

MECANISMOS EFECTORES DE LAS CÉLULAS B

Heli Salgado
Universidad de Antioquia

Abreviaturas usadas en este capítulo:

ADCC: Citotoxicidad celular mediada por anticuerpos
Ag: Antígeno
BCR: Receptor de células B
CMH: Complejo mayor de histocompatibilidad
CPA: Células presentadoras de antígenos
CR: Receptor de complemento
DAG: Diacil glicerol
EBV: Virus Epstein Barr
FcR: Receptor de la fracción Fc de las inmunoglobulinas
ICAM: Molécula de adhesión intercelular
IFN: Interferón
ITAM: Motivo de activación del inmunorreceptor vía tirosina
ITIM: Motivo de inhibición del inmunorreceptor vía tirosina
Ig: Inmunoglobulina
IgSF: Superfamilia de las inmunoglobulinas
kDa: Kilodalton
LB: Linfocito B
LFA: Antígeno asociado a la función leucocitaria
LPS: Lipopolisacárido
LT: Linfocito T
mIg: Inmunoglobulina de membrana
NK: Asesinas naturales

PKC: Proteína quinasa C
PLC: Fosfolipasa C
PMN: Polimorfonuclear neutrófilo
PTK: Proteínas tirosina quinasa
SCF: Factor de crecimiento de células madre
TCR: Receptor de células T
TGF: Factor transformante del crecimiento
TI: Timoindependientes
VCAM: Molécula de adhesión a la célula vascular

INTRODUCCIÓN

Los LB son células de la serie leucocitaria cuya principal característica es la de sintetizar y expresar en su membrana moléculas de Ig. Estas células constituyen entre el 5 y 15% de los linfocitos circulantes y reconocen al Ag en forma soluble por medio de las regiones variables de su mIg, la cual constituye la parte central del BCR. En cada LB existen unas 150.000 moléculas de mIg (isotipos M y D), las cuales tienen la misma especificidad antigénica. Asociada a cada mIg existen dos tipos de cadenas invariantes conocidas como $Ig\alpha$ (CD79a) e $Ig\beta$

(CD79b) que se unen en forma no covalente con la mIg. En ausencia de un estímulo antigénico, los LB maduros vírgenes mueren por apoptosis al cabo de unos pocos días después de terminar el proceso de diferenciación en la médula ósea. En cambio, si su BCR se une al Ag complementario específico y además recibe señales adicionales de macrófagos y LT se pone en marcha la selección y proliferación clonal, que termina al cabo de 4-5 días, con la diferenciación de dos subpoblaciones: una de células plasmáticas secretoras de anticuerpos (plasmocitos) y otra de células B de memoria.

ORIGEN Y DESARROLLO DEL LINFOCITO B

Durante la vida fetal los LB se producen en el hígado y en médula ósea, y luego del nacimiento, su origen y maduración, en los humanos, ocurre únicamente en la médula ósea. La secuencia de eventos que ocurre en el proceso de maduración de estas células se puede resumir así:

- En la médula ósea se encuentran las células madres pluripotenciales caracterizadas por la presencia de los marcadores CD34 y CD43 en su superficie, esas células proliferan por acción del SCF y de la IL-11, factores producidos por las células del estroma de la médula ósea, y de la IL-3 y la IL-1.
- Posteriormente, por acción de la IL-7 se generan los precursores linfoides, lo cual es seguido de rearrreglos de los genes de cadenas pesadas y livianas para lograr la producción de las Ig de superficie, inicialmente de la mIgM seguida de la mIgD.
- Luego, y como consecuencia de la activación desencadenada por un Ag, así como por la ayuda dada por los LT CD4+, el LB expresa las mIgG, mIgA y mIgE.

- Finalmente, la mayoría de los LB se transforman en células plasmáticas productoras de anticuerpos mientras que un pequeño porcentaje permanece como LB de memoria.

En el estadio de células pro-B, el rearrreglo del gen de la cadena pesada de la inmunoglobulina permite la expresión de la mIgM. Posteriormente, durante el estadio de células pre-B, la mIgM se ensambla con las Ig α -Ig β y con la cadena surrogada liviana (proteínas similares a las Ig pero que tienen un solo dominio de secuencia invariante) para constituir el pre-BCR. La formación del pre-BCR entrega una señal a la célula, indicándole que se ha terminado el rearrreglo de la cadena pesada y que se puede iniciar el rearrreglo del locus κ , cuya expresión va a sustituir la cadena surrogada liviana. Cuando se termina el rearrreglo de las cadenas liviana y pesada, se forma un Ac completo y se expresa el BCR; la formación de este complejo frena el rearrreglo de cadenas livianas y se asegura así que solo se produzca un Ac específico (fenómeno conocido como exclusión alélica).

Las clonas de LB que no logran desarrollar rearrreglos productivos, de alguno de los genes de las cadenas pesadas o livianas mueren por apoptosis. Adicionalmente, existen mecanismos que aseguran la muerte de cualquier nueva clona de células B cuyos anticuerpos reaccionan contra proteínas de células propias (tolerancia hacia lo propio).

Antígenos de diferenciación de Linfocitos B

Desde etapas de diferenciación tempranas los LB expresan moléculas del CMH-II que sólo se encuentran en las demás células presentadoras de antígenos profesionales. También, en todas las etapas del proceso de diferenciación se expresa CD19, que es el mejor marcador del LB. En el LB maduro se aprecia la expresión

de CD20, que se pierde en el paso a células plasmáticas. Los LB inmaduros y maduros expresan CD21 (CR2), que es también un receptor para complemento y para el EBV. Las moléculas CD19 y CD20 son importantes en la proliferación y activación de los LB. Por último, en los LB activados se regula positivamente la expresión de la proteína CD38. Otra molécula accesoria fundamental en los LB es CD40, ya que cuando esta molécula se une a su ligando, el CD40L (CD154) en el LT genera señales en el LB para que cambie el isotipo de IgM e IgD a IgG y luego a las demás clases de inmunoglobulinas. Además de las moléculas mencionadas, los LB expresan otras que son importantes para su función como el CD35 (CR1) y el CD32 (Fc γ RII).

Las células plasmáticas se caracterizan por: carecer de mIg, son de mayor tamaño que los LB y poseen abundante citoplasma; se localizan en los órganos linfoides secundarios y los lugares de la respuesta inmune. Estas células tienen una vida media de pocos días y por ser células en fase de diferenciación terminal, carecen de capacidad mitótica y mueren por apoptosis.

Los LB de memoria, en cambio, pueden vivir en reposo durante largos períodos (más de 30 años). Cuando se exponen al Ag específico, generan una respuesta más rápida, más intensa y con mayor afinidad que la que ocurre durante el primer encuentro con dicho Ag. Su aspecto es similar al de los LB vírgenes.

La inmunidad humoral específica está diseñada para eliminar patógenos extracelulares y evitar la diseminación de los intracelulares, aprovechando que estos últimos se transmiten de célula a célula por medio de los líquidos extracelulares. Los anticuerpos, por sí mismos, no eliminan directamente a los antígenos pero tienen la capacidad de activar sistemas de lisis como son: 1) el sistema del complemento que

puede llevar a lisis del patógeno; 2) quimiotaxis de fagocitos; 3) opsonización de los fagocitos; 4) tienen la capacidad de actuar como antitoxinas y de neutralizar virus y 5) Son mediadores de la ADCC. Por lo tanto, en la respuesta humoral podemos distinguir dos grandes fases: la de inducción de la producción de anticuerpos, y la fase efectora, en la que dichos anticuerpos, directamente o, más a menudo, indirectamente eliminan al patógeno.

FASES DE LA INDUCCIÓN DE LA RESPUESTA HUMORAL HACIA ANTÍGENOS TIMO-DEPENDIENTES

Un aspecto esencial de la respuesta inmune específica contra los antígenos timo-dependientes es que tanto el linfocito Th como el LB, por medio de sus respectivos receptores específicos, reconocen determinantes (epítopes) diferentes del mismo Ag o complejo antigénico original. El BCR de cada LB reconoce una parte de una proteína o la porción lipídica o hidrocarbonatada de un conjugado con proteína. La mIg del LB cumple dos funciones importantes: primero, como parte del complejo BCR, junto con Ig α / Ig β , transmite señales al interior de la célula para lograr una adecuada activación, y segundo, como receptor específico implicado en la endocitosis, permite la captura de los antígenos nativos y su ingreso a la ruta endocítica para su degradación y procesamiento. A continuación, se presenta una visión general de la forma como ocurre la respuesta contra este tipo de antígenos (Figura 1):

- Un linfocito Th sea virgen o de memoria entra en contacto con una CPA que le presenta un péptido antigénico en el contexto del CMH-II; esto provoca la activación y proliferación clonal del linfocito Th que ha sido sensibilizado.

- Por otro lado, el LB (virgen o de memoria) reconoce al Ag nativo, generalmente mediante la interacción con otro epítipo diferente al que reconoció el Th. Esto es seguido por la internalización y procesamiento del Ag, lo cual permite la presentación de algunos de los péptidos resultantes en sus moléculas del CMH-II.

