

Capítulo 2

Antígenos

Sergio A. Zambrano Villa

La definición de antígeno, como aquella molécula capaz de inducir una respuesta inmunitaria y reaccionar con los productos de ésta, ha experimentado cambios. Hoy en día se prefiere aplicar el término *inmunógeno* a cualquier sustancia capaz de inducir una respuesta inmunitaria y el de *antígeno* a una molécula que reacciona de manera específica con un anticuerpo o con los receptores de una célula sensibilizada. Por consiguiente, un antígeno difiere de un inmunógeno en que, si bien puede reaccionar de forma específica, no puede por sí mismo inducir una respuesta inmunitaria, la cual requiere otros estímulos. Es decir, todos los inmunógenos son antígenos, pero no todos los antígenos son inmunógenos.

Los linfocitos poseen receptores que enlazan antígenos de manera específica. En el caso del linfocito B, el receptor del antígeno (BCR, *B-cell receptor*) es una inmunoglobulina que se encuentra anclada en la membrana celular (mIg); en el caso de los linfocitos T, se denomina receptor del antígeno de la célula T (TCR, *T-cell receptor*). La parte del antígeno que se une a estos receptores se llama determinante antigénico o *epítipo*. Un antígeno puede ser una proteína, polisacárido, lípido o ácido nucleico, o una combinación de éstos; puede ser soluble o insoluble simple o complejo, y poseer determinantes antigénicos diferentes, como ocurre en las bacterias. Aunque un antígeno puede tener muchos determinantes antigénicos distintos, cada uno constituido por un pequeño número de aminoácidos o residuos de carbohidrato, la respuesta inmunitaria resultante puede dar lugar a la producción de anticuerpos que sólo reconocen unos cuantos de ellos. Asimismo, dos individuos pueden distinguir epítipos totalmente diversos, lo cual sugiere que su reconocimiento se encuentra bajo control genético.

INMUNOGENICIDAD

Las moléculas más inmunógenas son las proteínas, seguidas de los carbohidratos. Por otra parte, los lípidos y los ácidos nucleicos no son inmunógenos, a menos que estén formando complejos con proteínas o polisacáridos. En relación con las proteínas, en principio casi toda la superficie de una proteína globular debe ser capaz de inducir la formación de anticuerpos. Sin embargo, la inmunogenicidad de la proteína en sus diferentes regiones se ve limitada por factores intrínsecos a su estructura y extrínsecos dependientes del individuo reactivo y que varían entre sujetos y entre especies. Los factores intrínsecos guardan relación con las cantidades relativas de anticuerpos dirigidos contra cada sitio o clase de sitios de la molécula; entre éstos figuran los inmunodominantes, que

son aquellos contra los que está dirigida la mayor parte de los anticuerpos y donde participan de manera importante la accesibilidad, naturaleza hidrofílica, flexibilidad y proximidad del sitio reconocido por las células T auxiliares (T_H). Con respecto a los factores del hospedador, la inmunogenicidad es restringida por la tolerancia a lo propio; además, los genes de la respuesta inmunitaria cumplen la muy importante función de regular la capacidad del individuo para formar anticuerpos contra un antígeno específico. Estos genes inmunorreguladores específicos de cada antígeno son parte del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), que codifica los antígenos de transplante. Como se verá más adelante, los mecanismos de acción del MHC consisten en su efecto en las células T_H . Por tanto, la respuesta inmunitaria a los antígenos proteicos es regulada por la célula T. Un hapteno, que por sí mismo no es inmunógeno, se vuelve tal cuando se conjuga con una proteína (acarreador) que induce en un individuo una respuesta de células T. El reconocimiento del acarreador por la célula T_H específica induce la formación de anticuerpos en la célula B; es decir, los factores que contribuyen a la inducción de una buena respuesta de la célula T también coadyuvan a la del linfocito B. En una proteína, la identificación de los determinantes antigénicos que reconocen las células T permite entender mejor la inmunogenicidad y la participación de los genes de la respuesta inmunitaria, y quizá también la forma de aumentar la respuesta de anticuerpos hacia una parte del antígeno biológicamente relevante.

