación de células TN (TN1, TN2) llegando a la zona subcapsular y allí se transforman en TN3. El rearrreglo del TCR es evidente en este punto del desarrollo. Las líneas de células T α/β y γ/δ se separan en estadios previos por medio de señales que se generan después del ensamblaje adecuado del receptor.

Los timocitos que sufren rearrreglos de la cadena TCR β son seleccionados para sufrir expansión y maduración adicionales, antes de la expresión de la cadena α del TCR, para posteriormente dar origen a las células T α/β . Este proceso se denomina selección β y es contro-

lado por el complejo pre-TCR. Este complejo consta de la cadena β ya con sus rearrreglos, así como una cadena pT α invariable y un número de péptidos asociados en forma no covalente denominados complejo CD3.

Eventualmente, a medida que las células ingresan a la corteza tímica (Figura 2), las células TN negativas se transforman en células DP CD4+CD8+CD3^{lo/int}, con un aumento súbito en la proliferación. Esta transición en el desarrollo está determinada por las señales efectoras de los miembros de la respuesta temprana como el EGF. De modo tal, que los timocitos DP que residen en la corteza tímica expresan TCR en forma de heterodímeros α/β . Dicha proliferación y progresión del ciclo celular puede ocurrir en forma independiente de la expresión del pre-TCR, lo que indica que éste podría estar más involucrado en la supervivencia de la célula, que en la diferenciación y proliferación propiamente dichas de los timocitos.

La expresión en la superficie celular del complejo maduro TCR α/β -CD3 se detecta por primera vez en la superficie de timocitos DP antes de su selección positiva; sin embargo, la expresión del pre-TCR parece ser un requisito para la aparición del receptor maduro. Ratones que expresan prematuramente TCR α/β presentan alteraciones en la proliferación y diferenciación de timocitos, por lo que se cree que la expresión del pre-TCR es requerida para que ocurra una óptima timopoyesis. Los eventos de selección positiva y negativa permiten que solo las células con TCR funcional, que no son autoreactivas, pasen a los sitios de inspección y control. Una pequeña fracción de las células (<5%) inhibe la expresión de uno de sus marcadores, transformándose en células CD4 SP o CD8 SP para en pocos días, dejar el timo y recircular como células T maduras.

Selección de timocitos

Después de la transición a células DP, los timocitos sufren un estricto proceso de selección con el fin de garantizar que células T maduras, exportadas del timo, son funcionales para responder a lo extraño pero tolerantes a lo propio. Estos procesos se denominan selección positiva y negativa, y están determinados por interacciones celulares y moleculares dentro del timo. La selección positiva resulta como consecuencia de la habilidad del TCR, en los timocitos en desarrollo, para reconocer péptidos propios presentados en el contexto del CMH: linfocitos T $\alpha\beta$ con TCR de baja afinidad por moléculas CMH propias uniendo péptidos propios, son seleccionadas a avanzar en el desarrollo. Los linfocitos T que no pueden reconocer estos complejos CMH-péptido propio mueren por defecto. En contraste, aquellos timocitos con afinidad muy alta por este complejo, son eliminados como consecuencia de la selección negativa, un proceso apoptótico que permite eliminar clones auto-reactivos. Entre tanto, los demás timocitos que poseen baja afinidad son seleccionados para desarrollarse finalmente en CD4+CD8- o CD4-CD8+ (SP), mediante la inhibición del co-receptor CD8 o CD4, respectivamente. El desarrollo de los timocitos en células T CD4+ ayudadoras requiere la interacción con células tímicas del estroma que expresen el CMH-II. Por otra parte, el desarrollo de las células citotóxicas T CD8+ depende de la interacción con células estromales tímicas que expresen el CMH-I.

Selección positiva

La selección positiva ha sido relacionada principalmente con células epiteliales corticales tímicas y su CMH asociado. Estudios *in vitro* han permitido establecer que estas células positivas para el CMH II no solo son necesarias,

sino suficientes para que ocurra una selección positiva de linfocitos DP y para que ocurra el desarrollo de timocitos SP CD4+. Por el contrario, el epitelio medular y las células presentadoras de antígeno de origen hematopoyético son incapaces de seleccionar positivamente o pueden seleccionar timocitos DP en forma muy ineficiente. Estos hallazgos confirman el modelo cualitativo de selección. Sin embargo, el modelo de selección por afinidad se ve apoyado por la importancia tanto de la concentración del péptido presentado como de las moléculas accesorias involucradas (por ejemplo CD28-CD80, LFA-1, ICAM-1, CD40-CD40L, etc.). En este modelo, la fortaleza de la señal es la que determina si el timocito se selecciona positiva o negativamente. Cualquiera que sea el caso, sacar conclusiones definitivas acerca de cual teoría es la única o más involucrada ha demostrado ser extremadamente difícil, ya que, debido a la gran diversidad del TCR en los timocitos en desarrollo, una gran variedad de péptidos propios es requerida para la selección positiva.