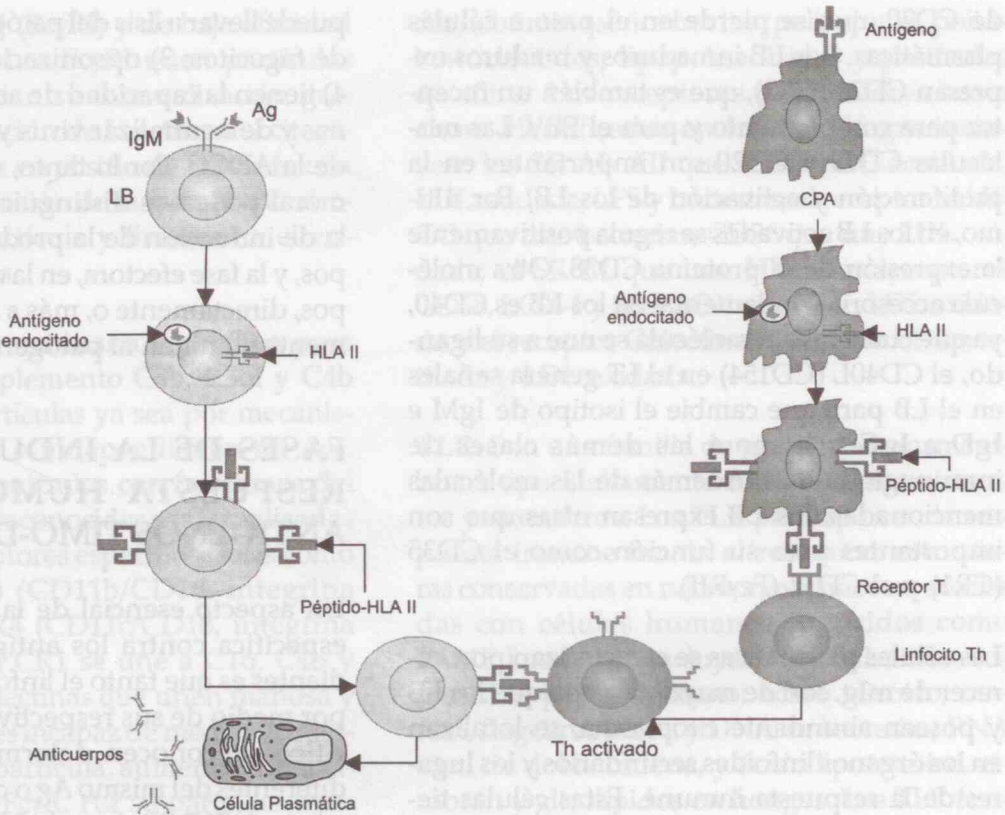


Figura 1. Visión general de la inducción de la respuesta inmune humoral

- El linfocito Th sensibilizado reconoce mediante su TCR la combinación específica péptido-CMH-II en la superficie del LB que se formó en el evento anterior, lo cual permite la constitución del llamado conjugado Th-B. En dicho conjugado, el linfocito Th suministra dos señales químicas al LB: una por medio de la molécula de membrana CD40L (CD154) y la otra gracias a la acción de las citoquinas que produce.
- Estas señales son transducidas al interior del LB, lo que provoca la proliferación clonal del linfocito, y finalmente la diferenciación hasta células plasmáticas secretoras de anticuerpos y LB de memoria. El LB que no recibe estas señales del linfocito Th entra en un estado de anergia.

Fase 1: Activación y proliferación del linfocito Th

Una vez el Ag ingresa al organismo puede viajar por sí solo a un órgano linfóide secundario, o bien puede ser capturado, transportado y eventualmente procesado, por una CPA profesional, por ejemplo las células de Langerhans de la piel, las células dendríticas intersticiales de los tejidos, los monocitos y los macrófagos.

En el órgano linfóide secundario la CPA presenta diversos epítopos de este Ag, los cuales eventualmente van a ser reconocidos por un linfocito Th en reposo. Una vez se establece una interacción exitosa, la CPA le entrega dos señales de activación al linfocito Th: una primera señal que depende de la unión del TCR al

epítoto presentado por la molécula del CMH-II, y una segunda señal (coestimuladora) que se presenta por la unión del CD28 del Th a la molécula B7 de la CPA. Además, la CPA secreta citoquinas como la IL-1 y la IL-12. Esto induce al linfocito Th a producir IL-2 y a expresar receptores de alta afinidad para esta IL-2, lo cual permite su activación y proliferación, logrando así la expansión clonal de células Th.

Fase 2: El linfocito B reconoce específicamente al antígeno nativo

A pesar que el LB es una CPA, se diferencia del monocito-macrófago y de las células dendríticas porque posee la capacidad de internalizar y procesar solamente el Ag específico que es reconocido por su mIg. De hecho, es capaz de procesar Ag a concentraciones de 100 a 10.000 veces menores de las requeridas por el macrófago. Aunque la célula B no es una célula fagocítica, puede internalizar antígenos tan grandes como virus, mediante la endocitosis mediada por receptor (se da un entrecruzamiento de dos complejos BCR por una misma molécula antigénica). Una vez en el interior de la célula, el Ag es degradado hasta péptidos, algunos de los cuales se pueden unir al surco de las moléculas del CMH-II.

Una vez que el Ag se une a la mIg, las colas citoplásmicas de las cadenas $Ig\alpha/Ig\beta$ inician una cascada de fosforilaciones y desfosforilaciones, donde están implicadas varias PTK, tales como Lyn, Fyn y Btk. Al cabo de unos 30 segundos, se han fosforilado muchas proteínas celulares que conducen a la activación de la PLC. A partir de aquí, se activan las rutas del IP_3 y el DAG; la primera conduce a la activación de la vía de la calcineurina/calmodulina, y la segunda a la activación de la PKC. Ambas colaboran en la activación de una serie de genes tempranos que codifican por factores de transcripción como el AP1, c-Myc, etc.

Fase 3: Formación del conjugado Th-B e intercambio de señales

La célula Th que previamente ha sido sensibilizada, mediante la interacción con una célula dendrítica, reconoce por medio de su TCR, la configuración peculiar del péptido específico presentado en el contexto del CMH-II en la superficie del LB que está actuando como CPA. Las moléculas de membrana del LT se concentran en la zona de contacto intercelular: TCR/CD3/CD4 interactúan con el complejo CMH-II-péptido del LB, el LFA-1 en el LT interactúa con ICAM-1 en el LB y el CD28 en el LT se une con la molécula B7 del LB. Esta reorientación constituye una sinapsis inmunológica, la cual le da una mayor avidez a la interacción de estas dos células; de esta manera, el contacto tiene mayor duración, lo cual facilita la entrega de señales que necesita el LB para su adecuada activación: CD40L y citoquinas.

Fase 4: Efecto de las señales del linfocito Th sobre el linfocito B

Los dos tipos de señales del linfocito Th (CD40L y citoquinas) provocan que el LB salga de su estado de reposo y entre a ciclo celular; otras moléculas hacen que el LB progrese a lo largo del ciclo celular y/o que se diferencie. La unión de la molécula CD40L del Th con el CD40 del LB induce una señal para que este último sintetice y ensamble en membrana receptores para diversas citoquinas; esto ocurre en las primeras 12 horas del contacto inicial del Ag con la mIg. Entonces, el LB, que hasta este momento estaba en fase G_0 , puede iniciar el ciclo celular (G_1); esto se conoce como una señal de competencia en la activación del LB. Las citoquinas que se están secretando en este microambiente, particularmente la IL-4 junto con la IL-1, actúan como señales de competencia (favorecen el paso de G_0 a G_1); además, la misma IL-4 tam-

bién actúa como señal de progresión, pues favorece el avance del ciclo celular: de G₁ a S y a M, con lo que empieza la proliferación clonal. Otras citoquinas que colaboran para la proliferación del LB son la IL-2 y la IL-5. El posterior proceso de diferenciación requiere de la IL-6, aunque participan otras citoquinas como la IL-5, IL-10 e IFN- γ . Como ya se mencionó previamente, durante esta diferenciación se producen dos subpoblaciones o subclonas: una de células plasmáticas secretoras de anticuerpos y otra de células B de memoria.

Esta respuesta de los LB frente a los antígenos timo-dependientes se caracteriza porque establece una memoria inmunológica, permite que haya maduración de la afinidad de los anticuerpos conforme pasa el tiempo, y además experimenta el cambio de isotipo, fenómeno que depende de la acción de varias citoquinas sobre la producción de las clases y subclases de inmunoglobulinas. Por ejemplo, se conoce que en el ratón, la IL-4 induce la producción de IgG1 y luego de IgE, el TGF- β induce la síntesis de IgG2b e IgA, mientras el IFN- γ induce las subclases IgG2a e IgG3.