Procesamiento del antígeno

En general, las proteínas son los únicos elementos capaces de generar una respuesta inmunitaria y para lograrlo requieren un procesamiento por las células auxiliares, seguido de la presentación en su membrana, asociadas con moléculas del MHC; lo anterior está determinado por la forma en que el antígeno ingresa en la célula. Así, los antígenos exógenos producidos fuera de la célula del hospedador entran en la célula por endo o fagocitosis, donde la célula presentadora del antígeno (macrófago, células dendríticas y linfocito B) los degrada en fragmentos peptídicos mediante un procesamiento que lleva a cabo por la vía endocítica. Dentro de esta vía se expresan moléculas de clase II, de tal modo que los péptidos que se producen se unen a estas moléculas; este complejo se envía a la superficie celular, donde lo reconocen las células T $CD4^+$. La expresión de las moléculas de clase II del MHC se circunscribe a células que presentan antígeno, por lo que la presentación de antígenos exógenos se limita a estas células.

Por otra parte, el antígeno endógeno se produce dentro de la célula del hospedador, como sucede durante una infección viral o por efecto de una transformación tumoral. Los péptidos se forman por degradación en la vía citosólica, y se enlazan en el retículo endoplásmico a moléculas de clase I del MHC, de donde son transportadas a la membrana celular. En este caso los linfocitos T CD8⁺ reconocen al antígeno vinculado con moléculas de clase I del MHC (fig. 2-1). Como es evidente, el origen del antígeno define el tipo de moléculas del MHC con las que se asocia, lo que restringe su reactividad con células CD4 o CD8.

Las moléculas que no pueden degradarse ni exponerse junto con las moléculas del MHC, se comportan como inmunógenos débiles. En consecuencia, las células que escinden y presentan al antígeno a los linfocitos T, lo harán con mayor presteza si el estado físico de la molécula facilita su fagocitosis. Esto explica porqué los antígenos insolubles que se fagocitan y procesan con más facilidad son mejores inmunógenos que los solubles. Este último paso es indispensable porque los antígenos que no pueden ser degradados, como sucede con las proteínas formadas por D-aminoácidos, se comportan como malos inmunógenos. Además, los antígenos solubles tienden a comportarse como tolerógenos; por ejemplo, la gammaglobulina monomérica que se obtiene por ultracentrifugación de la gammaglobulina total es poco inmunógena cuando se inyecta por vía intravenosa y, a la inversa, induce tolerancia. Por otra parte, la gammaglobulina agregada por el calor es un buen inmunógeno.

Requisitos físicos y biológicos

La inmunogenicidad de una molécula depende de varias características físicas y bioquímicas, específicamente: tamaño, composición química, heterogeneidad y extrañeza. Una molécula suele ser tanto más inmunógena cuanto mayor es su tamaño. Las moléculas con pesos moleculares <5 000 dalton (Da) son poco inmunógenas, aunque se conocen algunas de ~1 000 Da que tienen esta capacidad. Así, los polímeros de lisina no son inmunógenos, pero adquieren inmunogenicidad si se les añade en cada extremo un radical dinitrofenol; por ejemplo, la heptalysina de <1 000 Da adquiere inmunogenicidad en esta forma, a pesar de que en este caso el peso molecular no sea superior a >1 070 Da. Sin embargo, el tamaño de una molécula no es suficiente, ya que polímeros sintéticos de >5 000 Da compuestos de un solo aminoácido o carbohidrato no son buenos inmunógenos. Aun así, si a estas moléculas se les introducen aminoácidos distintos, se vuelven más heterogéneas e inmunógenas. Así, copolímeros de ácido glutámico y lisina que para inducir una respuesta inmunitaria requieren un peso molecular de ~40 000 Da, obtienen mayor inmunogenicidad con la incorporación de aminoácidos aromáticos, como tirosina y fenilalanina; en estas condiciones, moléculas de ~4 000 Da adquieren esta propiedad, lo que indica que la composición es relevante en la inducción de esa respuesta. Los aminoácidos aromáticos proporcionan rigidez a la molécula que los contiene, lo cual incrementa en grado considerable su inmunogenicidad. Este fenómeno es muy evidente en la gelatina, cuya molécula es poco rígida y poco inmunógena, aunque tales características pueden modificarse con la introducción de tirosina (1%) por métodos

