

Progresos en Pediatría: *Medicina molecular*

Introducción a la inmunología molecular. I

Dr. ALBERTO ROSETO*

ARCH ARG PEDIATR / 1998 / VOL. 96: 177

EL SISTEMA INMUNE (SI)

Convivimos con miles de microorganismos (virus, bacterias, hongos y parásitos). La coexistencia es la regla con la gran mayoría de ellos y ésta toma forma de mutualismo, parasitismo o comensalismo, según un equilibrio de agresión, defensa y cooperación entre los organismos citados y los organismos superiores.

Tenemos en nuestra flora normal unas 400 especies diferentes de bacterias con sus bacteriófagos y plasmidios auestas, virus que se instalan para siempre desde nuestro nacimiento, como los herpesvirus, y parásitos unicelulares, que no necesariamente causan patologías. Estos microorganismos y otros agentes infecciosos, que no son precisamente residentes habituales, causan infecciones (utilizando las más diversas vías y estrategias) cuando su replicación no fue controlada. Cuando esa replicación es controlada, en general lleva a la muerte de los invasores; otras veces éstos eluden todo tipo de defensa que le opone el organismo produciéndose entonces una "cronicidad" del agresor; otras la replicación es incontrolada y lleva a la muerte del organismo invadido. El SI está para evitar ese proceso en todas sus etapas, desde la invasión hasta la eliminación del organismo. La piel y las mucosas son las barreras exteriores de los organismos superiores. Pocos microorganismos pueden pasar a través de la piel, muchos otros pueden atravesar fácilmente las mucosas. La puerta de entrada y la naturaleza de los agentes infecciosos condiciona la respuesta del SI. Una vez atravesadas las barreras cutaneomucosas, dos estrategias fundamentales condicionan la fisiopatología de los microorganismos: vivir en el interior de una célula o en el espacio extracelular. Todos los virus, ciertas bacterias y

algunos parásitos unicelulares tienen la capacidad de replicarse y desarrollarse intracelularmente. La gran mayoría de las bacterias, hongos y parásitos viven extracelularmente. El SI, pues, debe reconocer las células que han sido infectadas o detectar las regiones de los espacios extracelulares donde aquellos se replican, para evitar su propagación y en lo posible, eliminarlos. También utiliza diferentes estrategias para lograr esto. Así, la acción simultánea de los sistemas de inmunidad natural no específica (INNE) e inmunidad específica adquirida (IEA), ataca las células contaminadas por virus y parásitos intracelulares, a estos mismos cuando deben transitar por los líquidos biológicos para poder infectar otras células y a todo microorganismo extranjero extracelular. La razón de la existencia del SI es, pues, la eliminación de los agentes infecciosos.

Durante la evolución de las especies, dos principales sistemas de defensa contra los organismos infecciosos fueron seleccionados:

- a) La inmunidad natural no específica (INNE)
- b) La inmunidad específica adquirida (IEA)

La INNE fue la primera en aparecer en la filogenia y se mantiene presente con sus variantes en todos los organismos multicelulares. La IEA se encuentra desde hace 400 millones de años y sólo está presente en los peces cartilaginosos y óseos, los anfibios, los reptiles, las aves y mamíferos, con sus mecanismos básicos similares, pero con características específicas en cada una de estas familias (*Gráfico 1*).

El SI de los vertebrados está constituido por órganos primarios (médula ósea, timo) y órganos secundarios (los ganglios linfáticos, placas de Peyer, bazo) compuestos por numerosos fenotipos celulares, que pueden ser estables o transitar por la sangre y la linfa por todo el organismo. La coherencia entre todas estas células implica múltiples interacciones entre las moléculas de adhesión, las moléculas específicas al SI presentes en

* Centre Nationale de la Recherche Scientifique (CNRS), Francia. Area de Medicina Molecular, Hospital Posadas.

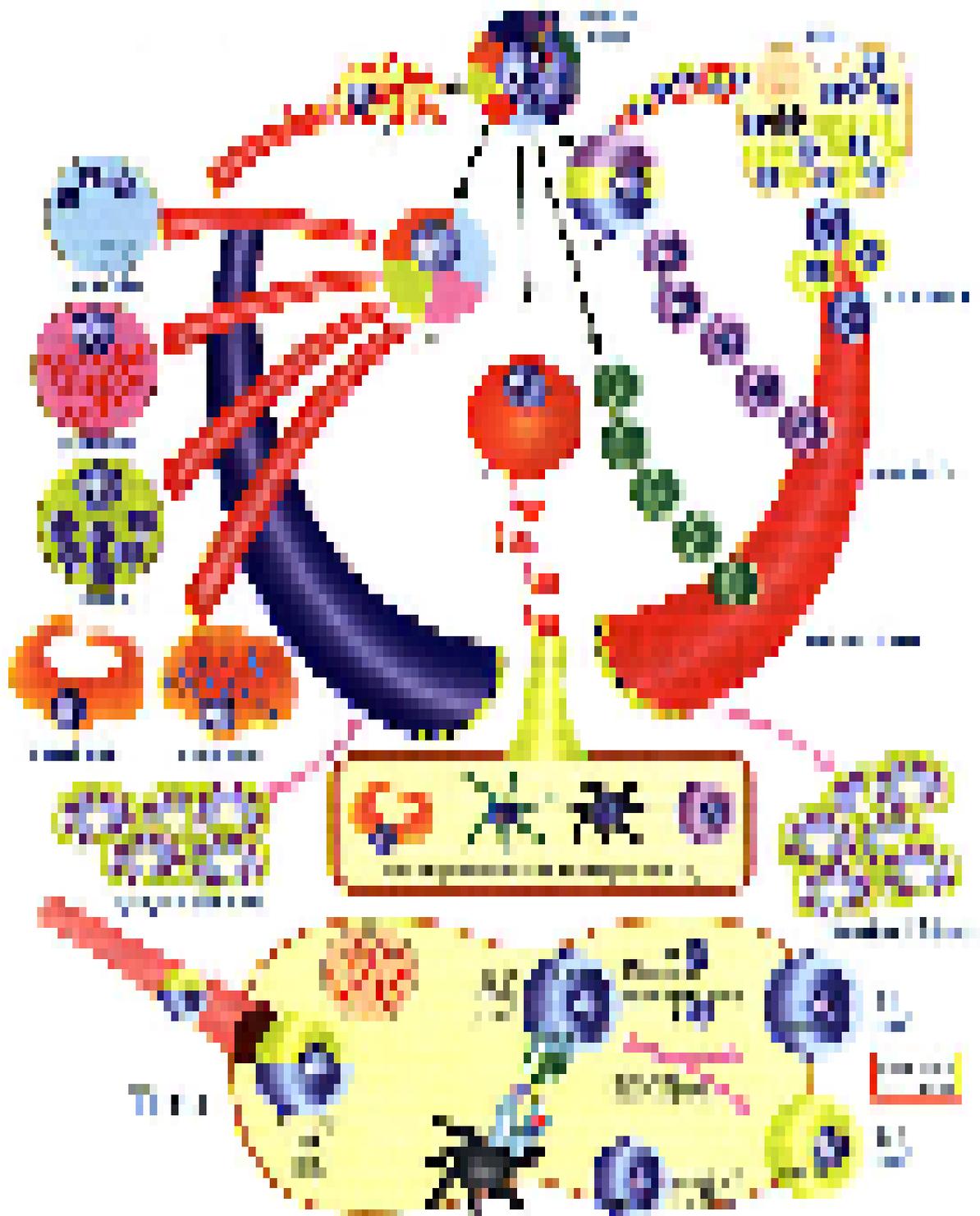


GRÁFICO 1
Origen de las células del sistema inmunitario

las membranas de esas células y a través de moléculas solubles (citoquinas) y sus respectivas moléculas receptoras.

Las células del sistema INNE fueron las primeras en aparecer en la filogenia. Son los fagocitos capaces de captar y degradar los microorganismos. Estas células tienen la ayuda de moléculas poco específicas que interactúan contra glúcidos y lípidos de los microorganismos para capturarlos. Estas células son esenciales para las defensas inmunitarias de todas las especies actuales (invertebrados y vertebrados).

La diferencia más importante en el SI de los

vertebrados fue la aparición de los órganos y células linfoides. Todas las células del SI provienen de células madre (stem cells) pluripotenciales (SC), que se replican y se diferencian para generar las "vías" fenotípicas del sistema hematopoyético total (*Gráfico 2*).