ESTRUCTURA DEL ANTICUERPO

Las proteínas producidas por los plasmocitos migran en la zona gamma de la electroforesis de proteínas séricas, por lo cual se denominaron gammaglobulinas (describe la migración); con el término de inmunoglobulinas se definen las proteínas globulares que tienen origen en los LB y en los plasmocitos (describe su estructura y origen celular), mientras que el término anticuerpos se aplica a las moléculas de origen inmune con capacidad de unirse al determinante antigénico con una alta especificidad (describen función), que sólo son producidos por los LB, que los expresan en la membrana, y por las células plasmáticas que los li-

beran a la circulación y a diferentes secreciones. Como se puede ver, aunque estos términos se aplican a una sola molécula, pueden tener un significado diferente dependiendo del contexto; por ejemplo, existen proteínas que siendo inmunoglobulinas no se pueden considerar como anticuerpos, tales como las proteínas de mieloma.

La estructura básica de una molécula de inmunoglobulina es similar para todas las isotipos y consta de cuatro cadenas (Figura 2): dos livianas (L) y dos pesadas (H) que están unidas entre sí mediante enlaces disulfuro (S-S) y por interacciones no covalentes. Cada cadena está constituida por regiones definidas denominadas dominios que poseen estructuras secundarias y terciarias similares, por lo cual se conocen como dominios de inmunoglobulinas. La estructura de este dominio de Ig se encuentra en múltiples proteínas de los seres vivos, lo cual sugiere un origen ancestral común y por lo tanto se han agrupado en la IgSF. Este dominio tiene un tamaño que varía entre 70 y 110 aminoácidos, el cual contiene varias cadenas β antiparalelas que se doblan para formar dos láminas β . Las proteínas que poseen estos dominios cumplen una gran variedad de funciones en el organismo aunque no exclusivamente en el sistema inmune, pero en general participan en las interacciones entre distintas células. Entre estas moléculas se encuentran los distintos TCR, el CMH-I y II, las moléculas de adhesión ICAM-1, -2, -3, y VCAM; los coreceptores CD4 y CD8; las moléculas coestimuladoras CD28, CTLA4, B7.1 y B7.2, los receptores Fc γ y muchas otras proteínas.

Los anticuerpos poseen regiones constantes (C) y variables (V) en su secuencia de aminoácidos. La zona de unión al Ag, denominada Fab, se encuentra en la región variable de cada cadena liviana y pesada, cada mo-

lécua de Ac tiene dos de estos Fab, por lo que se dice que las moléculas de anticuerpos son bivalentes (dos zonas de unión al Ag). De otro lado, las cadenas livianas tienen un dominio de Ig constante, mientras las cadenas pesadas tienen tres o cuatro dominios constantes, dependiendo del isotipo. Las cadenas pesadas se designan con letras griegas γ , α , μ , δ , y ϵ , las cuales corresponden a IgG, IgA, IgM, IgD e IgE, respectivamente. Por su parte, sólo se conocen dos variantes de cadenas L llamadas kappa (κ) y lambda (λ).

En la región constante de las cadenas pesadas se encuentran los dominios necesarios para la activación al complemento, para la unión a los receptores Fc y para el paso por la placenta; esta región se conoce como Fc, por ser una fracción fácilmente cristizable después que se separa de la región Fab por métodos enzimáticos. La mayor variabilidad de la secuencia aminoacídica en la región V, está restringida a tres regiones en la zona del dominio N terminal de las cadenas H y L. En la estructura tridimensional esas regiones forman invaginaciones en la superficie de la molécula del Ac y proveen la superficie de contacto entre el Ag y el Ac. Como esas regiones determinan la complementariedad entre el Ac y el Ag se han denominado regiones determinantes de complementariedad o CDR (CDR 1 al 3) (Figura 3).

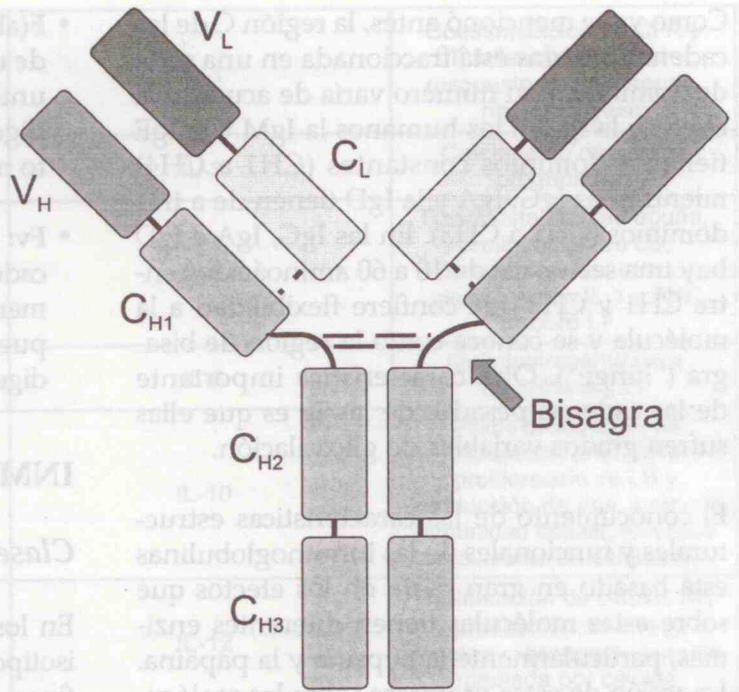


Figura 2. Estructura global de los anticuerpos

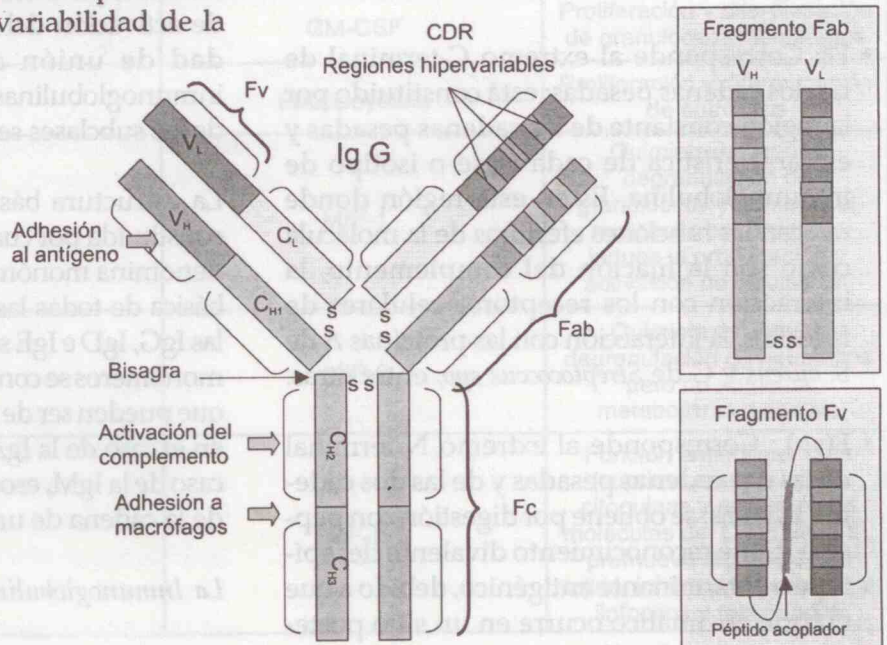


Figura 3. Estructura de los dominios de las inmunoglobulinas

Como ya se mencionó antes, la región C de las cadenas pesadas está fraccionada en una serie de dominios y su número varía de acuerdo la clase de la Ig. En los humanos la IgM y la IgE tienen 4 dominios constantes (CH1 a CH4) mientras las IgG, IgA y la IgD tienen de a tres dominios (CH1 a CH3). En las IgG, IgA e IgD hay una secuencia de 10 a 60 aminoácidos entre CH1 y CH2 que confiere flexibilidad a la molécula y se conoce como la región de bisagra ("hinge"). Otra característica importante de las cadenas pesadas de las Ig es que ellas sufren grados variables de glicosilación.

El conocimiento de las características estructurales y funcionales de las inmunoglobulinas está basado en gran parte en los efectos que sobre estas moléculas tienen diferentes enzimas, particularmente la pepsina y la papaína. La acción de estas proteasas sobre las moléculas de inmunoglobulina permite obtener fragmentos que presentan actividades biológicas diferenciales. Los fragmentos que se generan son (Figura 3):

- **Fc:** Corresponde al extremo C-terminal de las dos cadenas pesadas; está constituido por la región constante de las cadenas pesadas y es característica de cada clase o isotipo de inmunoglobulina. Es en esta región donde radican las funciones efectoras de la molécula como son la fijación del complemento, la interacción con los receptores celulares de fagocitos, la interacción con las proteínas A de *S. aureus* y G de *Streptococcus spp*, entre otras.
- **F(ab)₂:** Corresponde al extremo N-terminal de las dos cadenas pesadas y de las dos cadenas livianas; se obtiene por digestión con pepsina. Tiene reconocimiento divalente del epítopo o determinante antigénico, debido a que el corte enzimático ocurre en un sitio posterior al puente disulfuro que une las dos cadenas pesadas entre sí.