químicos. Sin embargo, un exceso del aminoácido aromático (3-10%) tiene el efecto opuesto, ya que los epítomos de la gelatina son encubiertos y los anticuerpos que se forman están dirigidos principalmente hacia la tirosina. Podemos decir que una sustancia es tanto más inmunógena cuanto mayor complejidad química presenta; asimismo, la inmunogenicidad de una molécula depende en gran parte de su rigidez y la localización de sus epítomos.

En un organismo sano, el sistema inmunitario está diseñado para eliminar todo aquello que no le pertenece, es decir, es capaz de distinguir lo propio de lo extraño. Cuanto más extraña es una molécula, tanto mayor es la probabilidad de que sea inmunógena y de que este sistema reaccione contra ella. Es decir, aunque una molécula no sea inmunógena en el hospedador en el que normalmente se encuentra, puede llegar a serlo si introduce en otro diferente. La capacidad de un individuo para distinguir lo propio se adquiere durante el desarrollo ontogénico del sistema inmunitario, cuando los linfocitos inmaduros se exponen a los componentes del organismo; esto permite que los antígenos propios sean reconocidos posteriormente y no se genere una respuesta inmunitaria. Por otra parte, todas aquellas moléculas que el organismo no reconoce como propias durante dicho desarrollo, pueden inducir una respuesta inmunitaria después, cuando se ponen en contacto con el ser vivo, porque se les reconoce como extrañas. Por esta razón un individuo puede recibir transfusiones de sangre compatible, sin responder inmunitariamente. El efecto opuesto se produce cuando el sujeto recibe sangre incompatible, que se reconoce como extraña. Un ejemplo típico es el problema que presentan las mujeres embarazadas cuyos eritrocitos son Rh⁻ y que portan un feto que es Rh⁺ por herencia del padre; en estas condiciones, la madre se inmuniza o se sensibiliza, generalmente durante el parto, por medio de la sangre del producto, con formación de anticuerpos contra los eritrocitos Rh⁺, los cuales, en un embarazo ulterior, pueden causar en el recién nacido una eritroblastosis fetal.

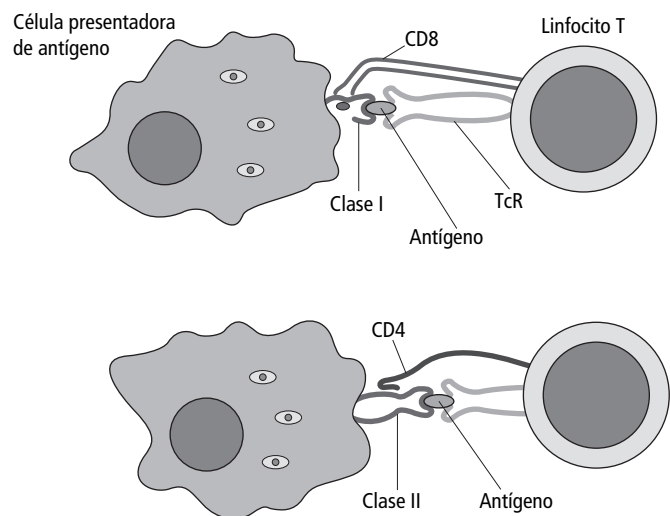


Figura 2-1. Esquema de la presentación del antígeno por la célula accesoria (macrófago, linfocito B o célula dendrítica) asociado a moléculas de clase I o II, a los linfocitos T CD8 o CD4, respectivamente.