Son componentes cruciales en la selección positiva tanto la especificidad del péptido como la accesibilidad de éste por el repertorio de células T que se está desarrollando. Es muy importante que el procesamiento sea diferente entre CET y CPA derivadas de células hematopoyéticas. Significativamente, sólo las CET, pero no la CPA, expresan catepsina L, lo que puede, potencialmente, influenciar los péptidos presentados para selección positiva pero no los de selección negativa. Recientemente se ha demostrado que la competencia, entre timocitos, por un número limitado de péptidos induce re-arreglos adicionales del TCR, con el fin de producir un receptor que pueda ser seleccionado más eficientemente por otros péptidos propios tímicos. La expresión de un segundo TCR aumenta la posibilidad de ser positivamente seleccionado; esto puede ser considerado como un mecanismo de "supervivencia".

Los timocitos DP, sufren muchos cambios fenotípicos antes de que ocurra la generación de células SP CD4+ o CD8+ funcionales. La transición entre estos estadios celulares requiere de una interacción sostenida entre los timocitos y el estroma celular tímico. La inducción de la selección positiva es evidente por el aumento transitorio de la expresión del marcador temprano de activación CD69, el cual discrimina los estadios de la selección positiva, que son dependientes e independientes del CMH. Otros cambios fenotípicos incluyen la inhibición de los co-receptores de CD4 y/o CD8, de RAG-1/RAG-2, además del aumento de la expresión de TCR α/β , Qa2 y CD5. Los estadios tardíos de la selección positiva y de los eventos asociados con la post-selección, no dependen de la interacción entre CMH y el péptido responsable de la iniciación. En consecuencia, la habilidad exclusiva del epitelio tímico de mediar la selección positiva se debe, no solamente a la presentación de un repertorio de péptidos especializados, sino que también depende de la existencia de interacciones accesorias especializadas.

Selección negativa

La capacidad de responder a lo no propio, sin responder a autoantígenos, refleja la eliminación de células T autoreactivas durante la diferenciación en el timo. Este proceso de tolerancia central, denominado selección negativa, se da principalmente a través de la apoptosis, que garantiza que los timocitos frecuentemente seleccionados para ser eliminados, tengan una afinidad muy fuerte por el complejo CMH-péptido propio.

Los requerimientos para la selección negativa difieren de aquellos de la selección positiva, no solo en los tipos de células que median la selección, sino en las áreas en las cuáles se cree

que ocurre. En contraste con la selección positiva, la negativa se ha observado que ocurre ya sea en la corteza de la unión cortico-medular o en la médula del timo, y es inducida, en una gran parte, por células estromales tímicas derivadas de la médula ósea. Si la selección negativa ocurriera en el mismo lugar que la positiva, el destino de las células DP podría depender de la fuerza de señalización ocurrida entre el TCR y los complejos CMH-péptido, expresados sobre la misma célula estromal. Sin embargo, ya que la corteza carece de CPA que expresen CMH-II, las cuales son vitales para la selección negativa eficiente, este concepto parece poco probable.

La capacidad limitada de las células epiteliales tímicas para inducir selección negativa se cree que refleja el hecho de que gran parte de ellas muestran expresión exclusiva, pero limitada, de la molécula coestimuladora B7, el ligando de CD28. Sin embargo, esta idea implica que la selección negativa requiere coestimulación y este hecho, aunque ha sido propuesto, no ha sido confirmado. Adicionalmente, se cree que el tipo de célula estromal involucrada en la selección negativa depende de la avidéz de la interacción TCR-CMH, ya que el epitelio tímico puede inducir tolerancia no solo por apoptosis sino también por medio de anergia. Es probable que el compromiso de CD28 sea el de promover la selección negativa mediante apoptosis si la afinidad de TCR está en el límite. Este fenómeno, aunque puede incrementar la pérdida del número de células T, también puede minimizar el desarrollo de autoinmunidad.

A diferencia de la corteza, la médula tímica está densamente poblada por células presentadoras de antígeno, por lo que las células epiteliales medulares son capaces de inducir selección negativa de timocitos. Sin embargo, el nivel de selección negativa y el nivel de auto-tolerancia inducidos por estas interacciones no son

comparables a aquellos inducidos por las células dendríticas. Las células epiteliales medulares pueden mediar la selección negativa en ausencia de células hematopoyéticas positivas para el CMH-II, pero las células dendríticas eliminan alrededor del 50% de las células T que han pasado por el escrutinio de células epiteliales medulares. Este hecho se ha confirmado *in vitro* utilizando un cultivo de agregado tímico, en donde se observó que solo una proporción relativamente menor de células dendríticas es necesaria para la selección negativa eficiente.

Un papel interesante en la inducción de tolerancia central de las células epiteliales tímicas medulares, ha surgido recientemente. En múltiples modelos transgénicos fue posible demostrar expresión de antígenos periféricos en ciertas células medulares, y se demostró su papel en la inducción de tolerancia a una variedad de tejidos. Sin embargo, la expresión por sí sola puede no ser necesaria y exclusivamente correlacionarse con un papel en la inducción de tolerancia. En este sentido, proteínas específicas de órgano son expresadas por el 5% de células medulares. El cómo, ya sea por eliminación o anergia, una pequeña población de células es capaz de inducir tolerancia a gran escala, esta aún por esclarecerse.