- **F(ab):** Corresponde al extremo N-terminal de una cadena pesada y de la cadena liviana unidas por puentes disulfuro. Se obtiene por digestión con papaína. Tiene reconocimiento monovalente del epítopo.
- **Fv:** Corresponde a las zonas variables de una cadena liviana y una pesada. Este tipo de fragmentos se obtiene mediante la reducción de los puentes disulfuro después que se ha hecho una digestión para generar fragmentos F(ab).

INMUNOGLOBULINAS

Clases de Inmunoglobulinas

En los humanos hay cinco clases diferentes o isotipos de inmunoglobulinas, las cuales se definen con base en sus cadenas H: IgG, IgM, IgA, IgD, e IgE. Además, existen cuatro subtipos o subclases de IgG (IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4) y dos de IgA (IgA1 e IgA2). Los anticuerpos o Ig de cada isotipo tienen diferencias en su capacidad de activación del complemento y de la capacidad de unión a los receptores Fc de las inmunoglobulinas. Las características de las Ig y de las subclases se señalan en las tablas 1 y 2.

La estructura básica de una inmunoglobulina constituida por cuatro cadenas (dos H y dos L) se denomina monómero, la cual es la conformación básica de todas las Ig de membrana del LB y de las IgG, IgD e IgE solubles; cuando se unen varios monómeros se configuran los llamados polímeros que pueden ser de dos (dímero) o de tres (trímero) en el caso de la IgA y de cinco (pentámero) en el caso de la IgM, esos polímeros se unen por medio de la cadena de unión o cadena J.

La Inmunoglobulina G

La IgG constituye el isotipo más abundante en suero (8-16 mg/ml), constituyendo entre el 75

y 80% de las Ig totales en el humano. Como se describió antes, esta molécula es una glicoproteína formada por cuatro polipéptidos, con una masa molecular total que varía entre 146 y 155 kDa. Existen cuatro subclases en humanos que se diferencian estructuralmente entre sí por el tamaño de la región bisagra y el número de puentes disulfuro entre las cadenas pesadas. Algunas características de las subclases de Ig se pueden ver en la tabla 3.

La producción de las distintas subclases de IgG se debe a que en la línea germinal existen cuatro genes que codifican C_γ que tienen una homología de 90-95% en sus secuencias. En el humano estas subclases se conocen como γ₁, γ₂, γ₃ y γ₄, mientras que en el ratón se denominan γ₁, γ_{2a}, γ_{2b} y γ₃. A pesar que existen cuatro subclases en ambas especies, no hay mucha correspondencia entre ellas, lo cual indica que estos genes tienen una aparición reciente en la escala evolutiva, posiblemente a partir de un gen ancestral común que se duplicó después de la divergencia entre estas especies.

La IgG es el isotipo más abundante durante la respuesta secundaria y el que se difunde más

Tipo	Cadena H	Cadena L	Fija Complemento	Anti-toxina	Anti-viral	Anti-bacteria
IgG	γ	κλ	si	si	si	si
IgA	α	κλ	+/-	si	si	si
IgM	μ	κλ	si	si	si	si
IgD	δ	κλ	no	no	no	no
IgE	ε	κλ	no	no	no	no

Tabla 1. Características de las inmunoglobulinas

	IgM	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA1/A2	IgE	IgD
Forma	Pentámero	Monómero	Monómero	Monómero	Monómero	Dímero	Monómero	Monómero
mg/mL suero	1,5	9	3	1	0,5	3,5	0,000 05	0,03
Activa C	+++	+++	+	+++	-	-	-	-
Atraviesa placenta	No	si	si	si	si	no	no	no
FcR monocitos	No	si	no	si	no	no	no	no
Secreciones	moco	leche	leche	leche	leche	moco	no	no

Tabla 2. Características de clases y subclases de inmunoglobulina

Familia	CD	Afinidad por IgG	Distribución celular / función
Fc _γ RI	CD64	Alta	Macrófagos, PMN activados / fagocitosis
Fc _γ RIIa	CD32	Baja	Células fagocíticas / fagocitosis
Fc _γ RIIa	CD32	Baja	LB / Regulación de Ac
Fc _γ RIIIa	CD16	Baja	PMN / fagocitosis
Fc _γ RIIIb	CD16	Baja	Macrófagos / fagocitosis
Fc _γ RIIIb	CD16	Baja	Células NK / ADCC

Tabla 3. Receptores para la fracción Fc de la inmunoglobulina G

fácilmente al espacio extravascular (hasta el 50% de la IgG se encuentra en los fluidos tisulares), donde son responsables de neutralizar toxinas bacterianas (de hecho, son las únicas que funcionan como antitoxinas). Las IgG1 e IgG3 funcionan muy bien como opsoninas, pues tienen una alta capacidad de unión a los receptores Fc de la superficie de células fagocíticas, lo

cual facilita la fagocitosis y posterior destrucción de los microorganismos. La capacidad para fijar y activar el complemento por la ruta clásica es $IgG3 > IgG1 > IgG2$; esta activación ocurre gracias a que el dominio $C\gamma 2$ de dos moléculas de IgG se unen simultáneamente al componente $C1q$ del complemento para iniciar la activación de esta cascada. En los humanos, la $IgG1$, $IgG3$ e $IgG4$ cruzan fácilmente la placenta, lo cual permite que al nacer, todos los neonatos tengan niveles protectores de anticuerpos contra los antígenos contra los que su madre ha desarrollado memoria inmune. En otras especies como el cerdo, la IgG del calostro de la madre es absorbida por el recién nacido desde la luz intestinal hasta la sangre; esto se debe a que las crías poseen receptores únicos en sus células del epitelio intestinal, que reconocen la fracción Fc de la IgG y la transportan a circulación sanguínea, lo cual confiere inmunidad pasiva durante las primeras semanas de vida.

Inmunoglobulina A

La IgA tiene gran importancia para el sistema inmune pues es la Ig predominante en las secreciones exocrinas del organismo y por lo tanto constituye una primera barrera de defensa contra una gran variedad de microorganismos. El número de isotipos de IgA varía entre las especies; en los humanos existen dos subclases: $IgA1$ e $IgA2$, mientras que en los conejos se han descrito hasta 13 subclases. La principal diferencia entre las $IgA1$ e $IgA2$ humanas es la ausencia en la $IgA2$ de una secuencia de 13 aminoácidos en la región de la bisagra, lo cual le parece conferir mayor flexibilidad a la $IgA1$. En el suero predomina la subclase $IgA1$, constituyendo del 10 al 15% de las Ig totales (1.4-4 mg/ml), donde se encuentra en forma de monómeros mientras que en otros animales, la IgA circulante suele ser dimérica. De otro lado, en las secreciones seromucosas es más abundan-

te la $IgA2$, la cual aparece en forma de dímero. Para dar una idea de la abundancia de la IgA en las seromucosas, basta con decir que cada día se secretan unos 40 mg/Kg de peso corporal, frente a unos 30 mg/Kg de IgG . Las secreciones donde aparece la IgA secretoria son: saliva, lágrimas, moco nasal, tracto bronquial, tracto genitourinario, tracto digestivo, leche materna y calostro.

Cada monómero de IgA tiene una cola adicional con 18 aminoácidos que no se encuentra en la IgG . Esta secuencia adicional permite que cada monómero de IgA se una, mediante un puente disulfuro, a la pieza J. Esta pieza J es un polipéptido de 15 kDa sintetizado en la misma célula plasmática que está produciendo la $IgA2$. Dicha célula plasmática termina secretando el complejo de las dos unidades de IgA unidas cola con cola por la pieza J. El complejo IgA -J- IgA es entonces reconocido por el llamado receptor de poli- Ig , situado en la membrana basal de las células epiteliales. Este receptor de poli- Ig pertenece a la $IgSF$, el cual está constituido por 5 dominios típicos de Ig y se encuentra anclado a la membrana basal epitelial, donde reconoce a la pieza J ya unida a los dos monómeros de IgA . El receptor de poli- Ig se une entonces a cada monómero de IgA , probablemente formando puentes disulfuro con los respectivos dominios $C\alpha 2$, con lo cual comienza un fenómeno de endocitosis mediada por receptor: se forma una vesícula membranosa recubierta de clatrina, en cuyo interior se encuentra el complejo IgA -J- IgA unido a su vez al receptor de poli- Ig . Esta vesícula intracitoplasmática viaja por el citoplasma, desde el extremo basal hasta el apical y termina fusionándose con la membrana que da a la luz del conducto. Entonces, el receptor de poli- Ig se corta en la secuencia que hay entre el último de sus dominios Ig y la membrana, con lo que queda libre la forma madura de la IgA secretoria: un complejo de dos monómeros de

IgA unidos por la pieza J, y todo ello recubierto del componente secretor, que como se ve, no es más que la porción mayor escindida del receptor de poli-Ig. La pieza secretoria recubre buena parte de los dos monómeros de IgA, enmascarando sus respectivas regiones bisagra. Esto hace que la IgA secretoria esté más protegida de las proteasas, lo que se manifiesta en que posee una alta vida media en el entorno del conducto al que ha sido secretada. Además, la IgA2 es intrínsecamente más resistente que otras inmunoglobulinas al ataque de las proteasas bacterianas.