Los antígenos que se denominan secuestrados, como el esperma y el cristalino, son aquellos que no se expusieron al sistema inmunitario durante su desarrollo ontogénico y que por ello pueden inducir una respuesta inmunitaria cuando se ponen en contacto con el organismo inmunitariamente maduro. Esto explica también porqué las moléculas son tanto más inmunógenas cuanto mayor es la distancia filogenética entre el antígeno y la especie. Por ejemplo, la albúmina del huevo es más inmunógena en el bovino que lo que es la albúmina de esta última especie en la cabra.

Constitución genética

No hay duda de que el individuo que recibe la dosis inmunizante también participa de manera importante en el resultado final de la respuesta inmunitaria. En este aspecto, la constitución genética del receptor, así como la dosis, la vía y la utilización de las sustancias que potencian la respuesta, conocidas como coadyuvantes, ejercen una gran influencia en el resultado final de la inmunización.

La participación de la constitución genética del individuo en la inmunogenicidad de una molécula fue puesta de relieve primeramente por los estudios de Hugh McDevitt y, más tarde, por los de George Snell, Jean Dausset y Baruj Benacerraf, cuyas contribuciones en este campo les valieron la obtención del Premio Nobel en 1980. Ahora se sabe que los genes que controlan la respuesta inmunitaria se encuentran en una subregión del MHC y que sus productos, junto con el antígeno procesado, son necesarios para el reconocimiento por el linfocito T, paso esencial en la inducción y la intensidad de la respuesta. Por supuesto, también intervienen otros genes, ya que en la respuesta inmunitaria colaboran además otras células, sus receptores y moléculas reguladoras. Un ejemplo que ilustra lo anterior es la capacidad que tiene el polisacárido de tipo III del neumococo de inducir una respuesta inmunitaria en seres humanos y equinos y su incapacidad de hacerlo en el conejo. En el cobayo, la poli-L-lisina es inmunógena en la cepa 2, pero no en la 13. Esta capacidad de respuesta se hereda con carácter autosómico dominante.

Dosis y vía de administración

En un individuo, cada antígeno presenta una dosis y vía de administración que produce una respuesta óptima. Para identificarla es necesario efectuar un estudio con diferentes dosis, en el cual también puede establecerse la vía apropiada. Algunos antígenos en dosis muy altas (mg) o muy bajas (ng) inducen el efecto opuesto, es decir, falta de respuesta, o tolerancia inmunitaria. Para generar una respuesta inmunitaria alta por lo general es necesario administrar el inmunógeno en más de una ocasión en el transcurso de dos o tres semanas. Estos refuerzos expanden las clonas de células T y B específicas del antígeno, un hecho que explica en parte porque la respuesta secundaria y las subsecuentes se producen con dosis menores y logran una mayor respuesta, lo cual es un índice de la memoria inmunitaria. Se desconoce la cantidad de antígeno que participa en la respuesta inmunitaria, aunque se piensa que sólo lo hace una pequeña parte. Se ha observado que después de 48 horas de la inmunización se encuentra <1%

del material inoculado. En este sentido, aquellas sustancias que los fagocitos ingieren, pero que no digieren con facilidad, son retenidas en el organismo por más tiempo, lo que en algunos casos contribuye a aumentar su inmunogenicidad.