En lo que concierne al SI, una línea linfoide engendra los linfocitos y una mieloide genera los fagocitos (monocitos, macrófagos, polimorfonucleares [PMN]) y otros fenotipos celulares.

Ambas líneas, desde la célula más ancestral, pasan por una serie de fenotipos, algunos discutidos, pero la mayoría bien establecidos, esencialmente gracias a las moléculas de diferenciación

GRÁFICO 1

Origen de las células del sistema inmunitario

Todas las células del SI derivan de una célula madre hematopoyética (1). Los linfocitos B, que en los mamíferos se desarrollan en el hígado en la vida fetal y en la médula ósea, y los linfocitos T, desarrollados en el timo, provienen de una célula totipotencial linfoide (2). De los eritroblastos (3) derivan los eritrocitos. Los neutrófilos, eosinófilos, basófilos, macrófagos y mastocitos derivan de un fenotipo totipotencial (4), también diferenciado de la célula madre hematopoyética. Las plaquetas son producidas a partir de los megacariocitos (5). El origen de las células asesinas naturales (NK) y de los grandes linfocitos a gránulos (LGL) es también la célula madre hematopoyética pero se desconocen los fenotipos intermediarios. Las células presentadoras de antígeno (CPA), más importantes y diferentes al linfocito B y los macrófagos, son las células dendríticas (CD) y las de Langerhans (ninguna de ellas es fagocitaria). Tampoco es bien conocida su filial evolutiva a partir de la célula madre hematopoyética. Después del nacimiento, el SI tiene órganos primarios (médula ósea [MO] y timo) y secundarios (bazo, ganglios linfáticos, placas de Peyer). Por ellos recirculan todas estas células en un intercambio permanente de información, ya sea por contacto membranario directo o por moléculas solubles a distancia. Todas estas células y moléculas conforman la INNE y la IEA.

Las principales células de la INNE son los macrófagos/monocitos, polimorfonucleares, neutrófilos, eosinófilos y mastocitos, NK y LGL. Las principales moléculas secretadas o de membrana producidas por estas células e implicadas en la función de la INNE son: 1) moléculas circulantes: proteína C reactiva (PCR), proteína amiboide sérica (PAS), proteína fijadora de manosa (PFM), proteína fijadora de lipopolisacárido (PFL), sCD14, factor 3 del complemento (C3). 2) Moléculas receptoras de membrana: receptores de manosa de macrófagos, DEC-205, receptores "scavenger" (tipos I y II, MARCO), CD14 (receptor de lipopolisacárido), receptores del complemento (CD35-CR1-, CD21-CR2- y CD11b, CD18-CR3-). Todas estas moléculas tienen como funciones estimular la fagocitosis, fijar glúcidos, glucolípidos, aumentar la depuración de bacterias y hongos por los macrófagos (en sus diferentes variantes tisulares, como las células de Kupffer) y monocitos de la sangre. Algunas moléculas, como la DEC-205, fijan los componentes mencionados, ubicados principalmente en las cápsulas y membranas bacterianas y fungoides, sobre las CD.

Las principales células de la IEA son los linfocitos B y T (Th y Tc) y las CPA. Las moléculas solubles más importantes de este sistema son los anticuerpos específicos (Igs) y las citoquinas. Las principales moléculas de membrana son los receptores de membrana del linfocito B (BCR), los del linfocito T (TCR) y los antígenos de histocompatibilidad (HLA). En todas estas células se han reconocido casi 200 moléculas solubles o de membrana diferentes (clasificadas en general como CD1,2,...). Muchas de ellas participan directamente o indirectamente en el SI.

Desde la MO salen los linfocitos B; desde el timo, los linfocitos T. Ambos tipos tienen en común la inexperiencia de no haber encontrado nunca un antígeno externo (células naives). Desde el nacimiento, la sangre transporta a estos linfocitos hacia los tejidos y los GL secundarios. Cuando se produce contacto con un antígeno exterior el organismo se dividen, produciendo los linfocitos B Igs y los T, los Tc que atacan las células infectadas por contacto directo y los Th que secretan citoquinas para estimular a los B y a los Tc. Esquemáticamente, ésta es la regla general de la IEA.

En el timo se produce la selección de los linfocitos T que van a recorrer el organismo, sobreviniendo la selección positiva (cuando los linfocitos T quedan vivos) y la selección negativa (los linfocitos mueren). En el timo son eliminados 90-95% de estas células por tres principales razones: a) cuando los linfocitos encuentran antígenos del organismo (self antigens), porque de lo contrario serían peligrosos para los propios tejidos (esto es lo que ocurre en las enfermedades autoinmunes al fallar esta selección); b) cuando los genes del TCR no se recombinan correctamente y c) cuando los TCR no reconocen perfectamente las moléculas propias de HLA (HLAI por el Tc y HLAII por el Th). En este caso, la falla impide hacer una selección positiva. En resumen y gráficamente, el 5-10% de los linfocitos T que salen del timo son los que quedan después de haber sintetizado correctamente sus TCR y reconocido las moléculas de HLA (selección positiva) y son mayoritariamente "naives". El ciclo de cada linfocito T en el timo es de 21 días. En el organismo se diferenciarán toda vez que se encuentren con un "enemigo exterior".

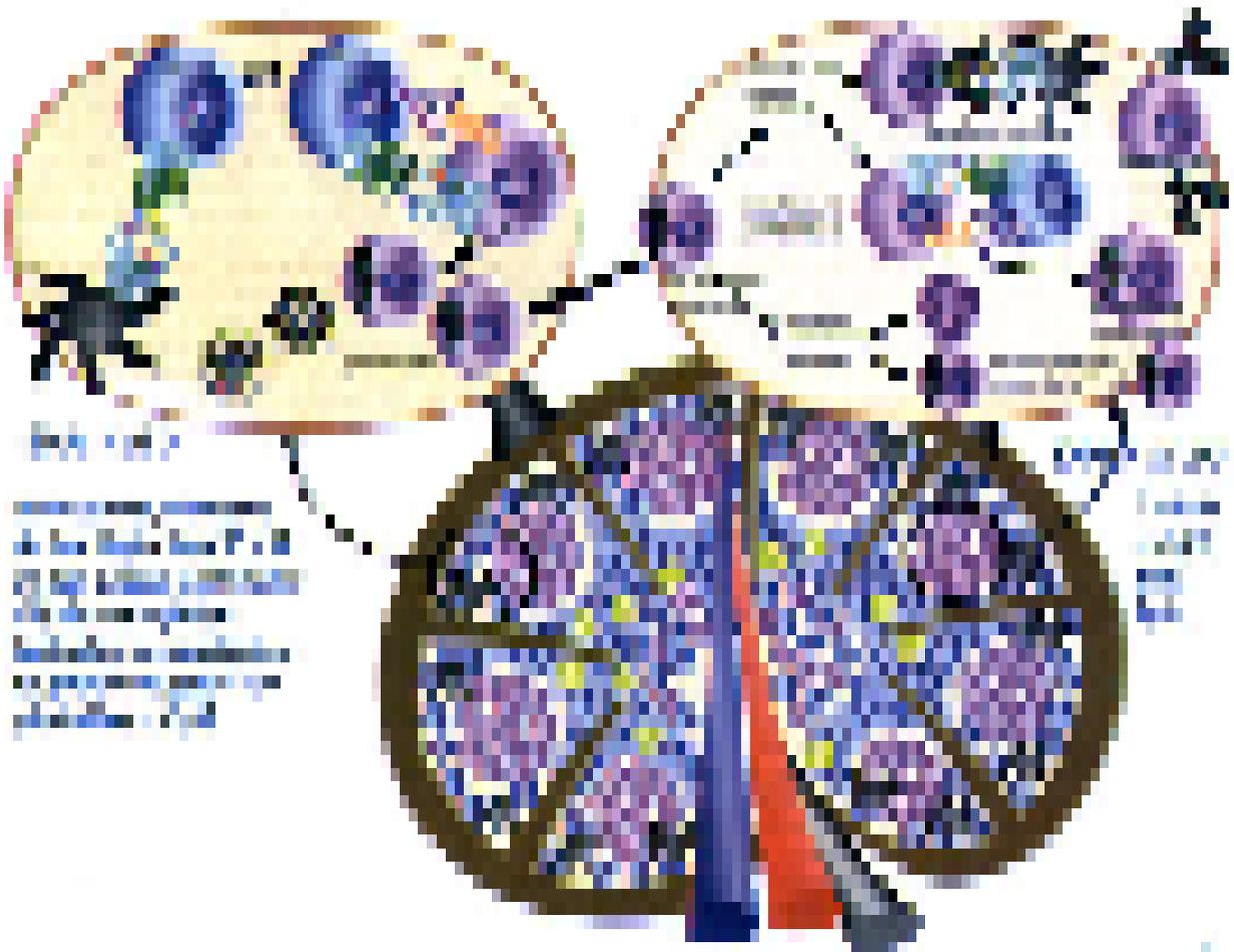
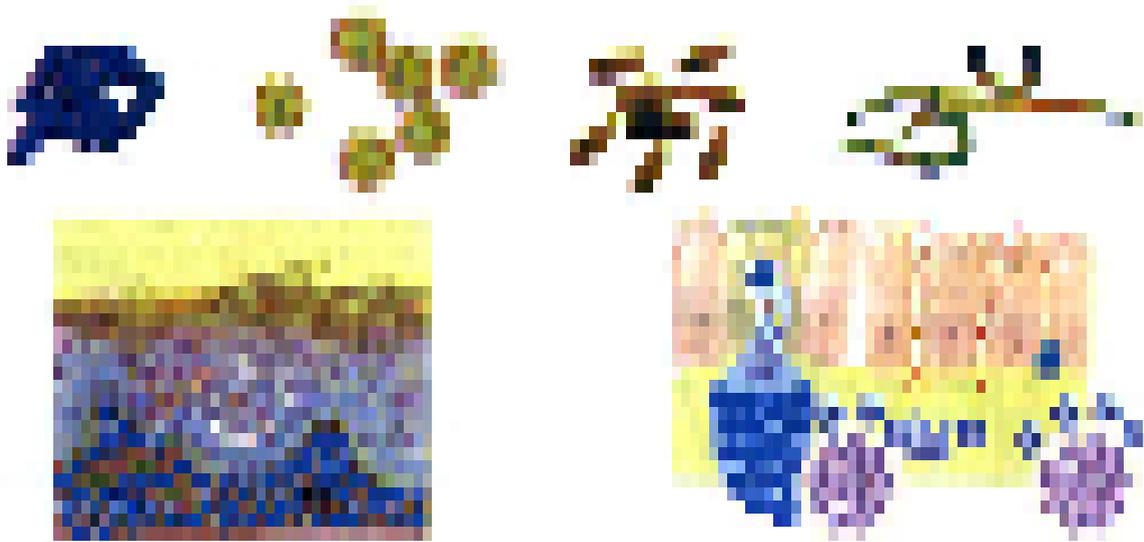