Como se mencionó anteriormente, la IgA secretoria cumple una misión fundamental en la protección del organismo frente a la entrada de numerosos agentes patógenos: al ser tetravalente, es capaz de unirse a epítopes repetitivos de la superficie de virus y bacterias, inhibiendo la colonización de las mucosas. Parece que el componente secretor también tiene el efecto de evitar la adherencia de los microorganismos al epitelio, a lo cual se le llama efecto Teflón. Los complejos de IgA secretoria y Ag son atrapados eficazmente en el fluido mucoso del epitelio, y eliminados por el movimiento ciliar del tracto respiratorio o por el peristaltismo del intestino.

Inmunoglobulina M

Los anticuerpos del tipo IgM son las primeras inmunoglobulinas que aparecen en la filogenia y ontogenia del sistema inmune. Corresponden del 5 al 10% de las Ig séricas y aunque se encuentra en una concentración casi 10 veces menor que la IgG (aproximadamente 1.5 mg/ml), la IgM tiene un papel esencial para la respuesta inmune adaptativa. En el humano la forma predominante de IgM es un complejo pentamérico con una masa molecular de 970 kDa, con las regiones Fc hacia el interior del complejo y los brazos Fab hacia la parte exter-

na. Cada monómero tiene una masa molecular de 180 kDa, el cual se diferencia de la IgG porque tiene un dominio constante adicional (el C μ 2). Las unidades del pentámero están unidas entre sí por puentes disulfuro que se forman entre los dominios C μ 3 y C μ 4 de moléculas adyacentes, exceptuando dos de las 5 unidades, que se unen entre sí mediante una pieza J similar a la ya descrita para la IgA.

La IgM es la primera inmunoglobulina que sintetiza el neonato por sí mismo, y también es la primera en aparecer durante la respuesta inmune primaria. Al ser un pentámero, tiene una gran valencia teórica (10 regiones Fab); sin embargo, dicha valencia sólo se usa al máximo con haptenos pequeños. En el caso de moléculas o epítopes mayores sólo se pueden usar 5 de esas valencias, debido a los impedimentos estéricos que se establecen. El tener gran valencia significa que posee una mayor capacidad, que otras Ig, para unirse a antígenos particulados multidimensionales: (p. ej., partículas de virus, eritrocitos de otro individuo, bacterias, etc.), entrecruzándolos y provocando aglutinación, por lo que las IgM son las aglutininas típicas (son de 100 a 1.000 veces más eficaces que las IgG en este papel). Al unirse a este tipo de Ag particulados, con epítopes repetitivos, cambia de conformación: pasa de su configuración plana (forma de estrella) a una en forma de grapa o de cangrejo. Al parecer, esto sirve para que se pueda activar eficazmente el complemento por la ruta clásica. De hecho, fijan y activan muy bien el complemento, pues como se describió, se requieren dos moléculas de inmunoglobulinas cercanas para activar el componente C1q, cosa que la IgM pentamérica logra «por definición»; esto hace que la IgM sea altamente citolítica. Este isotipo solo se encuentra en el torrente circulatorio, no se extravasa a los tejidos, por lo que juega un papel importante durante la diseminación sanguínea de muchos microorganismos.

Inmunoglobulina D Cada monómero tiene una masa molecular de 180 kDa, el cual se diferencia de la IgG por La IgD es un monómero con una masa molecular de 175 kDa. Presenta una región de bisagra bastante larga, lo que puede explicar el hecho que esta molécula es muy susceptible a proteólisis, siendo muy baja su vida media en sangre, aproximadamente tres días. En el humano su concentración sérica varía entre 3 y 40 mg/ml, lo cual corresponde a un 0.2% de las inmunoglobulinas séricas y es producida por un número bajo de células plasmáticas que se encuentran en el bazo y principalmente en las amígdalas. Se desconoce la función de la forma libre en plasma y no se ha descrito ninguna actividad efectora para el isotipo de IgD. A diferencia de los bajos niveles de IgD en plasma, esta inmunoglobulina se expresa en la mayoría de los LB como una mIg, junto con la mIgM, particularmente en los LB maduros vírgenes, donde parece que su función es constituir un receptor antigénico que actúa durante la activación y también durante la regulación negativa de los LB.

Inmunoglobulina E Aunque la IgE es la inmunoglobulina menos abundante en el suero (entre 100 y 300 ng/ml) en varios aspectos es la más potente de las inmunoglobulinas que se encuentran en los mamíferos. Al igual que las otras clases de Ig, la IgE está constituida por cuatro polipéptidos. Tiene una masa molecular de 190 kDa, lo cual se debe a que presenta un dominio constante adicional que corresponde al Cε2, el cual ocupa la región de la bisagra. Esta molécula tiene una glicosilación que representa un 13% del total de su masa.

Es la mediadora de las reacciones de hipersensibilidad inmediata o respuestas alérgicas como la fiebre del heno, asma extrínseca o el choque anafiláctico. Su gran actividad biológica se debe

a que las moléculas de IgE se unen a receptores específicos para su Fc situados en las membranas de mastocitos, basófilos y células de Langerhans. Cuando dos moléculas de IgE unidas a sus respectivos receptores en estas células se entrecruzan con el Ag específico, se produce una serie de cambios bioquímicos en estas células, particularmente en mastocitos y basófilos, que llevan a su degranulación y a la liberación de mediadores altamente activos, como histamina y ciertas citoquinas y a la síntesis *de novo* de eicosanoides como prostaglandinas y leucotrienos. Pero la respuesta desencadenada por la IgE también juega un papel fisiológico beneficioso: confiere protección local frente a ciertos patógenos de gran tamaño, tales como helmintos y además permite el reclutamiento de células plasmáticas y efectoras mediante la respuesta inflamatoria aguda. Si el parásito ha logrado atravesar la barrera de las mucosas y la de la IgA secretoria, puede ser reconocido por moléculas de IgE específicas, previamente unidas a receptores de mastocitos; esto desencadena una reacción de inflamación aguda en la que las aminas vasoactivas y los factores quimiotácticos atraen a diferentes células inflamatorias. A continuación, entran en el tejido moléculas de IgG, componentes del complemento, granulocitos y eosinófilos; estos últimos reconocen al parásito recubierto por IgG y colaboran en su destrucción. También se ha demostrado que la IgE unida al FcεR de las células de Langerhans en la piel, permite la captura, el procesamiento y presentación de antígenos a los LT en los órganos linfoides.

Receptores para las inmunoglobulinas

Los FcR son proteínas que se expresan en membrana de una gran variedad de células, especialmente de las líneas mieloide y linfoide, que tienen como característica la de reconocer y unir la región Fc de ciertas clases y subclases

de inmunoglobulinas. Una vez han reconocido al antígeno, los anticuerpos interactúan con estos receptores para activar las distintas células efectoras que hacen parte de los mecanismos de defensa del organismo. Por lo tanto, la interacción entre los anticuerpos y sus receptores Fc en los leucocitos es de gran importancia para obtener una pronta eliminación del antígeno. Además, algunos de estos FcR tienen un papel fundamental en la regulación de la respuesta inmune. Hasta el momento, se han identificado y caracterizado los genes de los FcR para IgG (Fc γ R), IgA (Fc α R) e IgE (Fc ϵ R); sin embargo, y aunque no se conocen características estructurales de receptores para IgD e IgM, algunos datos experimentales sugieren la existencia de Fc δ R y Fc μ R.

Además de los FcR clásicos existen dos tipos de FcR que se expresan en células epiteliales. Las células endoteliales, el sincitiotrofoblasto placentar y el epitelio del tracto digestivo de los neonatos de algunas especies de mamíferos expresan FcRn, el cual media el transporte de IgG a través de la placenta y la captación de IgG por el epitelio intestinal del neonato. Este tipo de receptores consisten en una cadena similar a la cadena pesada del CMH I e igual que ésta, se complementa con la β_2 microglobulina. La otra forma no clásica de FcR es el receptor poli-Ig (pIgR) o pieza secretoria, la cual se encarga del transporte de la IgA hacia las secreciones mucosas.

Según la afinidad con la que la inmunoglobulina se une al receptor, los FcR se clasifican como receptores de alta afinidad o de baja afinidad. Los de alta afinidad se unen a inmunoglobulinas monoméricas y por convención se denominan FcRI, mientras que los de baja afinidad se unen a inmunoglobulinas que interactúan con antígenos multivalentes y se denominan FcRII y FcRIII. Existen receptores de alta afinidad para IgA, IgE e IgG, pero de baja afinidad

hay del tipo FcRII para IgE e IgG y del tipo FcRIII solo para IgG. A los FcR humanos se les ha asignado un número CD (Cluster of differentiation) y puesto que su expresión está bien definida son usados como marcadores fenotípicos de distintas poblaciones celulares; de esta manera a Fc γ RI, Fc γ RII, Fc γ RIII, Fc α RI y Fc ϵ RII les corresponden CD64, CD32, CD16, CD89 y CD23, respectivamente

Receptores Fc γ (Fc γ R)

Los Fc γ R pertenecen a la superfamilia de las inmunoglobulinas y existen tanto como receptores de membrana como moléculas solubles; estas formas solubles son producidas por procesamiento alternativo de los transcritos de los FcR o por proteólisis de los receptores de membrana. La estructura básica de los Fc γ R consiste en una cadena que une el ligando denominada cadena α , cuya porción extracelular se compone de 2 o 3 dominios tipo Ig; posee además una porción transmembrana y una región intracitoplasmática que varía de tamaño según el Fc γ R. En general, las porciones intracitoplasmáticas de las cadenas α carecen de motivos que les permitan realizar la señalización intracelular; por lo tanto, para la transducción de señales requieren la asociación con otras cadenas que posean esta capacidad. Estas subunidades son denominadas γ , ζ y β . Las cadenas γ y ζ asociadas a los FcR se encuentran en forma de homo o heterodímeros.