Selección positiva y negativa de los linfocitos T según la afinidad de su TCR

Se han presentado dos alternativas para explicar la selección positiva y negativa; una tiene que ver con la dosis del ligando, la otra, con el tiempo que el ligando permanece unido al receptor. La primera hipótesis sugiere que una pequeña dosis de ligando de baja afinidad ocupa menos receptores y esto lleva a selección positiva, pero como esto ha sido difícil de verificar experimentalmente los autores apuntan más a la segunda alternativa. La idea es que

dependiendo del tiempo que el ligando dura unido al receptor se generan una serie de señales, de tal manera que las señales tempranas llevan a selección positiva y las señales tardías llevan a selección negativa; de esta forma, los ligandos de baja afinidad ocupan poco tiempo el receptor, lo cual induce solamente señales tempranas llevando a selección positiva, mientras que los ligandos de alta afinidad ocupan el receptor por más tiempo y esto puede dar señales tardías que llevan a selección negativa. En cualquier caso, es la avidéz en el reconocimiento antigénico, que está determinada por el número de moléculas CMH-péptido sobre las células tímicas estromales y la afinidad del TCR por estos complejos, lo que finalmente determina el destino de las células. Sin embargo, otros han postulado que lo que define el resultado de la selección cualitativa, es el tipo de células estromales que presenta ligandos del CMH a los timocitos en desarrollo. Por lo tanto, los péptidos particulares y/o las señales secundarias generadas por la interacción de un TCR-CMH específico se asociarían ya sea con la selección positiva o bien con la selección negativa, pero nunca con ambas.

En los últimos años, se han hecho avances en el estudio de los mecanismos moleculares que llevan a la selección positiva y negativa. En este sentido, se ha estudiado el papel de un grupo de proteínas pertenecientes a la familia MAP-quinasas encontrándose que tres de sus miembros, ERK, p38 y JNK (quinasa NH₂ terminal de c-Jun), pueden estar involucradas. Ligandos que llevan a la célula a una selección positiva inducen acumulación lenta y sostenida de ERK mientras los que llevan a selección negativa provocan actividad ERK fuerte y transitoria. Ligandos de alta afinidad activan la vía ERK antes que se active p38 y JNK, esto puede llevar a apoptosis de los timocitos y por lo tanto a selección negativa. Ligandos de baja afinidad inducen máxima actividad ERK después

de la inducción de p38 y JNK lo que activa un tipo diferente de factores transcripcionales los cuales llevan a la supervivencia y diferenciación de los timocitos.

Regulación de timocitos

Los timocitos que sobreviven al proceso de selección permanecen en la médula tímica alrededor de 2 semanas antes de salir hacia la periferia. Este proceso se ha asociado con cambios, no solo fenotípicos, sino también funcionales en los timocitos SP. Los timocitos recién seleccionados poseen el fenotipo HSA^{hi}CD69+CD24+CD62L-Qa-2-, mientras que los timocitos recién emigrados son HSA^{lo}CD69-CD24-CD62L+Qa-2+.

Después del proceso de diferenciación, se cree que los timocitos maduros migran hacia las vénulas post-capilares en la unión cortico-medular del timo, y que sólo los timocitos más maduros son capaces de sobrevivir en la periferia. Este hecho sugiere que, la maduración funcional gobierna el proceso de exportación de las células T y que no es un evento pasivo determinado por la edad del timocito. Los procesos de señalización se ven aumentados durante la exportación de células, y la naturaleza de la señal requerida aún se desconoce, pero es probable que involucre cambios en el microambiente conformado por células estromales medulares y perivasculares.

Eventos moleculares durante la ontogenia de las células T

Los cambios celulares que ocurren durante la diferenciación tímica que se acaban de describir, los cuales culminan con la generación de células T con capacidad de responder en la periferia frente a una gran variedad de antígenos,

se acompaña de una serie de eventos genéticos que tienen como punto central la generación de un receptor antigénico funcional.

LOCALIZACIÓN DE LOS GENES DEL TCR

En el cromosoma 14 humano se encuentra el locus genético que codifica la cadena α del TCR. Al igual que ocurre con los genes de las inmunoglobulinas este gen está constituido por un gran número de fragmentos de DNA que contienen la información para la región variable de esta cadena. Se han identificado alrededor de 50 secuencias genéticas V, 50 - 70 fragmentos J y una secuencia C. Al frente de cada fragmento V se encuentra una secuencia señal (L). Los fragmentos genéticos V y J codifican la región variable mientras que la secuencia de DNA C codifica la región constante; esta última está compuesta de cuatro exones: uno que codifica el dominio constante, otro que codifica 16 aminoácidos incluyendo los residuos de cisteína que forman el puente disulfuro, un tercer exón que codifica las regiones transmembrana y citoplasmática y finalmente un exón que contiene la región 3' no traducida.