GRÁFICO 2
Activación del sistema inmunitario específico adquirido (IEA)

(CD) que van apareciendo y desapareciendo sobre sus membranas hasta llegar a las células finales mencionadas.

De la línea linfoide nacen los dos principales tipos de linfocitos: los T y los B. Ambos tienen una función común con moléculas diferentes: reconocen los antígenos. Los linfocitos T migran en los estadios iniciales de su diferenciación desde la médula ósea hacia el timo. Estos dos órganos y el hígado fetal, constituyen los órganos linfoides primarios. Los linfocitos B se diferencian en la vida fetal primero en el hígado, después en la médula ósea, para migrar luego a los órganos linfáticos secundarios (linfáticos, bazo, placas de Peyer y otros) donde terminan de diferenciarse.

Una tercera población de linfocitos sin receptores para los antígenos está constituida por los asesinos naturales (natural killers [NK]), derivados directamente de la médula ósea; son las células citotóxicas llamadas linfocitos a grandes gránulos (LGL).

Los linfocitos T (Gráfico 3)

Tienen una molécula de membrana como la principal estructura que los identifica: el receptor del antígeno (TCR). Existen dos tipos de TCR; el TCR-2 que es un heterodímero de un polipéptido α y otro β y el TCR-1 que también es un heterodímero pero de los polipéptidos γ y δ . Los dos receptores están asociados a un grupo de δ proteínas, el

complejo CD3. Un linfocito T es definido por su TCR-1 (5-15% de las células T) y TCR-2 (85-95% de las mismas).

Los TCR-2 ($\alpha\beta$) se dividen en dos subpoblaciones según expresen la proteína de membrana CD4 y tengan funciones auxiliares e inductoras o que expresen la proteína de membrana CD8 y tengan, sobre todo, una función citotóxica. Así, los linfocitos T CD4 y CD8 son dos fenotipos celulares con moléculas y funciones específicas propias. Esas funciones de los linfocitos T CD4 y CD8 están ligadas al reconocimiento y presentación del antígeno de los antígenos de histocompatibilidad HLA II y HLA I, respectivamente. Funcionalmente los linfocitos T CD4 o T_4 reconocen la molécula HLA II y si secretan las citoquinas IL-2 e IFN γ o IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 serán TH $_1$ o TH $_2$, respectivamente.

Los TCR-2 ($\alpha\beta$) CD8, que reconocen el HLA-I y son citotóxicos, también tienen subpoblaciones funcionalmente distintas según expresen IL-2 o no.

Los TCR-1 ($\gamma\delta$), minoritarios, pueden tener CD8 y no CD4 pero no reconocen ninguno de los complejos HLA. Están con los llamados IEL (intraepitelial lymphocytes) en epidermis y mucosas intestinales, sobre todo en esta última localización. Podrían ser una línea de defensa ancestral en el intestino. El repertorio de los TCR-1 ($\gamma\delta$) es escaso y estático.

Los linfocitos B

Representan el 5 a 15% de todos los linfocitos circulantes y están definidos por la inmunoglobulina

GRÁFICO 2

Activación del sistema inmunitario específico adquirido (IEA)

Cuando cualquier microorganismo o molécula extranjera penetra la epidermis o las mucosas (heridas, vacunas o infecciones) se encuentra con todas las líneas de defensa que estableció el SI. En forma gráfica, primero actúa la INNE, luego la IEA.

En los GL secundarios encontramos los linfocitos T provenientes del timo y los linfocitos B, de la MO. Ambos pierden su inexperiencia antigénica cuando encuentran "su" molécula, que se adapta a sus respectivos receptores.

En la zona cortical de los GL, los Th reconocen el HLA propio en las CPA, que les presentan las moléculas de péptidos (derivados de moléculas más grandes) de los gérmenes exteriores a sus TCRs. Los linfocitos B también captan esas moléculas. Con su molécula de HLA II las presentan como péptidos a los Th (pueden hacer lo mismo con los Tc, con su molécula de HLA I). El contacto con una célula CPA estimula al linfocito a producir proteínas solubles (citoquinas) y de membrana; una de estas últimas, la CD40L, al unirse con la CD40 del linfocito B al mismo tiempo que el TCR con el péptido y la molécula de HLA II, es fundamental en la diferenciación molecular del linfocito B. En efecto, en un período de 7 días éste comienza a secretar las IgM y después, entre el día 7 y el 20, en los centros germinativos (CG) de los GL una nueva recombinación hace pasar la especificidad de esa molécula a otra de IgG o de IgA o IgE, es "el switch" de las Igs. Así molecularmente diferenciados estos linfocitos B pasan a secretar constantemente la misma Ig, y en ese caso maduran definitivamente en plasmocitos. Unos pocos de ellos quedan como linfocitos B de memoria sin diferenciarse en plasmocitos. Un nuevo encuentro con el mismo antígeno, por iguales mecanismos, producirá mutaciones en el ADN (mutaciones somáticas) que mejorarán el desempeño de la Ig producida inicialmente, tanto en especificidad como en la afinidad por el antígeno (por el epitopo, más precisamente). Este ciclo de nuevos reencuentros con el primer antígeno es, por ejemplo, lo que mejora la calidad de la respuesta inmunitaria con sucesivas vacunaciones.

Finalmente, cabe señalar que los linfocitos que serán plasmocitos o células de memoria fueron seleccionados positivamente desde el encuentro inicial con el epitopo, por su mejor afinidad que otros. Los que no encuentran su epitopo mueren por apoptosis (selección negativa) o a veces sufren una nueva recombinación genómica de sus Igs y tienen una segunda oportunidad de un encuentro con un antígeno.