El Fc γ RI es el receptor con la mayor afinidad por la IgG monomérica y puede unirse a ésta en condiciones fisiológicas; solo existe una sola isoforma que se expresa en monocitos, macrófagos y células dendríticas, pero varias citoquinas inducen su expresión en granulocitos. Para expresarse de manera estable, así como para transmitir las señales de activación intracelular el Fc γ RI requiere asociarse con el homodímero de cadena γ descrito antes.

El Fc γ RII es una familia de varias glicoproteínas homólogas, que se expresan en prácticamente todas las células hematopoyéticas con excepción de los eritrocitos y en endotelio. Todas las isoformas de Fc γ RII tienen baja afinidad por la IgG y solo se unen a complejos inmunes y partículas opsonizadas. Los dominios citoplasmáticos de los Fc γ RII poseen motivos ITAM o ITIM, lo cual les permite realizar la señalización intracelular en ausencia de la cadena accesoria. El Fc γ RIIb es el único de los receptores Fc que contiene en su porción citoplasmática un ITIM, lo que lo convierte en un modulador negativo de la activación celular, particularmente en los linfocitos B.

Existen dos isoformas de Fc γ RIII, ambas con una afinidad baja por la IgG. En los macrófagos y células NK se encuentra el Fc γ RIIIa; ésta es una proteína transmembrana con un dominio citoplasmático clásico (sin ITAM o ITIM), por lo que la señalización intracelular se realiza mediante los dímeros de las cadenas γ o ζ asociadas. Por su parte, el Fc γ RIIIb se expresa en neutrófilos, se caracteriza por no tener región transmembrana, por lo que su unión a la membrana se hace mediante la interacción con un fosfatidilinositol glicano.

Receptores Fc ϵ (Fc ϵ R)

Las proteínas que unen la región Fc de la IgE cumplen una función para la respuesta inmune más amplia de la que inicialmente se pensaba. El receptor de alta afinidad o Fc ϵ RI, además de expresarse en mastocitos, basófilos y eosinófilos en los cuales su activación induce la liberación y producción de mediadores inflamatorios, se expresa en monocitos, células de Langerhans y células dendríticas circulantes, lo cual facilita la captura de antígenos por las CPA. Por su parte el Fc ϵ RII o receptor de baja afinidad se encuentra en linfocitos B, eosinófilos, monocitos, células de Langerhans, plaquetas y linfocitos T; este receptor media la fagoci-

tosis y/o citotoxicidad de partículas que están recubiertas con IgE, además desencadena la producción de especies reactivas de oxígeno por las células fagocíticas que lo expresan. La expresión del Fc ϵ RI y señalización desencadenada por el entrecruzamiento de las moléculas de IgE unidas a estos receptores depende de la presencia de un homodímero de cadenas γ y de una cadena β . Por su parte, el Fc ϵ RII es una glicoproteína que no se asocia a otras proteínas.

Receptor Fc α (Fc α R)

El Fc α R es una glicoproteína que se expresa en monocitos, macrófagos, neutrófilos y eosinófilos y al igual que varios de los FcR descritos se asocia con la cadena γ necesaria para la señalización intracelular. Aunque la IgA monomérica se puede unir a este receptor en condiciones fisiológicas, la activación requiere del entrecruzamiento de varios receptores. Esta activación desencadena fagocitosis, ADCC, degranulación y liberación de mediadores inflamatorios.

Concentración de inmunoglobulinas según la edad

Durante la vida fetal se presenta un paso activo de la IgG de origen materno, durante el segundo y especialmente durante el tercer trimestre, por lo que al nacer los neonatos tienen concentraciones que son ligeramente superiores a las maternas, donde casi el 100% corresponde a IgG de origen materno. Posteriormente, se presenta una caída progresiva de las Ig totales, que llegan a sus concentraciones más bajas entre el segundo y cuarto mes de edad, con un incremento progresivo de la concentración durante los meses siguientes. Durante la primera semana de vida se inicia la producción de IgM y de IgA y en nuestro medio se alcanzan las concentraciones séricas similares a las del adulto entre el primer y segundo año de vida (Tabla 4)

Diversidad de los anticuerpos

Se cree que pueden existir unas 10^9 moléculas diferentes de anticuerpos y por eso 10^9 clonas diferentes de LB en un individuo. La diversidad se genera como consecuencia del rearreglo que sufren los genes de las Ig durante el desarrollo del LB. Durante este proceso ocurre el fenómeno de exclusión alélica, mediante el cual una vez se da el rearreglo de una de las cadenas pesadas o livianas se previene el rearreglo del otro cromosoma; de esta manera, se garantiza que la misma célula B solo exprese Ac con una sola especificidad. Existen diferentes mecanismos para generar la diversidad, los cuales se tratan en detalle en el capítulo de ontogenia de células B.

RESPUESTA PRIMARIA Y RESPUESTA SECUNDARIA

Fases de la respuesta

La respuesta inmune humoral tiene una cinética característica, la cual se puede resumir de la siguiente manera:

1. Fase de latencia: es el tiempo que transcurre mientras se realiza la selección

Edad	Hombres		Mujeres	
	IgM	± 2 S.D.	IgM	± 2 S.D.
Madres	-----	-----	159	60 - 417
Cordón	6	0-99	6	0-87
1 Sem	36	11-121	14	4-55
2 Sem	37	9-148	31	2-192
1 Mes	48	7-332	62	22-172
2 Meses	51	18-146	62	22-175
3	64	21-199	86	38-194
4	79	36-171	70	14-352
5	72	32-160	99	37-267
6	92	33-258	89	22-358
7	103	51-207	90	24-333
8	73	18-290	116	52-259
9	80	26-245	98	37-261
10	103	43-247	107	48-242
11	110	40-304	132	45-392
1 Año	93	36-239	135	62-281
2 Años	129	36-457	135	44-409
3	149	39-576	145	64-328
4	128	53-308	145	54-392
5	153	43-539	179	84-383
6	157	66-375	199	72-555
7	140	61-320	170	83-348
8	192	98-375	217	113-413
9	127	49-329	211	122-364
10	128	66-250	202	91-451
11	122	59-254	187	83-418
12	113	48-265	202	95-429
15	149	50-439	190	79-455
20-29	202	103-397	219	96-500
30-39	137	58-324	160	68-376
40-49	117	37-371	158	42-600
50-59	90	21-390	128	37-440
60-69	114	28-455	121	48-305
70-79	144	60-345	110	41-298
> 80	102	32-319	117	42-328

Tabla 4. Niveles de inmunoglobulina M sérica según el sexo y la edad en la ciudad de Medellín

de una clona específica de células B y ocurre la diferenciación de las células plasmáticas secretoras de Ac y de LB de memoria.

2. Aumento exponencial de la concentración de anticuerpos que ocurre hasta un pico máximo.

3. Meseta: período de tiempo en el que mantiene una concentración más o menos estable de los niveles de anticuerpos específicos.

4. Declive: disminución gradual de la concentración de anticuerpos como consecuencia de la falta de un estímulo continuo y de la aparición de mecanismos reguladores negativos.

En total, la respuesta puede durar desde unos días a varias semanas, dependiendo de la persistencia del Ag.