El locus que contiene la información para la cadena β del TCR humano se localiza en el cromosoma 7, en un segmento del genoma de 686 Kb. Se ha estimado que existen alrededor de 75 fragmentos genéticos V; hacia el extremo 3' de esta región están localizados dos grupos de secuencias, cada una con un fragmento D, siete secuencias J y una secuencia C (Figura 3). Los fragmentos VDJ codifican la región variable de esta cadena.

En la misma región del cromosoma 14 donde se encuentra el gen que codifica la cadena α , está ubicado el gen para la cadena δ del TCR.

Este gen, al igual que el gen de la cadena α , contiene fragmentos V, J y C, pero posee una secuencia adicional conocida como D. A diferencia de la cadena α , la diversidad de la región variable es mucho más limitada, pues solo se han descrito en el humano entre cuatro y ocho fragmentos genéticos V; además, existen tres secuencias D y dos secuencias J. Este locus contiene una secuencia constante. Las secuencias V, D y J son los que codifican la región variable de la cadena δ del TCR.

Cuando ocurre un rearrreglo genético de las secuencias $V\alpha$ y $J\alpha$ se pierde la totalidad del genoma para los fragmentos genéticos D/J/C del TCR δ , lo cual indica que las secuencias $D\delta$, $J\delta$ y $C\delta$ están ubicadas en la región comprendida entre las secuencias $V\alpha$ y $J\alpha$. Con relación a las secuencias $V\delta$ se considera, como lo más probable, que también se encuentran entre $V\alpha$ y $J\alpha$; sin embargo, algunos fragmentos $V\delta$ como por ejemplo el $V\delta 6$, rara vez son eliminados durante los rearrreglos $V\alpha$ - $J\alpha$ lo que supone que pueden existir genes $V\delta$ localizados al extremo 5' de los fragmentos $V\alpha$. Toda la región del genoma que contiene los genes de las cadenas α y δ tiene un tamaño de 1.1 megabases (Figura 3).

En otra región del cromosoma 7 humano se localizan las secuencias de DNA que codifican la cadena γ , la cual comprende una región de 150 kilobases. Al igual que sucede con la cadena δ , la cadena γ tiene una diversidad limitada, pues en esta región se encuentran solo ocho

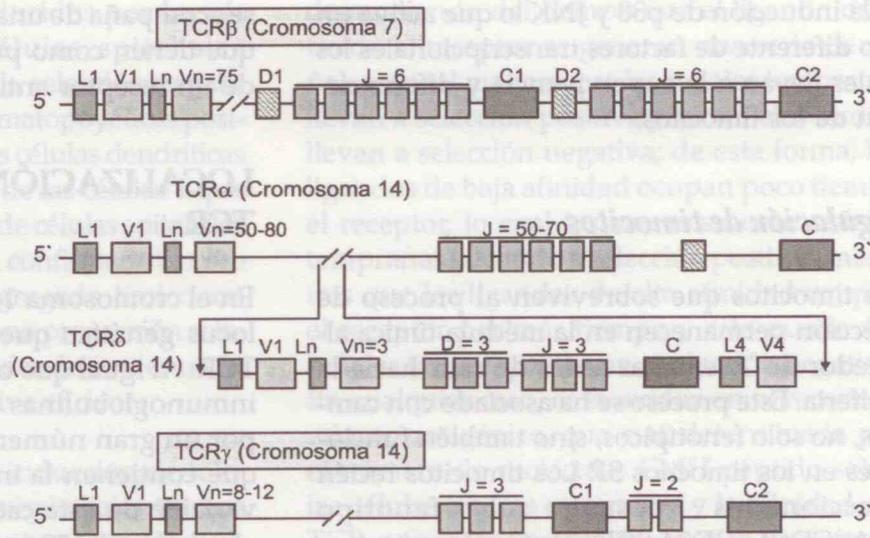


Figura 3. Organización de los genes que codifican el TCR.

secuencias V y dos grupos de secuencias J/C, cada grupo contiene dos o tres segmentos J y una secuencia C.

RECEPTOR DE CÉLULAS T

Recombinaciones génicas del TCR

La diversidad de los TCR se produce por recombinación somática de los fragmentos genéticos que codifican las regiones variables de las distintas cadenas; para el caso de las cadenas α y γ se rearrreglan las secuencias VJ mientras que para las cadenas β y δ la recombinación incluye a la región D; por lo tanto, se forma una secuencia VDJ (Figura 4). La recombinación somática se produce por la acción de recombinasas RAG en una forma similar a la que ocurre en linfocitos B para el rearrreglo de inmunoglobulinas. Estas recombinasas reconocen sitios específicos en el genoma llamados RSS que están localizados al lado 3' de cada fragmento V, al lado 5' de cada fragmento J y a ambos lados de las secuencias D. Una región RSS consta de una secuencia altamente con-

servada de 7 nucleótidos (heptámero, consenso 5' - CACAGTC) localizada junto a la secuencia codificadora, le sigue otra no conservada de 12 o 23 nucleótidos (secuencia espaciadora) y luego una altamente conservada de 9 nucleótidos (nonámero, consenso 5' - ACAAAAACC). Los espaciadores, al parecer, acercan los heptámeros y nonámeros para que sean reconocidos en forma simultánea por las RAG. La longitud del espaciador define dos tipos de RRS llamados RRS-12 y RRS-23; solamente se presenta una recombinación eficiente entre un RRS-12 y un RRS-23, restricción conocida como la regla 12/23; así por ejemplo, para las cadenas β y δ primero se deben recombinar las secuencias D con las secuencias J y luego los fragmentos V con el DJ rearrreglado, ya que V y J tienen un espaciador de 23 pb al lado 3' y 5', respectivamente, mientras que D tiene uno de 12 pb a cada lado.