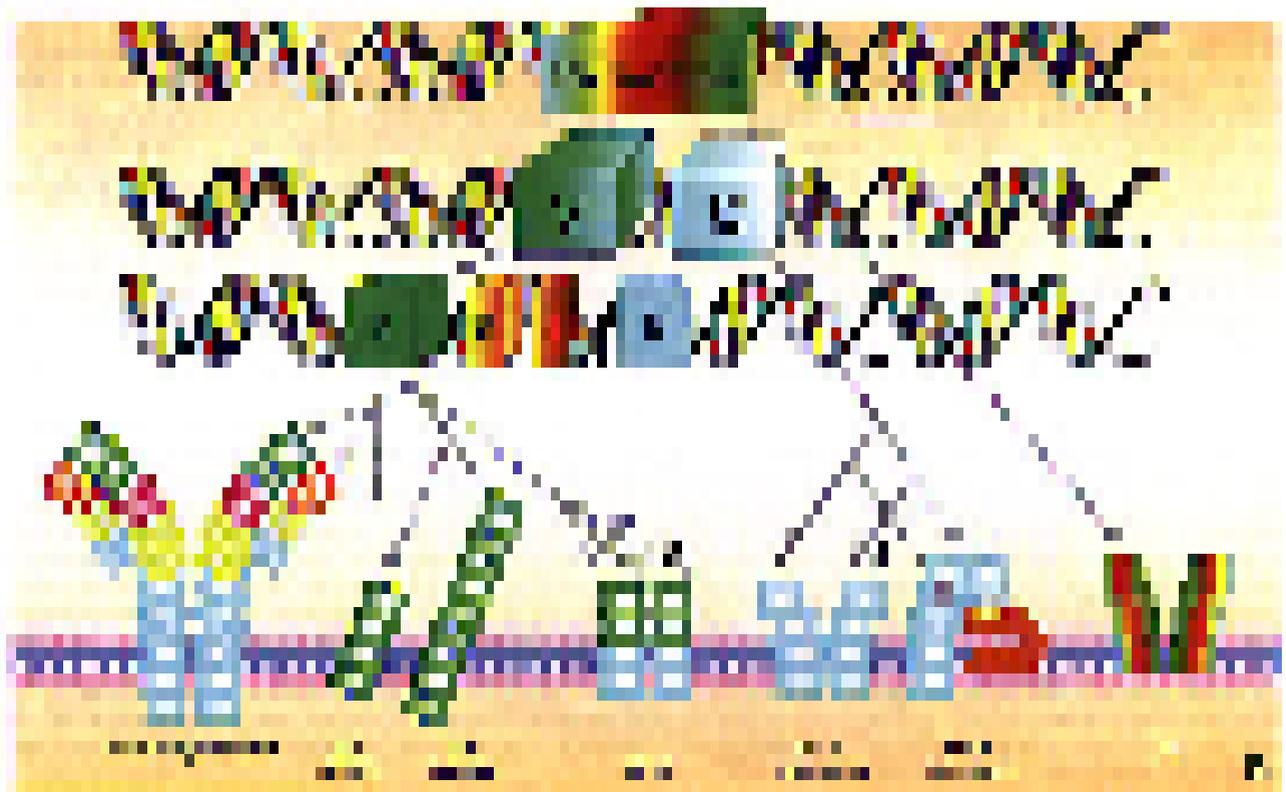


GRÁFICO 3
Evolución de las células y moléculas del sistema inmunitario

lina (Ig) de membrana, cuyo rol es ser receptor del antígeno. La gran mayoría de los B expresan Ig de membrana (Igm) de las clases o isotipos IgM e IgD que poseen siempre los mismos sitios variables.

Hay pocos linfocitos B con IgA de membrana y se concentran en el intestino, donde son abundantes. Las IgM están asociadas a otras moléculas y forman el complejo receptor de antígeno del linfocito B (BCR). Otras moléculas, como la HLA II, los receptores de Fc γ I, II y III y las proteínas CD19, CD20 y CD22, son marcadores de los linfocitos B (*Gráficos 2, 4 y 5*).

Los fagocitos

Hay dos familias de células fagocitarias: a) los macrófagos/monocitos; b) los PMN. Los primeros tienen como función principal digerir y presentar los antígenos a los linfocitos T. Los segundos, destruir directamente los microorganismos. Como dijimos antes, de la SC se generan otros fenotipos celulares que tienen una participación en la respuesta inmune. Así también del progenitor mieloide común (*Gráfico 1*) nacen los basófilos, eosinófilos y mastocitos. Las células presentadoras de antígenos (CPA), que tienen diferentes nombres según los tejidos, tienen su origen en la médula ósea, pero molecularmente son menos conocidas. En general, no son fagocitos

Finalmente, de la SC nacen también los megacariocitos que engendran las plaquetas que participan, no específicamente, en reacciones infla-

matorias durante una infección, además de la línea eritroide que dará origen a los glóbulos rojos.

Cabe destacar también que existen dos participantes, no menos importantes, en el mecanismo de defensa cuyos orígenes no son las SC de la médula ósea. Uno son las células endoteliales, que tapizan el interior de las vénulas, capilares y vasos linfáticos y que, por intermedio de las moléculas de las familias de las integrinas, selectinas y quimioquinas, determinan los trayectos de la mayoría de las células del SI.

El otro son las moléculas del sistema del complemento, las únicas moléculas solubles que no son generadas por ninguna célula del SI y que son producidas por los hepatocitos.

La diferencia esencial entre ambos sistemas reside en el modo en que cada uno de ellos reconoce al enemigo exterior. La INNE utiliza proteínas que el genoma codifica, en forma invariable, destinadas a detectar moléculas nocivas. Esas proteínas, que son receptoras de membranas o solubles, reconocen en general azúcares y lípidos. Las células y las moléculas que utiliza la INNE emplean diversos mecanismos estructurales que reconocen antígenos de ese tipo. Así, los macrófagos tienen un receptor manosa (es una C-lectina endógena de amplio espectro por los carbohidratos) que induce su endocitosis. También tienen un receptor por el lipopolisacárido (LPS) constituyente común de la membrana exterior de las bac-

GRÁFICO 3

Evolución de las células y moléculas del sistema inmunitario

Los genes que codifican por las principales proteínas del sistema inmunitario pertenecen a una misma familia de genes: la superfamilia de las inmunoglobulinas (Igs). Todos los genes (parólogos) de esta familia en cada especie derivan de un solo gen ancestral (ortólogo), conservado en los organismos multicelulares inferiores. A pesar de ser muchas moléculas con estructuras y funciones diferentes, dos mecanismos fundamentales explican la extrema diversidad y el número elevado de dos de ellas: las Igs y los TCRs. Esos dos mecanismos son la recombinación somática y la hipermutación somática en los linfocitos B y T.

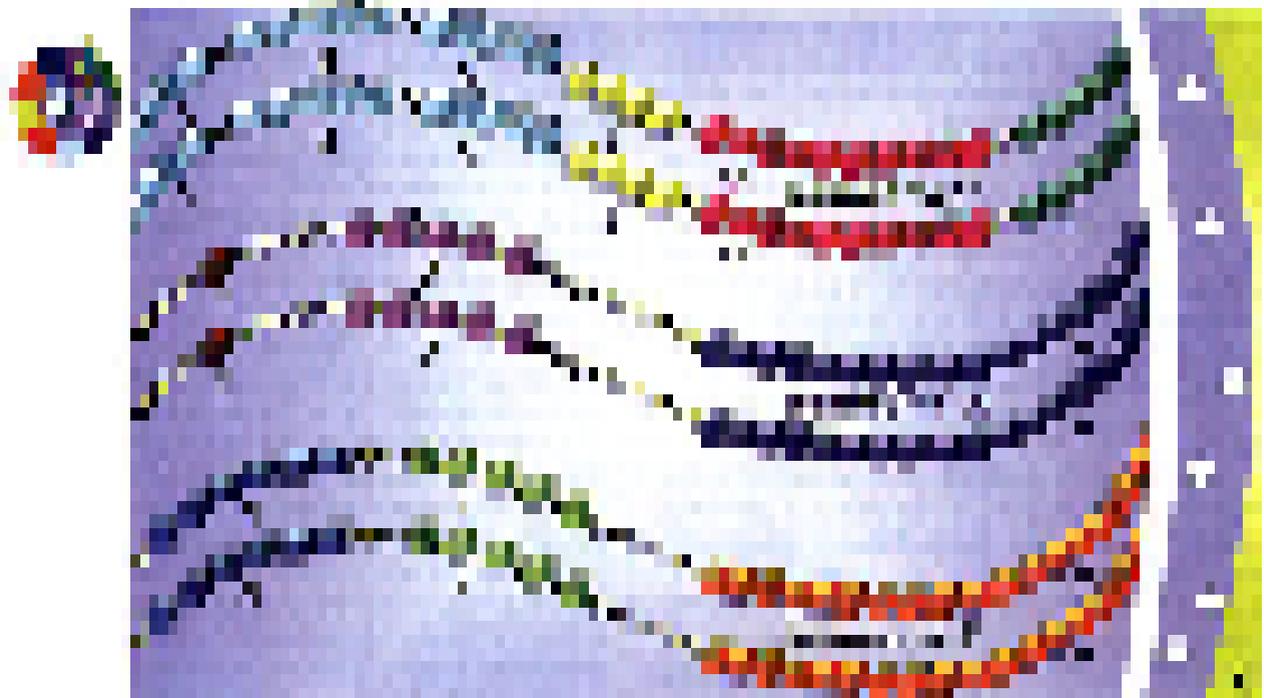
Desde el gen ancestral existe una parte constante (C) y una parte variable (V) de ese gen. Esos dos motivos genéticos del interior de un gen se duplicaron muchas veces en el curso de la evolución y dieron origen a múltiples genes V y C y a otros genes intermediarios. Si bien esos múltiples genes V y C tienen una gran homología en sus ADN, son todos diferentes también en el interior de una especie. La duplicación y diversificación de estos genes dieron lugar a la creación de otros cientos de V y C esparcidos y separados entre ellos en el interior del genoma de todas las células germinales y en todas las células somáticas, excepto en los linfocitos B (producen las Igs) y en los linfocitos T (producen los TCRs). En efecto, así como es explicado con más detalle en los *Gráficos 4 y 5*, las Igs y los TCRs son las únicas moléculas del SI y de los organismos superiores en recombinarse y mutar en las células somáticas en la vida de un individuo. Nacen, evolucionan (la experiencia del contacto con cada antígeno externo es única para cada persona) y mueren con él. Visto así, son las únicas moléculas conocidas que siguen las leyes de la evolución en el interior de cada individuo, único desde el punto de vista del SI.