La vía de administración del antígeno determina los órganos y poblaciones celulares donde será captado, y la naturaleza de la respuesta inmunitaria resultante. La vía más frecuente de inmunización es la parenteral, le siguen la intramuscular o subcutánea y, en menor proporción, la intradérmica. Las proteínas que se administran por vía subcutánea o intradérmica suelen ser más inmunógenas o inmunogénicas, debido a que estos antígenos son captados en la epidermis por las células de Langerhans, que son células presentadoras de antígeno muy potentes, y eficientes transportadoras de antígenos hacia los ganglios linfáticos regionales, lugar donde se inicia la respuesta inmunitaria. Por otra parte, cuando el antígeno se inyecta por vía intravenosa es llevado inicialmente al bazo; esta vía no es recomendable porque el antígeno se elimina con más rapidez, lo que impide una estimulación prolongada, aunque en algunos casos resulta útil como dosis de refuerzo. Los antígenos administrados por vía gastrointestinal presentan efectos diferentes; frecuentemente inducen una respuesta local de anticuerpos en la lámina propia del intestino. No obstante, cuando se proporcionan después en forma inmunógena, por cualquier otra vía, pueden producir un estado sistémico de tolerancia, que se manifiesta por una respuesta disminuida. En animales de laboratorio se usa con frecuencia la inoculación intraperitoneal.

Participación de los coadyuvantes

Con el propósito de prolongar el estímulo antigénico se utilizan productos denominados adyuvantes o coadyuvantes, que favorecen o aumentan la respuesta inmunitaria. Los coadyuvantes difieren de los acarreadores proteicos en el hecho de que no forman uniones estables con el inmunógeno; además, suelen requerirse durante la inmunización inicial, mientras que los acarreadores se necesitan no sólo para la inducción de la respuesta primaria del hapteno, sino también para réplicas posteriores. Su mecanismo de acción consiste en inducir reacciones inflamatorias locales, que en los macrófagos y células presentadoras de antígeno se asocian con una mayor expresión de coestimuladores, así como la secreción de citoquinas. Algunos de ellos actúan mediante la formación de un depósito de antígeno en los tejidos, que se libera lentamente. El coadyuvante ideal es aquel que es biodegradable y se elimina de los tejidos después de que ha alcanzado su objetivo. Por lo general se administran asociados con el antígeno, pero a veces se inoculan antes o después de éste. Entre los coadyuvantes utilizados figuran aceites naturales y minerales, productos de origen microbiano y compuestos sintéticos.

Los coadyuvantes que contienen aluminio tienen la capacidad de adsorber y precipitar al antígeno soluble, ocasionando en el tejido inoculado la formación de depósitos, desde los cuales se liberan lentamente. La producción de agregados también favorece la fagocitosis, con acumulación de células fagocíticas y linfocitos y la generación de una masa densa, rica en macrófagos, denominada granuloma, donde los macrófagos activados estimulan a los linfocitos T (fig. 2-2). Se han usado geles de hidróxido de aluminio, sulfato de aluminio y

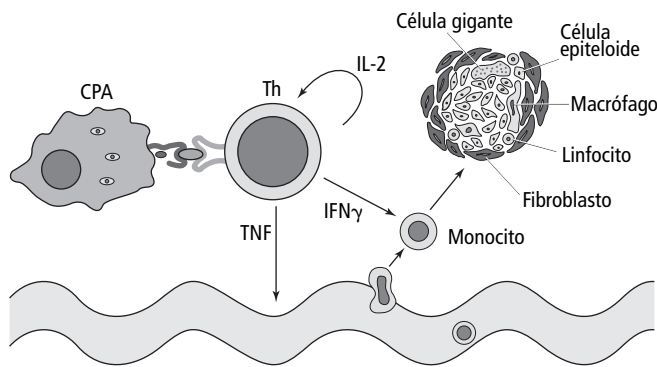


Figura 2-2. Esquema que ilustra la formación de un granuloma que resulta de una respuesta inmunitaria. La reacción hística (tisular) se caracteriza por la presencia de macrófagos alterados (células epitelioides), linfocitos y fibroblastos. Estas células forman masas microscópicas de células mononucleares, que al fusionarse producen células gigantes. Los macrófagos activados pueden causar que las células T liberen linfocinas que favorecen la acumulación de macrófagos.

alumbres de amonio y de potasio. El sulfato de aluminio y potasio al 1% se ha combinado con los toxoides tetánico y diftérico, los cuales se floculan con la adición de hidróxido de sodio.