Se han propuesto dos fases en el proceso de recombinación (Figura 5):

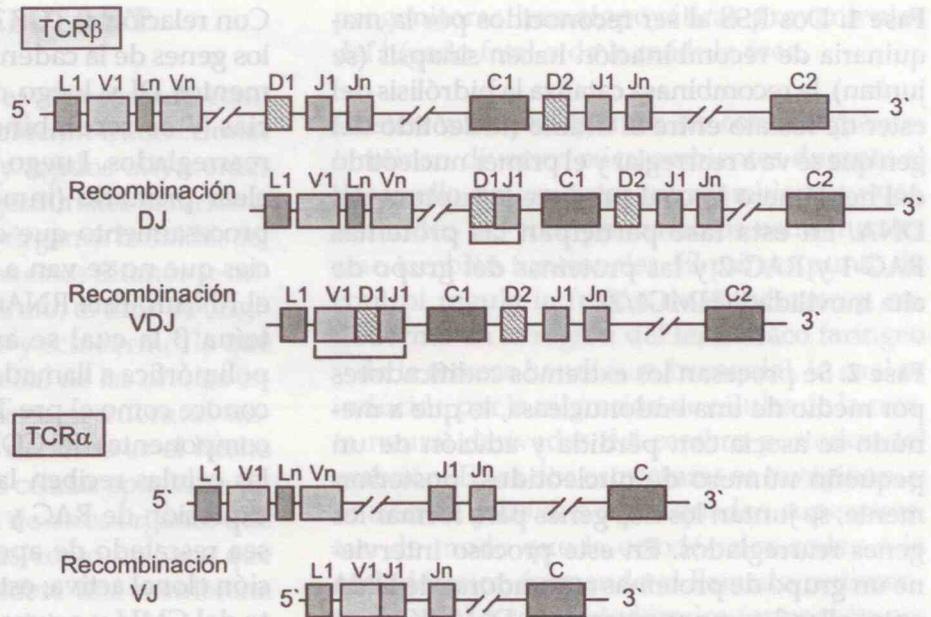


Figura 4. Rearreglo del material genético que codifica el TCR ab.

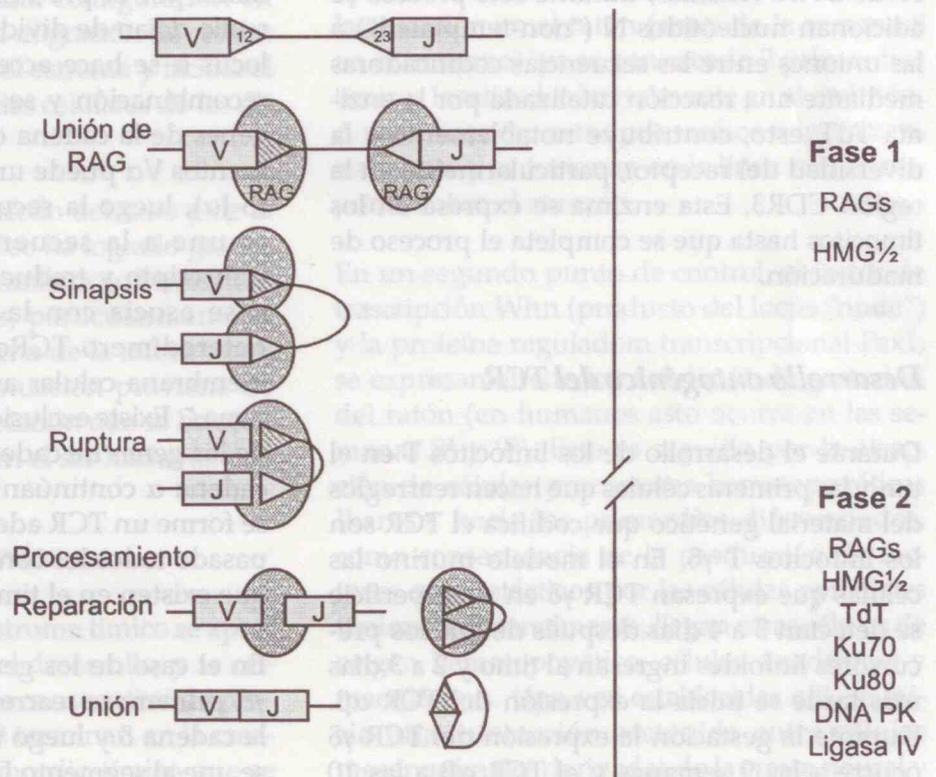


Figura 5. Fases del proceso de recombinación.