Respuesta primaria

Esta respuesta se presenta en el individuo en quien el Ag o determinante antigénico, ingresa por primera vez. Inicialmente ocurre el procesamiento y presentación del Ag por parte de las células de la serie monocito-macrófago o de las células dendríticas a los linfocitos Th y éstos producen las citoquinas que inducen la proliferación de los LB, entre ellas las IL-4 e IL-5. Luego, se da la diferenciación de la mayoría de estos linfocitos a células plasmáticas,

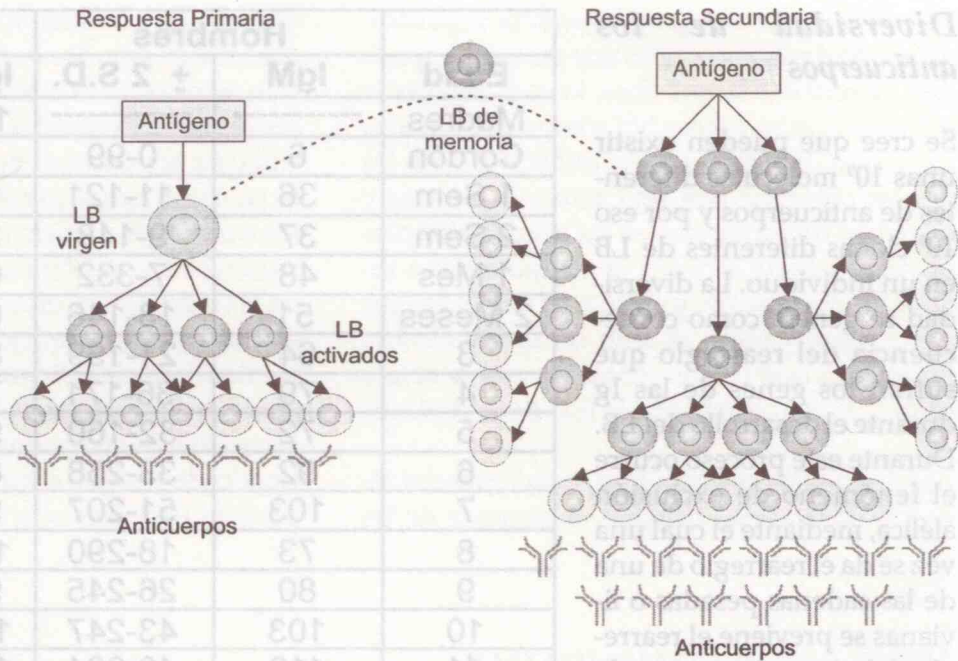


Figura 4. Respuesta inmune humoral primaria y secundaria

por acción de otras citoquinas, particularmente la IL-6. Una minoría de LB permanece como células de memoria. Los LB de memoria quedan en reposo (G_0) durante muchos años y pueden llegar a durar toda la vida.

Mientras se desarrolla todo este proceso de la respuesta primaria y se producen los anticuerpos específicos se establece un período de "ventana inmunológica", que en la mayoría de los casos es de 9 a 14 días; pasado este tiempo, se empieza a detectar en suero los anticuerpos entre los cuales predomina ampliamente la IgM y sólo al final aparecen pequeñas cantidades de IgG. La cantidad total de anticuerpos es baja y transitoria y pueden llegar a desaparecer de la circulación luego de algunas semanas si desaparece el Ag.

La respuesta humoral se desencadena en distintos órganos, lo cual depende de la vía de

entrada del Ag: si el Ag entra por vía sanguínea, la respuesta inmune se desarrolla en bazo; si ingresa por los tejidos, es llevado a algún ganglio linfático regional y si se introduce por los epitelios internos, la respuesta inmune suele desarrollarse en tejido linfoide asociado a mucosas.

Aunque los LB de memoria se encuentran en reposo (G_0), no son iguales a los LB vírgenes, pues expresan diferentes isotipos de Ig en su superficie, las cuales tienen mayor afinidad que la mIg original; esto implica que, ante una segunda entrada del Ag, se van a activar a dosis menores de Ag, y la respuesta secundaria será más rápida. Algunas de estas células de memoria se quedan en el folículo, formando parte del manto que rodea al centro germinal, mientras que otras abandonan el ganglio por el único linfático eferente y recirculan en el resto del organismo. Tienen una vida media larga, incluso más de 30 años, aunque se desconoce la base de esta notable longevidad.

Respuesta secundaria

Esta respuesta tiene una serie de diferencias cualitativas y cuantitativas importantes con respecto a la respuesta primaria. Las diferencias cuantitativas implican que se inicia más rápidamente (tiene menor fase de latencia), alcanza mayor intensidad (100 o 1000 más intensa), dura más tiempo, lo que se comprueba porque la fase de meseta es más prolongada y tiene un declive más lento. Las diferencias cualitativas más importantes son: ocurre cambio del isotipo de Ig, lo cual lleva a la producción preferentemente de IgG, aunque también de IgA e IgE; tiene lugar la maduración de afinidad, a consecuencia de la hipermutación somática en la región variable, lo cual permite la selección de los LB con receptores de mayor afinidad.

Cuando el Ag entra por segunda vez, o posteriormente, parte de estas moléculas antigénicas

pueden unirse a anticuerpos pre-existentes producidos durante la respuesta primaria, de modo que se forman complejos Ag-Ac. Cuando los complejos inmunes entran a un ganglio linfático, se unen a las células dendríticas foliculares. Estas células «empaquetan» parte de los complejos Ag-Ac en vesículas membranosas denominadas icosomas, que se van desprendiendo por gemación. Los LB de memoria, generados durante la respuesta primaria, que tengan una mIg de alta afinidad, compiten eficientemente con los anticuerpos circulantes para unirse con el Ag que forma parte de los complejos inmunes de los icosomas; por lo tanto, se unen a estos icosomas, los internalizan, procesan el Ag y luego lo presentan, en el contexto del CMH-II, a los linfocitos Th específicos. Esto permite que se forme el conjugado Th:B, lo cual conduce a la activación y proliferación de los LB en el centro germinal (centroblastos), hasta que al 4º ó 5º día se diferencia a célula plasmática secretora de anticuerpos. Al igual que en la respuesta primaria, la proliferación de centroblastos va acompañada de hipermutación somática, seguida de una selección de las células que están proliferando (centrocitos), con base en su capacidad de unión al Ag atrapado en las células dendríticas.

Como se puede ver, el centro germinal, durante la respuesta secundaria, difiere en dos aspectos importantes del de la respuesta primaria. La disponibilidad previa de Ac circulante incrementa la eficiencia de las células dendríticas foliculares para atrapar Ag, lo cual supone una amplificación de la señal a los LB. El Ac pre-existente compite con los centrocitos para unirse con el Ag en la superficie de las células dendríticas. Esto asegura que, en la respuesta secundaria sólo van a contribuir a la producción de anticuerpos células plasmáticas procedentes de células B dotadas de receptores de mayor afinidad que los de

la respuesta primaria. A medida que avanza la respuesta, aumenta la concentración de anticuerpos al tiempo que disminuye la del Ag, por lo que se seleccionan centrocitos con afinidades cada vez más altas, capaces de responder a concentraciones de Ag cada vez más bajas.

CARACTERÍSTICAS DE LA UNIÓN ANTÍGENO-ANTICUERPO

Afinidad

La afinidad de un Ac particular, por ejemplo cuando usamos un Ac monoclonal, por un epítope, es la suma de todas las fuerzas atractivas y repulsivas entre un sitio de unión de ese Ac y el correspondiente epítope. Esta afinidad depende de todas las interacciones no covalentes que se establecen entre el epítope y la región variable del Ac.

Avidez

Es la fuerza con la que un Ac multivalente se une a un Ag multivalente. Aunque depende de las afinidades individuales de cada uno de los determinantes individuales de ese Ag, su valor es mucho mayor que la suma de afinidades. Pero por otro lado, hay que considerar que los Ag naturales suelen tener más de un tipo de determinante antigénico. Cuando un Ag de este tipo entra en un individuo, éste produce un antisuero, que presenta varios tipos de anticuerpos, cada uno de ellos dirigidos contra un determinante antigénico diferente al epítope original. En este caso, se habla de avidéz del antisuero, que es la fuerza conjunta de los distintos anticuerpos de ese antisuero que reconocen al Ag multivalente complejo.

RESPUESTA A LOS ANTÍGENOS TIMO-INDEPENDIENTES

Los antígenos TI son aquellos que inducen una respuesta humoral en ausencia de linfocitos Th y suelen ser moléculas poliméricas con epítopes repetitivos. La mayoría son Ag no proteicos tipo lipo y polisacáridos y por lo tanto no pueden ser procesados y expuestos en el contexto del CMH. Además, generalmente son moléculas resistentes a la degradación realizada por diferentes mecanismos celulares.

Antígenos timo-independientes de tipo 1

Son totalmente independientes de la función de los linfocitos Th. A concentraciones altas se comportan como activadores policlonales de LB (mitógenos de LB), debido a que interactúan con moléculas del LB diferentes a la mIg, lo que les permite eludir las dos señales tradicionales (contactos entre moléculas de membrana de T y B, y citoquinas producidas por linfocitos Th). Estos antígenos inducen la secreción de IgM, pero no desencadenan maduración de la afinidad, memoria inmunológica, ni cambio de isotipo de Ig. A bajas concentraciones provocan una respuesta específica rápida; el ejemplo típico de Ag TI-1 es el LPS de bacterias Gram-negativas.

Antígenos timo-independientes de tipo 2

Son macromoléculas altamente repetitivas como las de la cápsula del neumococo, flagelos bacterianos, etc. Al ser multivalentes provocan entrecruzamiento de muchos receptores BCR del LB, que junto con citoquinas provenientes de un linfocito Th cercano, pero sin que haya contacto directo, provocan la activación monoclonal de un tipo de linfocitos llamados

células B CD5+. Juegan un papel importante en la respuesta inmune humoral contra bacterias capsuladas como *Haemophilus* y *Streptococcus pneumoniae* que suelen ser difíciles de fagocitar por las células fagocíticas de forma directa.