Los más utilizados en el laboratorio son el coadyuvante completo y el incompleto de Freund; el primero consiste de un aceite mineral, un emulsificador y *Mycobacterium butyricum* en suspensión. Los coadyuvantes que contienen micobacterias o *Bordetella pertussis* estimulan la actividad de los macrófagos y favorecen la digestión del antígeno. El principio activo del coadyuvante completo de Freund, el cual origina el aumento de anticuerpos y la inducción de hipersensibilidad retardada, es un muramilo dipéptido (N-acetil-muramil-L-alanil-D-isoglutamina) que se extrae del peptidoglucano de la pared celular de la micobacteria. El muramilo dipéptido induce fiebre, lisa las plaquetas sanguíneas y puede producir una leucopenia temporal. Sin embargo, se han obtenido derivados purificados que no tienen efectos adversos y que pueden ser de utilidad en vacunas humanas.

Cooperación celular

Los linfocitos reconocen solamente una pequeña porción de la molécula de antígeno. En consecuencia, durante la cooperación celular, los linfocitos T y B identifican epítomos diferentes de la misma molécula; además, el reconocimiento del antígeno por la célula T es diferente del que realiza la célula B. El linfocito B lo efectúa uniendo sus receptores de mIg directamente a la superficie de la proteína nativa, de modo que puede combinarse con aminoácidos que son discontinuos en la estructura primaria pero que se encuentran juntos en la proteína doblada. Por otra parte, el linfocito T responde a secuencias de aminoácidos cortas y contiguas. Estas secuencias a menudo se encuentran ocultas dentro de la estructura natural de la proteína y no pueden ser reconocidas directamente por el TCR, a menos que tenga lugar un desdoblamiento o procesamiento del antígeno proteico a fragmentos peptídicos. Estos fragmentos son reconocidos solamente cuando se encuentran enlazados a una molécula apropiada

del MHC. Es decir, la célula T reconoce a través de su TCR el complejo formado por el péptido (epítomo) y la molécula del MHC (agretopo, del inglés *antigen-restriction-tope*) que proporciona la célula accesoria durante el procesamiento del antígeno (fig. 2-3).

Las moléculas del MHC enlazan ligandos peptídicos como parte integral de su estructura molecular, y son inestables cuando no se unen a ellos. Los péptidos que se enlazan a moléculas de clase I del MHC contienen por lo general entre 8 y 10 aminoácidos. El enlace es estabilizado en sus extremos por contacto entre átomos de los dominios aminoterminales y carboxiterminales y sitios constantes que se encuentran en cada extremo de la cavidad de todas las moléculas de clase I del MHC que enlazan al péptido. Por otra parte, los péptidos que se enlazan a moléculas de clase II del MHC contienen a lo largo, por lo menos, 13 aminoácidos y pueden acomodar hasta 25. A diferencia de las moléculas de clase I, las de clase II no presentan grupos de residuos conservados que enlacen los extremos del péptido, aunque los péptidos se encuentran en una conformación extendida a lo largo de la cavidad. Las cavidades de enlace de las moléculas de clase II son más permisivas que las de clase I del MHC para dar acomodo a diferentes cadenas laterales de aminoácidos. A diferencia del anticuerpo, las moléculas de MHC carecen de especificidad y enlazan a una multiplicidad de péptidos diferentes, aunque es posible que los "agretopos" de estos péptidos compartan ciertas características estructurales que les permitan unirse a la misma molécula del MHC. La capacidad de un péptido para enlazarse a una molécula del MHC es necesaria pero no suficiente para inducir una respuesta inmunitaria y, además, en un individuo el MHC determina la inmunodominancia de los epítomos de un antígeno, lo cual se ha determinado por medio de péptidos sintéticos traslapados de una proteína inmunógena y estudios de correlación de la capacidad de enlazarse al MHC y activar a células T específicas.