Fase 1. Dos RSS al ser reconocidos por la maquinaria de recombinación hacen sinapsis (se juntan), la recombinasa cataliza la hidrólisis del ester de fosfato entre el último nucleótido del gen que se va a reorganizar y el primer nucleótido del heptámero lo cual produce la ruptura del DNA. En esta fase participan las proteínas RAG-1 y RAG-2 y las proteínas del grupo de alta movilidad (HMG1/2).

Fase 2. Se procesan los extremos codificadores por medio de una endonucleasa, lo que a menudo se asocia con pérdida y adición de un pequeño número de nucleótidos; posteriormente, se juntan los dos genes para formar los genes reorganizados. En este proceso interviene un grupo de proteínas reparadoras de DNA entre ellas 3 componentes de la DNAPK como son Ku70, Ku80, la subunidad catalítica de la quinasa DNAPK, XRCC4 y la proteína ligasa IV de DNA. Además, durante este proceso se adicionan nucleótidos N ("non-templated") a las uniones entre las secuencias codificadoras mediante una reacción catalizada por la enzima TdT; esto, contribuye notablemente a la diversidad del receptor, particularmente en la región CDR3. Esta enzima se expresa en los timocitos hasta que se completa el proceso de maduración.

Desarrollo ontogénico del TCR

Durante el desarrollo de los linfocitos T en el timo, las primeras células que hacen reorganizados del material genético que codifica el TCR son los linfocitos T $\gamma\delta$. En el modelo murino las células que expresan TCR $\gamma\delta$ en su superficie se detectan 3 a 4 días después de que los precursores linfoides ingresan al timo y 2 a 3 días más tarde se inicia la expresión del TCR $\alpha\beta$. Durante la gestación la expresión del TCR $\gamma\delta$ ocurre a las 9 semanas y el TCR $\alpha\beta$ a las 10 semanas

Con relación al TCR $\alpha\beta$, primero se reorganizan los genes de la cadena β , iniciando con los segmentos DJ y luego cualquiera de las secuencias V se recombina con los segmentos DJ reorganizados. Luego se transcribe el RNA nuclear primario (inmaduro), el cual sufre un procesamiento que elimina todas las secuencias que no se van a traducir para así generar el RNAm. Este RNAm es traducido en la proteína β la cual se asocia a una proteína no polimérica a llamada pT α formando lo que se conoce como el pre-TCR, que se asocia con los componentes del CD3. Mediante este complejo las células reciben las señales que inhiben la expresión de RAG y permiten que el timocito sea rescatado de apoptosis y entre en expansión clonal activa; este evento es independiente del CMH y ocurre al momento en el cual el precursor de linfocito T se convierte en célula DP CD4⁺CD8⁺. Posterior a esta selección mediada por el pre-TCR, los timocitos en desarrollo dejan de dividirse, se reexpresa RAG, el locus α se hace accesible a la maquinaria de recombinación y se inicia el reorganizado de los genes de la cadena α (cualquiera de los fragmentos V α puede unirse a cualquier segmento J α), luego la secuencia V α -J α reorganizada se une a la secuencia C. Después de ser transcripto y traducido, el producto del gen α se asocia con la cadena β formando el heterodímero TCR $\alpha\beta$ que se expresa en la membrana celular asociado al CD3 y a la cadena ζ . Existe exclusión alélica para el reorganizado de los genes de cadena β , pero los genes de la cadena α continúan reorganizándose hasta que se forme un TCR adecuado, después de haber pasado todos los controles de calidad del TCR que existen en el timo.

En el caso de los genes que codifican el TCR $\gamma\delta$, primero se reorganizan los segmentos DJ de la cadena δ y luego uno de los segmentos V δ se une al segmento DJ reorganizado. Cuando se produce la proteína funcional se activan los

rearreglos en los segmentos V y J que codifican la cadena γ . Al producirse la proteína γ ésta se asocia a la cadena δ y se forma el heterodímero asociado también al CD3 y a la cadena ζ . No hay evidencia de un prerreceptor en el desarrollo del TCR $\gamma\delta$, un hecho que se ha asociado con ausencia de expansión clonal de los progenitores de estas células durante su desarrollo en el timo.

Existe selección en el desarrollo de una célula T impuesto por la expresión de un TCR $\gamma\delta$ completo; de esta manera, los rearreglos iniciales $\gamma\delta$ parece que impiden rearreglos $\alpha\beta$. Se ha demostrado que el rearreglo de genes $\gamma\delta$ y $\alpha\beta$ en una misma célula es incompatible con la vida de la célula. La expresión de un TCR $\gamma\delta$ en un progenitor programado a ser linfocito T $\alpha\beta$, o la expresión de un pre-TCR en una célula programada a ser linfocito T $\gamma\delta$, lleva a la eliminación de los linfocitos T $\alpha\beta$ y T $\gamma\delta$, respectivamente.