Las moléculas de las Igs están compuestas por dos cadenas pesadas (H, heavy) y dos cadenas livianas (L, light). Las cadenas H pueden ser de tipo mu, delta, gamma, alfa y epsilon, según el gen que sea transcrito del grupo de genes C. Ellas le dan el nombre de isotipos a las Igs: IgM, IgD, IgG, IgA e IgE, respectivamente.

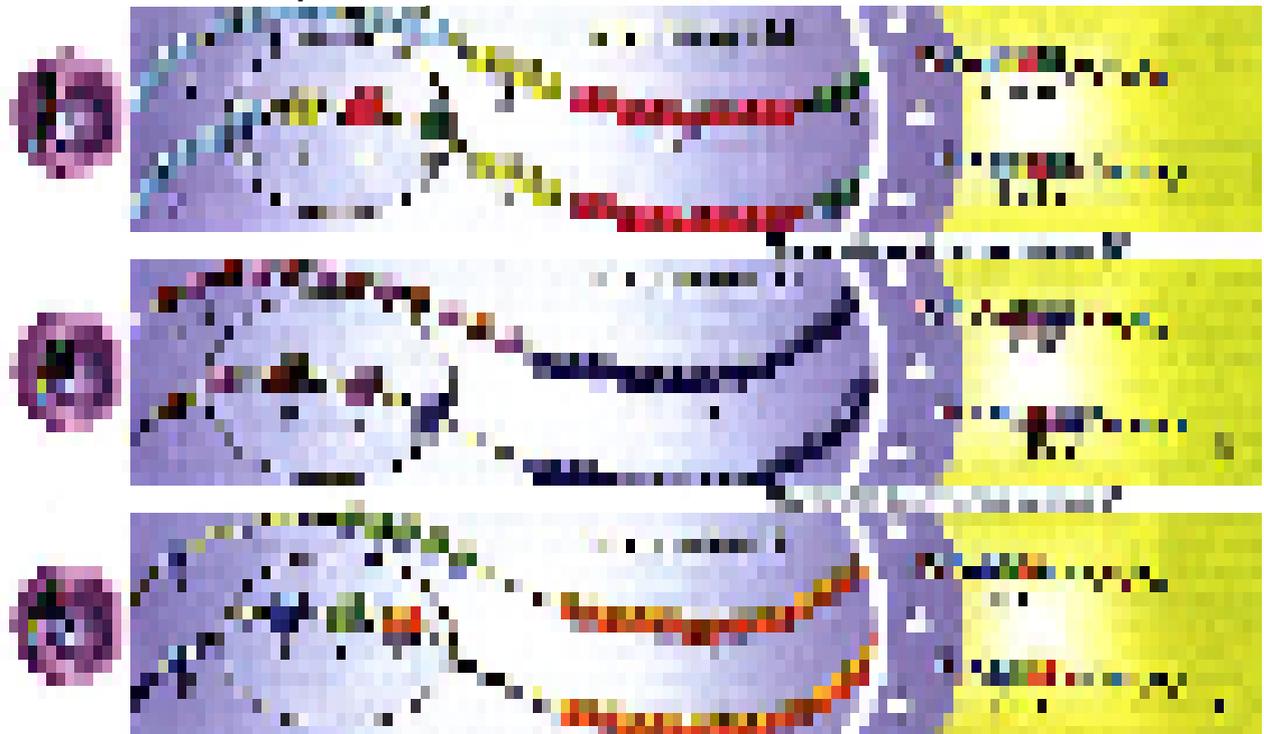
Las dos cadenas L también deben ser siempre las mismas: kappa o lambda y van con cualquier par de cadenas H.

En el gráfico, las regiones C, J, D y V para las cadenas H, y las regiones C, J y V para las cadenas L, corresponden a los mismos sectores que se asignaron a los genes respectivos a nivel del ADN y el ARNm en los *Gráficos 4 y 5*. Las otras moléculas de la Igs esquematizadas en el gráfico muestran sus dominios respectivos derivados del mismo gen ancestral.