MECANISMOS EFECTORES DE LOS ANTICUERPOS

Neutralización

Los anticuerpos se unen, de manera específica, a los microorganismos y toxinas microbianas, lo cual permite inhibir o neutralizar la capacidad infecciosa de estos microorganismos y la actividad tóxica de los productos microbianos. La neutralización es la única función de los anticuerpos que es mediada en su totalidad por la unión al Ag y no requiere de la región constante. Sin embargo, este complejo inmune es eliminado gracias a la unión a los receptores Fc localizados en células fagocíticas.

La mayoría de los microorganismos intracelulares ingresan a las células del huésped utilizando receptores específicos presentes en la superficie de estas células. Por ejemplo, el virus de la influenza infecta las células del tracto respiratorio por medio de la unión de la hemaglutinina presente en su envoltura, mientras que las bacterias Gram negativas usan los pili de su pared para unir e infectar diversas células. Los anticuerpos que se unen a estas estructuras interfieren con la habilidad de los microorganismos para interactuar con los receptores celulares, lo que constituye una inhibición estérica. Sin embargo, en algunos casos, las moléculas de Ac se unen a los microorganismos e inducen cambios en las moléculas de superficie que evitan la interacción con los receptores celulares; este mecanismo representa un efecto alostérico de los anticuerpos. De otro lado, los anti-

cuerpos dirigidos contra toxinas, como la toxina tetánica o la toxina diftérica, bloquean de forma estérica la unión de las toxinas con la célula blanco y de esta manera evitan el daño tisular.

La neutralización puede ser mediada por cualquier Ac específico, independientemente de su isotipo. Sin embargo, la mayor parte de los anticuerpos neutralizantes en circulación son del tipo IgG, mientras en las mucosas son principalmente del isotipo IgA. Los anticuerpos neutralizantes más efectivos son aquellos que tienen una mayor afinidad por el Ag; como se mencionó antes, estos anticuerpos de alta afinidad se producen gracias a un proceso de maduración de la afinidad, el cual ocurre a medida que el Ag estimula repetitivamente los LB. Por lo tanto, la vacunación repetida periódicamente con toxoides o proteínas de membrana induce una respuesta de anticuerpos cada vez más efectiva y esta es la base del éxito de muchos esquemas de inmunización.

Activación del complemento

La vía clásica del complemento se desencadena por la interacción del C1 con IgG o IgM que están formando un complejo inmune. Parece ser que la unión con el Ag induce cambios conformacionales en las moléculas de estos anticuerpos que aumentan su afinidad por el C1q y por lo tanto desencadenan su activación. La unión de la IgG al C1q ocurre mediante un motivo estructural ubicado en la cadena β al final del dominio CH2. La unión del complejo inmune al C1q y la posterior activación del complemento es esencial para la respuesta inmune adaptativa, pues no solo permite que se produzca la lisis de los microorganismos que están siendo reconocidos por la región variable del Ac, sino que también, en forma simultánea, pone en marcha una serie de fenómenos que se encargan de amplificar la respuesta

inflamatoria. Sin embargo, es importante anotar que no siempre que se produce la unión entre C1q y un complejo Ag-Ac se produce una activación completa de la cascada del complemento, pues existen varias etapas adicionales que se deben completar para lograr una total activación de esta respuesta.

Opsonización y fagocitosis

Las células fagocíticas ingieren microorganismos con el propósito de destruirlos en su interior. En la superficie de éstas células se encuentran diversos tipos de receptores que permiten una interacción directa con moléculas de los microorganismos para desencadenar la fagocitosis, lo que constituye un mecanismo de inmunidad innata. Sin embargo, la eficiencia de este proceso se aumenta significativamente si los microorganismos se recubren con otras moléculas que facilitan la interacción entre microorganismos y fagocitos, es decir se opsonizan. Las células fagocíticas expresan en la membrana plasmática receptores para las porciones Fc de los anticuerpos y para la fracción C3b del complemento; estas opsoninas incrementan la capacidad de los fagocitos para ingerir a los microorganismos.

Los receptores para la Fc de los distintos isotipos de inmunoglobulinas se expresan en muchas poblaciones leucocitarias y cumplen papeles diversos en la respuesta inmune. De estos receptores, los más importantes para la fagocitosis son los receptores para la IgG conocidos como receptores Fc γ ; existen tres tipos de receptor Fc γ , los cuales tienen afinidades distintas por las diferentes subclases de IgG. El receptor Fc γ de mayor afinidad es el Fc γ IR (CD64), el cual se une fuertemente a la IgG1 e IgG3 y débilmente a IgG2 e IgG4. Este receptor Fc γ I se encuentra en la superficie de los macrófagos, neutrófilos y eosinófilos, y es el

principal mediador de la fagocitosis y activación de los fagocitos en respuesta a los microorganismos opsonizados. Puesto que la IgG1 e IgG3 son las inmunoglobulinas que tienen mayor afinidad por el Fc γ IR, ellas son las opsoninas más eficientes para promover la fagocitosis. Debido a que las moléculas de anticuerpos que recubren la superficie del microorganismo opsonizado constituyen un arreglo multivalente, ellas presentan mayor avidéz o capacidad de unión por los receptores Fc de los fagocitos que las moléculas de Ac libre.

Además de inducir la fagocitosis, la unión de las partículas opsonizadas a los receptores Fc, especialmente Fc γ IR, desencadena una serie de señales intracelulares, particularmente fosforilación de proteínas tirosina quinasas, que conducen a la activación de los fagocitos. Esta activación desencadena la explosión respiratoria de las células fagocíticas, gracias a la activación del sistema NADPH oxidasa, el cual cataliza la producción de especies reactivas del oxígeno importantes en el proceso de destrucción del microorganismo. Cuando, por su tamaño, el microorganismo, célula o parásito no puede ser ingerido, los fagocitos activados por medio de los receptores Fc secretan enzimas hidrolíticas y especies reactivas de oxígeno al espacio extracelular donde pueden destruir el agente agresor, pero al mismo tiempo producen un daño tisular importante.

Citotoxicidad mediada por células y dependiente de anticuerpos

Las células NK expresan el Fc γ RIII (CD16), el cual tiene la capacidad de unirse a moléculas de IgG que se encuentren recubriendo células; de esta manera, la IgG facilita la lisis mediada por las células NK, fenómeno conocido como ADCC. Este Fc γ RIII es un receptor de baja afinidad que se une a moléculas de IgG

que se encuentran agrupadas en la superficie de las células blanco, pero que no tiene capacidad de unirse a la IgG libre, lo cual asegura la activación de las células NK sólo en el momento requerido. Esta interacción del FcγRIII con las células cubiertas con IgG activa la síntesis y secreción de citoquinas en las células NK, particularmente de IFN-γ, y al mismo tiempo induce la circulación y salida de los gránulos preformados hacia el sitio de la membrana plasmática que está en contacto con la célula blanco, lo cual conduce a la lisis de ésta célula.

Los eosinófilos realizan una forma especial de ADCC, la cual está dirigida, la mayoría de las

veces, contra los helmintos. Estos parásitos son demasiado grandes para poder ser fagocitados y su tegumento es relativamente resistente a los productos microbicidas de los neutrófilos y macrófagos; sin embargo, pueden ser destruidos por la proteína básica presente en los gránulos de los eosinófilos. Debido a lo anterior, el principal mecanismo para eliminar los helmintos consiste en la unión de IgE específica a los antígenos del parásito, y este complejo a la vez se une al receptor FcεRI de alta afinidad presente en la membrana de los eosinófilos. Esto, conduce a señales intracelulares que permiten la liberación del contenido de los gránulos sobre la superficie del parásito para provocar su destrucción.

LECTURAS RECOMENDADAS

1. Delves PJ, Roitt IM. The immune system (First of two parts). *N Engl J Med.* 2000;343(1):37-49
2. Delves PJ, Roitt IM. The immune system (Second of two parts). *N Engl J Med.* 2000;343(2):108-117
3. Regueiro JR, López C. *Inmunología. Biología y Patología del Sistema Inmune* (2ª Ed). Madrid, Editorial Médica Panamericana, 1997.
4. Roitt IM, Brostoff J, Male D. *Immunology* (5th Ed.). London, Mosby, 1998.

RESPUESTA PRIMARIA Y RESPUESTA SECUNDARIA

Fases de la respuesta

La respuesta inmune humoral tiene una cinética característica, la cual se puede resumir de la siguiente manera:

1. Fase de latencia: es el tiempo que transcurre mientras se realiza la selección

8	73	18-290	116	62-259
9	80	26-245	98	37-201
10	103	43-247	107	48-242
11	110	40-304	132	45-352
1 Año	93	36-239	135	62-251
6	157	65-375	199	72-551
7	140	61-326	170	63-346
8	192	98-375	217	113-413
9	137	48-329	211	122-364
10	123	64-250	207	91-461
11	122	58-254	187	83-413
12	113	48-265	202	95-429
15	149	50-439	190	79-455
20-29	202	103-397	219	98-500
30-39	137	58-324	160	68-376
40-49	117	37-371	158	42-600
50-59	90	21-390	128	37-440
60-69	114	28-455	121	48-305
70-79	144	60-345	110	41-298
> 80	102	32-319	117	42-328

Tabla 4. Niveles de inmunoglobulina M sérica según el sexo y la edad en la ciudad de Medellín