Base molecular de la selección de linfocitos T $\alpha\beta$ y T $\gamma\delta$

Aún no se tiene evidencia bioquímica sobre los mecanismos que llevan a una célula T a ser $\gamma\delta$ ó $\alpha\beta$, pero se han descubierto unas moléculas claves en la expresión de los genes TCR, como son la IL-7 y un grupo de proteínas llamadas bHLH ("basic helix loop helix"). Señales mediadas por el receptor de la IL-7 controlan los rearreglos y transcripción de genes TCR $\gamma\delta$; en este caso se propone un mecanismo que depende de la acetilación de histonas, lo cual produce desempaquetamiento de nucleosomas haciendo accesibles los RSS a la maquinaria de recombinación.

Proteínas de la familia bHLH como E2A, HEB, Id, SCL son reguladores importantes en el desarrollo de linfocitos T. Estas proteínas forman

dímeros al unirse entre sí y funcionan como un complejo de varios componentes que incluyen diversos reguladores transcripcionales como el complejo SAGA y p300 que pueden desempaquetar histonas. El número de linfocitos T $\alpha\beta$ se reduce 5 a 10 veces en ratones HEB $^{-/-}$ y E2A $^{-/-}$ y el de linfocitos T $\gamma\delta$ se reduce 10- 40 veces en ratones E2A $^{-/-}$ pero no en ratones HEB $^{-/-}$, sugiriendo que E2A puede tener un papel único en el desarrollo de la línea T $\gamma\delta$, mientras que HEB promueve principalmente la línea T $\alpha\beta$.

Edición del TCR

La calidad del TCR que se produce, debe ser verificada antes que los linfocitos T abandonen el timo. Los rearreglos de la cadena β continúan hasta que cesan las señales mediadas por el pre-TCR y los rearreglos de la cadena α continúan hasta que la selección positiva establece que se ha producido la expresión de un heterodímero TCR $\alpha\beta$ apropiado. Cuando se produce un TCR inadecuado los genes de la cadena TCR α que no fueron rearreglados inicialmente pueden hacer un rearreglo secundario; este proceso se conoce como edición del receptor. Esto le permite a los timocitos en desarrollo probar varios TCR para poder lograr una selección positiva.

El mecanismo propuesto para que se induzcan nuevos rearreglos en los genes TCR α es el siguiente: Según la afinidad de la unión del TCR a un ligando, la interacción puede ser permanente, lo cual provoca una internalización del TCR produciéndose una disminución en la señalización mediada por este receptor; esto es percibido por la célula como ausencia de un TCR funcional y en respuesta, activa nuevamente la maquinaria de recombinación. Cuando los linfocitos T han madurado y están en los ganglios linfáticos pueden probar nueva-

mente su receptor, si reconocen un autoantígeno pueden ser eliminados o hacer una reedición del receptor mediante rearrreglos en los genes que codifican la cadena β ; parece ser que el proceso depende de la interacción entre linfocitos T y linfocitos B. La estructura del locus β del TCR es consistente con edición del receptor ya que muchos genes $D\beta/J\beta/C\beta$ 5' pueden ser eliminados y remplazados por otro grupo de genes $D\beta/J\beta/C\beta$ 3' ubicados en el mismo cromosoma mediante recombinación VDJ (Figura 6).

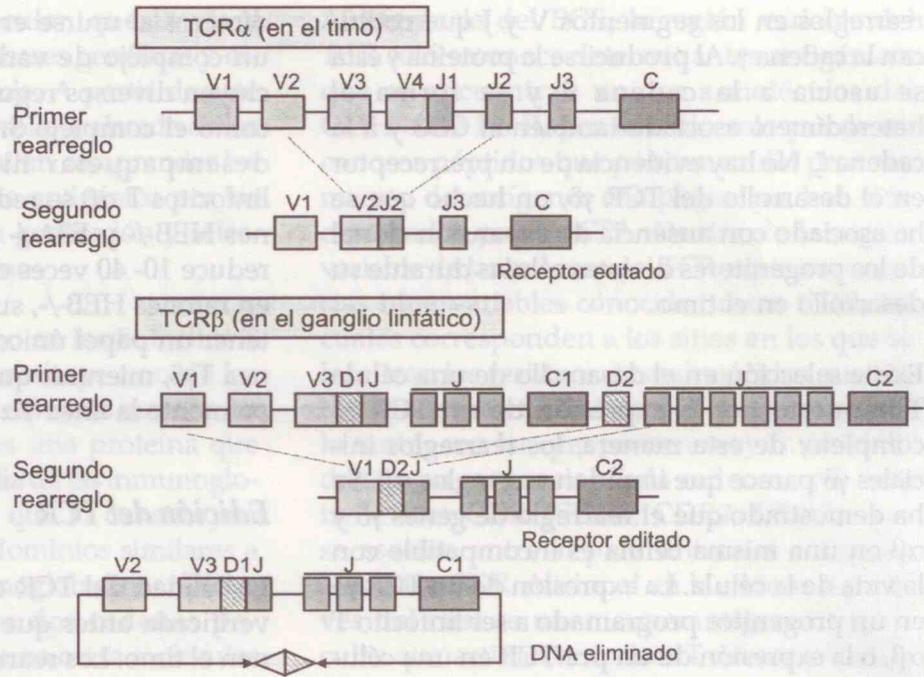


Figura 6. Edición del TCR

En resumen, la maduración y diferenciación de los linfocitos T es un proceso altamente especializado a través del cual estas células adquieren su receptor específico de antígeno, que se selecciona para reconocer con cierta afinidad las moléculas extrañas y no las propias, al tiempo que se seleccionan diferentes subpoblaciones de células T con diferente fenotipo estructural y funcional. Muchos de los procesos