Célula hematopoyética totipotencial



Linfocitos pre B



b

GRÁFICO 4
Génesis molecular de las inmunoglobulinas

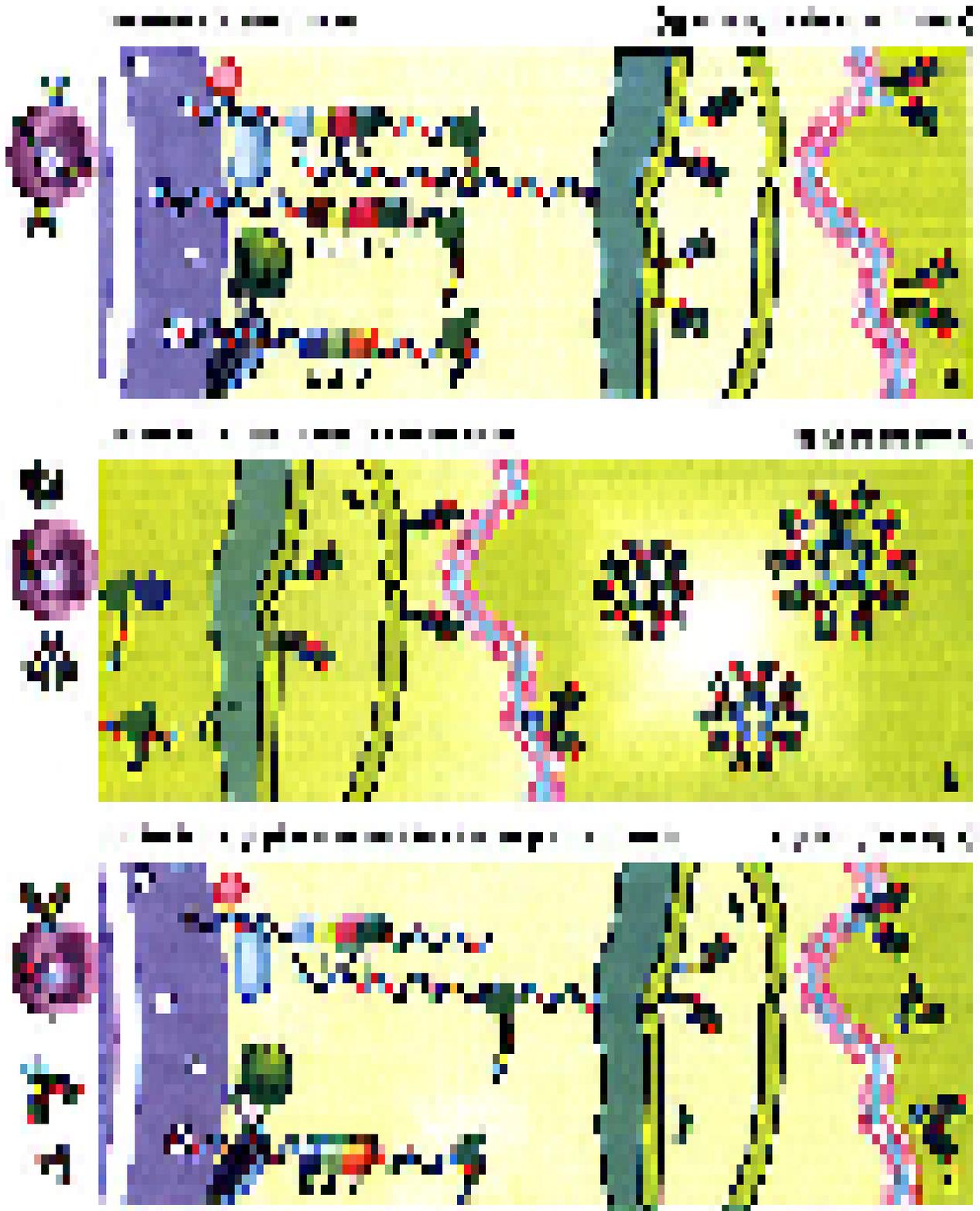


GRÁFICO 5
Génesis molecular de las inmunoglobulinas

GRÁFICOS 4 Y 5**Génesis molecular de las inmunoglobulinas****Evolución genotípica y fenotípica de los linfocitos B (a la izquierda de los Gráficos 4 y 5)**

Si recordamos que el genoma humano codifica con 80.000 genes por otras tantas proteínas, aparece la siguiente paradoja: ¿Cómo se hacen las 10^{9-12} moléculas de anticuerpos (Igs) diferentes generados por otros tantos linfocitos B que tenemos circulando?; (para un clon de linfocito B, una Ig diferente, molecularmente hablando, los clones de linfocitos B son “geno y fenotípicamente” diferentes). Cada individuo nace con un patrimonio genético inmunológico de Igs y TCRs, que heredó como fruto de la experiencia inmunológica de su especie. La mayoría de los linfocitos B y T que circulan en los líquidos biológicos de un niño son “naives”, es decir que están prestos a recibir cualquier antígeno externo al organismo. Así, cada antígeno se adapta al “molde” receptor que mejor se adecua “naturalmente”, tanto para los TCRs como para las Igs. Sigamos con estas últimas para ser más claros.

Como vimos, a partir de la célula madre, nacen varias células totipotenciales más definidas (*Gráfico 1*). En lo que concierne a los linfocitos B, la génesis de las Igs es la siguiente: cuando se llega al estado pre B, ya ocurrieron dos recombinaciones sucesivas en los genes de la cadena H y una recombinación en los genes de una de las cadenas L. Este proceso se desarrolla en la médula ósea e independientemente de toda estimulación antigénica. En la etapa siguiente los linfocitos ya se llaman B circulantes no secretores de Igs. Es decir que llevan en su membrana el producto de la unión de las proteínas H y L. Así se forman en la membrana de esas células, la IgMm y la IgDm (m, por membranarias). Luego de la primera estimulación antigénica esos linfocitos B comienzan a secretar las IgM y ese mismo linfocito B se replica muchas veces (constituyendo un clon) aumentando el nivel de IgM circulante. Al cabo de 7 días, las IgM comienzan a ser reemplazadas por las IgG, que tienen exactamente la misma especificidad por el antígeno en cuestión. Eso es el fenómeno de “switch” que ocurre a nivel de los genes de la cadena H. Consiste en una nueva recombinación en estos genes. En efecto, todos los genes del grupo C, salvo el Cdelta, están precedidos por una secuencia de unos 30 pb y a una distancia de 1 a 2.000 pb, llamada S (por switch). Son homólogas entre ellas al 80%. A los 7 días del primer contacto antigénico, por un mecanismo no bien conocido aún, se produce una recombinación entre el S del Cmu con un S de los Cgamma, Cepsilon o Calfa. Esto será definitivo: el linfocito B comienza a secretar IgG, IgE o IgA y nunca más podrá secretar IgM ni IgD. Puesto que lo único que varió después del switch fue la región constante de la cadena H y no la región V, y que tampoco se modifica la cadena L que tenía la primera IgM, no hay variación alguna en la especificidad por el antígeno inicial (sólo algunas secuencias de aminoácidos de las regiones V [paratope] de las cadenas H y L entran en contacto directo con una región del antígeno [epitope]). Finalmente, el nivel de IgG circulante desciende y se mantiene así por muchos años, restando solamente algunos de los linfocitos B de ese clon que los producía. Si una vez más el mismo epitope entrara en el organismo, esos linfocitos B (memoria) se reactivarán y volverán a secretar la misma IgG. Vemos aquí la segunda característica fundamental de la IEA: la memoria inmunitaria.

La parte C, sea de la cadena H o L, es un sello absoluto e invariable de las Igs de cada especie (isotipia). La parte V de ambas cadenas contiene los dominios específicos que contactarán a un motivo antigénico dado (epitope).

Los linfocitos B cumplen con las siguientes funciones:

- 1) Producir distintos isotipos de Igs;
- 2) Un linfocito B (plasmocito en su última etapa de diferenciación) produce un único anticuerpo a lo largo de su vida. Primero es una IgM y luego es una molécula de Ig soluble secretada. Ambas conservan siempre la misma región V y C (esta última es un poco más corta, porque pierde la región transmembranaria cuando es secretada);
- 3) Un linfocito B codifica las proteínas H y L en los cromosomas 14, 2 o 22 respectivamente. Uno solo de cada par de cromosomas (el materno o el paterno) realiza la transcripción al azar. Esto se llama exclusión alélica. Hoy se sabe que este fenómeno es válido en el genoma humano para otros genes productores de moléculas del SI. Los TCRs, la IL-2, receptores de los NK son los ejemplos (se conocen otros ejemplos de exclusión alélica, de proteínas no inmunitarias, como los receptores olfatorios, todos los genes inactivados de uno de los cromosomas sexuales X y genes que no son inactivados al azar, que vienen programados desde la fecundación, o sea que trabaja siempre el cromosoma paterno o para otros, el materno [este último ejemplo se conoce como imprinted parental]);
- 4) Luego de secretar una primera vez, la mayoría de las células del clon de linfocitos B perecen pero otras quedan como linfocitos B de memoria, que secretarán otra vez el mismo anticuerpo (en realidad, mutado en los dominios de la región V, que da una especificidad con mayor afinidad por el epitope), si vuelve aparecer el mismo antígeno.

Génesis molecular de las inmunoglobulinas (a la derecha de los Gráficos 4 y 5)

A partir de una célula totipotencial linfoide (ella misma generada a partir de la célula madre) se diferencian los linfocitos B y T. Desde el momento en que el fenotipo del linfocito B es definido como tal en la médula ósea, los genes de las inmunoglobulinas humanas comienzan a ser activados. Estos genes están en los cromosomas 14, 2 y 22 y se transcriben para producir las proteínas de las cadenas pesadas, cadenas livianas kappa y cadenas livianas lambda, respectivamente. Sólo trabaja un cromosoma —el paterno o el materno— en forma aleatoria, pero una vez decidida la activación, será siempre el mismo para cada linfocito B.

- Activación de los genes de la cadena H de las Igs en el cromosoma 14. En los cromosomas 14, 2 y 22 del linfocito B, al igual que en cualquier otra célula del organismo, se encuentran cuatro grupos de genes, V, D J y C por la cadena H y tres grupos de genes, V, J y C por las cadenas L, kappa y lambda (4,a).

Antes de comenzar a recombinarse en uno de los cromosomas 14 del linfocito B, encontramos sucesivamente más de 300 genes en el grupo V (variable), más de 10 por el grupo D (diversificación), 6 genes por el grupo J (junction) y 9 genes del grupo C (constante). Estos (en realidad serían una especie de “minigenes”, puesto que en general cada uno de ellos funciona con un solo promotor con iguales factores de transcripción) no tienen intrones, salvo los genes C de la cadena H, que cuando se recombinan en el ADN genómico lo hacen como si fueran “exones” en sí mismos (ver *Arch Arg Pediatr*, 1, 1997) y se alinean sobre un espacio de unas 300

(Continúa en la página siguiente)

terias gramnegativas, que induce la síntesis de interleuquina-1 (IL-1), IL-6 e IL-12 como la proteína factor de necrosis tumoral (tumor necrosis factor [TNF]), haciendo de este modo que el macrófago estimule con esas citoquinas a los linfocitos T ayudantes (helpers) (ver más adelante) de la IEA. Las células NK también tienen un receptor tipo

lectina para reconocer células infectadas o extranjeras para inducir las a la citólisis. Otro ejemplo es el de las proteínas del sistema del complemento, constituyentes mayores de moléculas solubles utilizadas por la INNE, que interactúan con los carbohidratos de moléculas que carecen de ácido siálico en lo que se llama el camino de activación

(Viene de la página anterior)

Kb en los respectivos cromosomas. Los genes del grupo D no existen en los cromosomas 2 y 22 de las cadenas L. En el cromosoma 14, el grupo de los 9 genes C se extiende a lo largo de unas 200 Kb, Cmu, Cdelta, Cgamma 3, Cgamma 1, Cepsilon, Cgamma 2, Cgamma 4 y Cepsilon 1 y un pseudogene, en ese orden. Para que se exprese la cadena H debe haber dos recombinaciones sucesivas en el interior del ADN: primero entre un gen del grupo D y uno del grupo J tomados al azar; luego ese bloque constituido por los dos genes D y J, sin pares de bases en el medio, se une a uno de los genes V, también tomado al azar. Tras estas dos recombinaciones el nuevo bloque constituido por V, D y J y, un poco más alejado, el grupo de los genes C constituyen la unidad genómica funcional que dará el preARN mensajero de la futura proteína H de una molécula de Ig.

- Activación de los genes de las cadenas livianas (L) del cromosoma 2 (kappa) o el cromosoma 22 (lambda) (4,a).

El conjunto de genes que constituyen los grupos V, J y C de las cadenas L, kappa y lambda son distribuidos en ese orden sobre los cromosomas 2 y 22 respectivamente.

La síntesis de una proteína L de tipo kappa es el producto de la presencia de unos 300 genes del grupo V, 5 genes del grupo J y un solo gen C. Al igual que la cadena H, esta distribución en el ADN es conservada en el ARNm y en la proteína (L) de la molécula de Ig final (4,a y b) y (5,a,b y c). La secuencia de la activación de estos genes comienza con la unión entre un gen V (una secuencia "líder", L, precede a cada gen V separado por un intrón) y un gen J, tomados al azar. Este bloque (V y J) queda separado luego de esta única recombinación del gen C por unos 2.000 a 3.000 pares de bases, en lo que constituye la unidad genómica funcional de la cadena L, kappa. El preARNm pasa por la clásica etapa de splicing en el núcleo del linfocito pre B, y migra al citoplasma como ARNm funcional de la cadena kappa.

Como dijimos, la exclusión alélica del linfocito pre B consiste en hacer transcribir uno solo de los pares de cromosomas 14 y 2 o 22. Para los cromosomas 2 o 22 la exclusión es total, es decir, que un linfocito B puede producir un solo tipo de Ig, que tiene la cadena L kappa o la cadena L lambda, nunca las dos juntas. Esto se llama exclusión isotípica. Esto ocurriría en el momento en que se recombinan los genes V y J. Si sobre uno de los cromosomas 2 (kappa) la recombinación se realiza con éxito, el otro cromosoma 2 no podrá recombinarse. Por el contrario, si varias tentativas de recombinaciones entre los genes V y J fracasan, el genoma ensaya con el otro cromosoma 2, y si esto también sucede, el genoma recomienza el proceso con uno de los cromosomas 22 (lambda) (en total no más de 4 tentativas; si todas fallan la célula muere).

La constitución y la recombinación de la cadena L lambda es un poco diferente que la cadena L kappa. Tiene más de 300 genes V, 6 genes J que están individualmente delante de 6 genes C. El proceso de recombinación es similar, con la única diferencia que, cuando se une un gen V al azar con el gen J3, por ejemplo, ese bloque V-J3 forma la unidad funcional genómica con el gen C3.

Aunque la descripción detallada del proceso molecular de cómo ocurren estas recombinaciones en el genoma de los linfocitos preB escapa al cuadro de este artículo, señalaremos que cuando ocurre la unión entre los genes V y J, la extremidad 3' de un gen V queda en contacto con la extremidad 5' de un gen J. El ADN que los separaba antes de la recombinación es eliminado. El intrón que queda entre el bloque V-J y el grupo C es de 2.000 a 3.000 pb y se elimina por splicing. Las secuencias específicas de ADN que participan en la recombinación V-J, son dos secuencias complementarias de 7 (heptámero) y 9 (nonámero) pares de bases, que se leen en sentido inverso al final de cada gen V y al comienzo de cada gen J, respectivamente. Estas dos secuencias complementarias en el linfocito pre B se unen entre sí acercando el ADN de los genes V y J, gracias a la acción de una enzima (recombinasa). En todo este proceso los productos de los genes RAG-1 y RAG-2 (recombination activating gen), que se expresan solamente en las células linfoides y están conservados desde las primeras especies, participan simultáneamente coestimulándose, para lograr la recombinación genómica de las Igs y también de los TCRs.

Finalmente, el cálculo combinatorio de todos estos genes explica el fantástico número de Igs (anticuerpos) diferentes que un organismo puede generar. En efecto, si por una cadena kappa tenemos: $300(V) \times 5(J) \times 4$ (factor de incertidumbre de la recombinación) = 6.000 posibles cadenas L kappa. Las posibilidades de cadenas L lambda es de 1.000; y las de la cadena H de $300(V) \times 10(D) \times 4$ (factor de incertidumbre...) $\times 4(J) \times 4$ (factor de incertidumbre de la 20ª recombinación) = 192.000. EL total de posibilidades es entonces de: $6.000 \times 1.000 \times 192.000 = 1,1 \times 10^{12}$, de anticuerpos diferentes. Las hipermutaciones sucesivas que ocurren en los genes V de las cadenas H y L en los linfocitos B de memoria en el curso de reinfecciones con el mismo germen o durante las revacunaciones de la infancia, por ejemplo, por reactivación antigénica, hace que el número de posibilidades sea multiplicado por un factor de 1.000 (o más si se consideran las estructuras canónicas cuaternarias de las Igs).

clásico (classical pathway complement) y que es desencadenado cuando ciertos carbohidratos se ligan a las colectinas.

La INNE diferencia el universo en estructuras inocuas o nocivas según tengan o no ciertas estructuras de carbohidratos o de lípidos. Así distingue entre estas estructuras comunes en los virus, bacterias, hongos y parásitos de los otros presentes en las células eucariontes.

En contraste a esta inflexible e invariable forma de actuar de la INNE, el sistema de IEA es infinitamente más adaptable a un potencial de hasta 10^{20} antígenos diferentes. Las principales células de esta inmunidad, los linfocitos B y T, producen o pueden generar un potencial de $10^9 - 10^{20}$ moléculas TCR y anticuerpos que no estaban programados desde las células germinales. Es decir, que se generan, evolucionan con cada individuo y mueren con él. Son las únicas proteínas de los organismos eucariontes cuyos genes "se modifican", después de que el embrión está en gestación hasta la muerte de ese individuo (*Gráficos 4 y 5*). En efecto, estos linfocitos B y T utilizan los productos de los genes RAG1 y RAG2 para recombinar los genes V, D y J y producir esa enorme variedad de proteínas, inmunoglobulinas y receptores T, respectivamente. Es una verdadera creación somática de genes y proteínas. Tanto las inmunoglobulinas como los receptores de los linfocitos T reconocen esa cantidad potencial de antígenos. Los receptores en los linfocitos B reconocen conformaciones nativas de proteínas, carbohidratos o simples grupos químicos (naturales o sintéticos), mientras que los TCR reconocen únicamente péptidos derivados de la degradación de los antígenos proteicos.

Luego de ser procesados en el interior de esas células, los péptidos son presentados a los TCR de los linfocitos T ayudantes y citotóxicos por las moléculas del sistema HLA II en la superficie de las células presentadoras de antígenos (*Gráfico 2*). Este sistema de presentación peptídica permite llevar al interior de los componentes celulares del sistema de IEA la información de un amplio espectro de estructuras moleculares que son las proteínas y que nunca son carbohidratos ni lípidos. Esto permite a los linfocitos T detectar proteínas virales no glicosiladas, en las células infectadas o procesadas por las CPA después de haberlos fagocitado. Los clones de linfocitos B y T que tienen receptores BCR y TCR, respectivamente, más adecuados para una determinada molécula proteica, son los que se reproducen como células efectoras contra un agente infeccioso portador de esa molécula. Después de la eliminación de ese agente infeccioso, los clones celulares B y T se

reducen y quedan como células de memoria con sus genes de Igs y TCR ya combinados irreversiblemente de por vida. Esas células de memoria se volverán a reproducir si se produjera una nueva invasión del mismo agente. Así, un linfocito B y un linfocito T producirán siempre la única molécula de Ig y TCR respectivos que han construido contra una determinada molécula. Un ser humano puede generar hasta 10^{12} clones celulares de ambas células.