LECTURAS RECOMENDADAS

1. Berg LT, Kang J. Molecular determinants of TCR expression and selection. *Current Opinion Immunol* 2001;13:232-41
2. Davis MM, Chien YH. T cell antigen receptors. In: Austen KF, Frank MM, Atkinson JP, Cantor H. *Samter's Immunologic Diseases, Sixth ed vol I*, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001:31-43
3. Fugmann SD, Lee AI, Shockett PE, et al. The RAG proteins and V (D) J recombination: Complexes, ends and transposition. *Annu Rev Immunol* 2000;18:495-527
4. Hayday AC. gd Cells: A right time and a right place for a conserved third way of protection. *Annu Rev Immunol* 2000;18:975-1026.

5. Nemazee D. Receptor selection in B and T lymphocytes. *Annu Rev Immunol* 2000;18:19-51.
6. Werlen G, Hausmann D, Naeher D, Palmer E. Signaling life and death in the thymus: Timing is everything. *Science* 2003;299:1859-63.
7. Gill J, Malin M, Sutherland J, Gray D, Hollander G, Boyd R. Thymic generation and regeneration. *Immunol Rev* 2003;195:28-50.
8. van Ewijk W, Hollander G, Terhorst C, Wang B. Stepwise development of thymic microenvironments in vivo is regulated by thymocyte subsets. *Development* 2000;127(8):1583-91.
9. Anderson G, Hare KJ, Jenkinson EJ. Positive selection of thymocytes: the long and winding road. *Immunol Today* 1999;20(10):463-8.
10. Norment AM, Bevan MJ. Role of chemokines in thymocyte development. *Semin Immunol* 2000;12(5):445-55.
11. Manley NR, Blackburn CC. A developmental look at thymus organogenesis: where do the non-hematopoietic cells in the thymus come from? *Curr Opin Immunol* 2003;15(2):225-32.
12. Manley NR. Thymus organogenesis and molecular mechanisms of thymic epithelial cell differentiation. *Semin Immunol* 2000; 12 (5): 421-8.
13. Starr TK, Jameson SC, Hogquist KA. Positive and negative selection of T cells. *Annu Rev Immunol*. 2003;21:139-76.

Como se ha mencionado anteriormente, la función mejor conocida del CMH es su participación en la generación de la respuesta inmune, lo cual se hace por lo menos en dos niveles: en el timo, durante el período en que se establece la tolerancia central y en el sistema inmune periférico durante el contacto con antígenos ambientales. Es difícil entonces encontrar un aspecto de la respuesta inmune adquirida que no se relacione con el CMH. Aunque los mecanismos mediante los cuales ejerce esta función primordial no están totalmente esclarecidos, actualmente se consideran varias hipótesis sobre su influencia en la evolución de la respuesta inmunológica, así como en la regulación y especificidad de dicha respuesta.

Al ser moléculas polimórficas (es decir que varían en su composición de aminoácidos, lo cual implica un cierto grado de variación estructural del sitio de unión al péptido), el tipo de péptidos que unen dependerá de ese polimorfismo, ya que la unión depende de interacciones entre los aminoácidos del surco y los del péptido. Es lógico pensar entonces, que habrá péptidos que se unen muy bien a ciertas variantes (alelos) del CMH y otros que lo hacen menos eficientemente. Asumiendo que la calidad de la respuesta inmune dependa del grado de unión del péptido,

como del CMH específicas, se ha podido entender que el juego de moléculas del CMH que tiene un humano, y sus posibles combinaciones, le sirve para presentar a los LP la mayoría de los péptidos, casi siempre de manera estricta en cuanto a la respuesta inmune protectora se refiere. Además, la posibilidad de que un determinado polimorfismo del CMH influya en la selección positiva o negativa de los LT en el timo, condicionando el repertorio de LT circulantes y en consecuencia determinando la amplitud y calidad de la respuesta inmune también se ha explorado y los resultados indican que eso parece ser cierto, al menos en el caso de ciertos virus que infectan al hombre.

EL IMPACTO DEL COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD EN MEDICINA

La existencia de enfermedades en donde la respuesta inmune resulta nociva para el organismo, como las autoinmunes y las alergias, involucra a las moléculas del CMH en un campo de mucha importancia en medicina, cualquiera que sea el origen de esos trastornos, se manifiestan como una respuesta inmune contra antígenos a los cuales son tolerantes la mayoría de los individuos. Por tratarse de respues-