El sistema IEA, al adaptar esa exclusiva variabilidad de recombinar los genes de las Igs y TCR como una respuesta a la cantidad de agentes patógenos potenciales que a su vez varían, "perdió" la principal propiedad del otro sistema de la INNE, más ancestral: la inherente habilidad para distinguir entre las potenciales moléculas patógenas que requieren una respuesta inmune y las moléculas inocuas. En efecto, la IEA puede responder contra estas últimas en forma innecesaria pudiendo agredir los propios tejidos del organismo; las enfermedades autoinmunes y las reacciones de hipersensibilidad de grado I, II, III y IV, son los ejemplos.

Sin embargo, los dos sistemas, la INNE y la IEA, no actúan independientemente y sus células y moléculas solubles cooperan entre ellas en todos los compartimientos biológicos de los organismos multicelulares a lo largo de toda la filogenia. En los momentos iniciales de una infección, la INNE es la respuesta que predomina y luego comienza a actuar la IEA. Gracias a la memoria inmunológica del sistema IEA, todo nuevo contacto con el mismo agente infeccioso hace que la respuesta sea más acelerada y eficaz. La INNE, por ser inespecífica, no tiene memoria y actúa contra el mismo microorganismo como si fuera siempre la primera vez.

La interacción fundamental del sistema INNE con el de IEA es la de informarle sobre la "calidad" del antígeno, para que seleccione las estrategias más correctas para su eliminación.

COMO FUNCIONAN JUNTOS LOS SISTEMAS INNE Y IEA

Los linfocitos T4 (Th) coordinan ambos sistemas: por un lado, estimulan a los linfocitos B a secretar anticuerpos circulantes específicos que ayudan a la muerte intracelular de los gérmenes por los macrófagos y por otro, estimulan la expansión clonal de los T8 citotóxicos (Tc). Los TCR de los Th estimulan la secreción y replicación de estas células cuando entran en contacto con los péptidos por el sistema HLA II de las CPA (*Gráfico 2*). En realidad, son varias las coestimulaciones (vere-

mos todo esto en la segunda parte de inmunología molecular). A través de sus proteínas de membrana B7.1 (CD80) y B7.2 (CD86), las CPA se ligan a la proteína CD28 L (ligante) del Th al mismo tiempo que el péptido lo hace con el TCR. De esta manera, las CPA (de ambos sistemas INNE y IEA) dirigen información y activan los Th. Entre las CPA, las células dendríticas son los activadores más eficaces de los Th. Desde su nacimiento en las SC de la médula ósea migran y se ubican en los tejidos linfoides y no linfoides, como todas las otras CPA. Gracias a sus receptores de manosa, internalizan hasta 10^5 moléculas de glicoproteínas para que éstas sean degradadas y presentadas en péptidos de 7 a 22 aminoácidos por el sistema HLA. Los macrófagos con sus receptores (por ejemplo: los receptores scavenger) cumplen igual tarea de incrementar la eficacia de la presentación a los linfocitos Th. Así, con estos ejemplos, vemos cómo componentes moleculares de ambos sistemas hacen un todo de la función del SI.

A diferentes y múltiples estrategias de invasión por los patógenos, corresponden diferentes tipos de respuestas inmunitarias para su eliminación.

Los dos grandes mecanismos cooperativos de respuestas inmunitarias entre lo innato y lo adquirido (la INNE y la IEA) son:

El *tipo 1*, donde la acción de los macrófagos de fagocitar y digerir los microorganismos es la función esencial. Esto ocurre en las primeras líneas de la infección, con la participación de moléculas solubles no específicas y de anticuerpos específicos si los hubiera.

El *tipo 2*, que es una vía independiente de los macrófagos, en la que participan los linfocitos Th y Tc (T4 y T8 respectivamente), los mastocitos y los eosinófilos.

Es sobre todo el Th el que coordina ambos sistemas. En efecto, los Th 1 y Th 2 ($\alpha\beta$) restringidos al HLA II según sea su participación inciden sobre uno u otro tipo de respuesta. Los Th1 promueven el tipo 1 de respuesta al secretar interferón γ ($\text{IFN } \gamma$), linfotóxina y factor de necrosis tumoral ($\text{TNF } \alpha$), que inducen la secreción de óxido nítrico (ON) en los macrófagos, aumentando su acción tóxica sobre los gérmenes; por otro lado el $\text{IFN } \gamma$ aumenta la producción de IgG 1 la cual activa la vía clásica del complemento, al ligarse a los receptores Fc de los macrófagos, activa su acción del complemento y su acción fagocitaria. La respuesta del tipo 2 es orquestada por los Th2, que secretan las citoquinas IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13, activando el crecimiento de mastocitos y eosinófilos, cuya participación en procesos antiparasitarios es de importan-

cia capital. En esa tarea son ayudados por anticuerpos IgE e Ig 4 producidos por los linfocitos B al ser inducidos a secretar esos isotipos de Ig.

Ambos Th1 y Th2 responden a señales provenientes de la INNE. Así, los macrófagos inducen los linfocitos Th "inocentes" al secretar IL-12 y $\text{TNF } \alpha$. Los Th "inocentes" se diferencian en Th1. De esta manera, los macrófagos tienen una oferta mayor de Th1 cuando presentan sus antígenos (ellos mismos son CPA). En el momento en que el Th1 se liga al péptido presentado por el HLA II, también lo hace con la CD40 L que, al interactuar con la CD40 del macrófago, lo induce a secretar aún más moléculas de IL-12 y $\text{TNF } \alpha$. Este fenómeno de coestimulación es habitual en la relación entre las células inmunes (los gráficos de los laboratorios están ilustrados con múltiples ejemplos de este tipo).

También hay subpoblaciones de linfocitos T con un TCR constante, no recombinado (ver epígrafes *Gráficos 5, 4, 2*), que forma parte de las células de la INNE. En efecto, sus TCR captan moléculas de la membrana bacteriana sin necesidad de ser presentados por las moléculas del sistema HLA. Al igual que los macrófagos, estas células inducen la diferenciación de los Th "inocentes" a Th1, secretando $\text{IFN } \gamma$ y $\text{TNF } \alpha$. Hasta hace poco tiempo había un vacío de conocimientos en lo que concierne a la presentación de antígenos no peptídicos al SI. En efecto, ¿cómo son presentados al SI los glúcidos y lípidos simples y complejos? y ¿cómo éste puede reaccionar con células citotóxicas o con anticuerpos contra ellos? Hoy se sabe un poco más. Los macrófagos y las células NK secretan citoquinas como el GM-CSF, que inducen, entre otras cosas, a la expresión de las moléculas de membrana, CD1a, a CDe en el macrófago mismo. El origen de estas moléculas es bien ancestral (*Gráfico 3*). Tienen una homología de estructura muy similar a las moléculas de HLA y, como ellas, son capaces de presentar moléculas a los linfocitos T. Su función es la de presentar antígenos no peptídicos, como el ácido micólico de *Mycobacterium tuberculosis* y liposacáridos de las bacterias gramnegativas. Se los presentan a una subpoblación de linfocitos T que no tienen CD4 ni CD8 (T CD4-CD8) o a linfocitos Tc (T8) $\alpha\beta$. Esto termina con secreción de $\text{IFN } \gamma$ y aumento de la actividad citolítica de la respuesta de tipo 1. Finalmente, otro importante ejemplo de colaboración entre la INNE y la IEA es la inducción de los Th "inocentes" por los macrófagos, a diferencia de Th2, al secretar IL-4 y moléculas de la familia de las quimioquinas (C-C, CXC). Otras células secretan IL-4, además de las Th2.

Así, las CPA, en general en contacto con el antígeno, secretan IL-4 para inducir Th2.

En conclusión, ambos sistemas (INNE e IEA) se necesitan mutuamente. La función principal de la INNE es la detección de antígenos que son exclusivos de los agentes infecciosos o exógenos (sustancias químicas, pólenes, etc.). Esta propiedad "ancestral", le permite guiar en la selección de los

antígenos a los linfocitos T y B y a éstos, en la apropiada secreción de las citoquinas y anticuerpos correspondientes. La función principal de la IEA es, a partir de la información recibida por los Th, seleccionar un tipo de respuesta específica de cualquier nueva molécula exógena y conservar las células con una memoria inmunitaria para cada una de ellas. ■