Por otra parte, el linfocito B reacciona con los antígenos en solución, sin los cambios vinculados al procesamiento intracelular ni a moléculas del MHC, reconociendo preferentemente

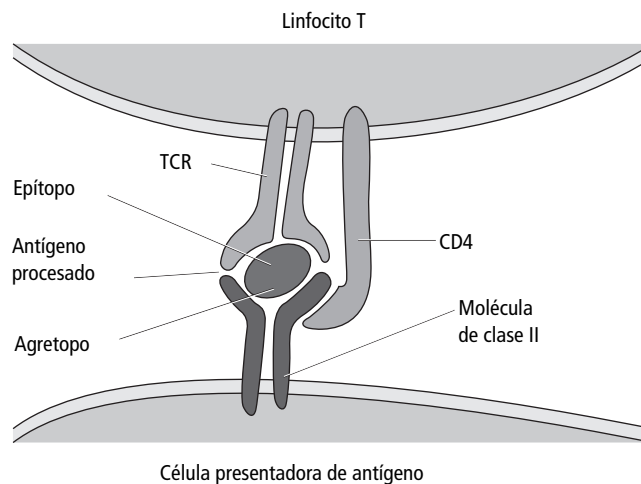


Figura 2-3. Fragmento del antígeno procesado por la célula auxiliar. El esquema indica el epítomo que reconoce el TCR y el "agretopo" vinculado a la molécula de clase II del MHC.

epítopos accesibles ubicados en la superficie de la molécula. En consecuencia, el linfocito B no identifica epítopos ocultos en el interior de una proteína, y para lograrlo ésta debe antes desnaturalizarse. La célula B enlaza al antígeno de manera no covalente, es decir, por fuerzas de unión que funcionan solamente a distancias cortas y, por consiguiente, requieren estrecha proximidad y complementariedad con el receptor globulínico de la célula.

Participación del epítipo

El tamaño del epítipo está determinado por el sitio de combinación del anticuerpo, es decir, por su forma y residuos de aminoácidos que lo conforman. Por supuesto, la dimensión del antígeno influye en cómo reacciona con el sitio de combinación de la globulina; es decir, antígenos pequeños que se doblan en una estructura compacta encajan dentro del sitio, mientras que antígenos grandes, como las proteínas globulares, ocupan un área más extensa en la superficie del anticuerpo. Por medio de oligopéptidos sintéticos de tamaños diferentes, como oligolisina, se ha estimado el tamaño del sitio de combinación del anticuerpo; estos estudios sugieren que la máxima longitud puede acomodar de seis a ocho residuos, lo que corresponde a lo observado en el caso de los oligosacáridos, donde en un sistema dextrano-antidextrano son suficientes de cuatro a seis residuos de glucosa.

El contacto del antígeno con la célula B específica desencadena la señal transmembrana del BCR. Ésta a su vez, induce en la célula B los sucesos iniciales de activación, entre ellos una mayor expresión de las moléculas de clase II del MHC, y en el ciclo celular la salida del estado de reposo G_0 hacia la fase G_1 ; si el estímulo antigénico es fuerte, se produce la proliferación. Después del enlace del antígeno, las moléculas del BCR se introducen, ocasionando en los endosomas o lisosomas la captura del antígeno y su degradación. En el caso de antígenos proteicos, los péptidos derivados se unen a la cavidad de las moléculas de clase II, después de lo cual el complejo es llevado a la superficie celular, donde sirve de estímulo para las células T_H específicas.

Antígenos dependientes e independientes de timo

La naturaleza del antígeno define la vía de activación del linfocito B. Un grupo de antígenos requiere el contacto directo con células T_H y no simplemente la exposición a sus productos, es decir, citocinas; éstos se denominan antígenos dependientes del timo. Otro grupo causa la activación de las células B sin el requisito de T_H , por lo que se llaman antígenos independientes de timo (TI). Los TI pueden actuar de dos formas: los llamados de tipo 1 o TI-1 son activadores policlonales de B, como los mitógenos, donde no interviene la especificidad antigénica, y los de tipo 2 o TI-2 contienen unidades repetidas de polisacáridos o proteínas poliméricas, como la flagelina bacteriana, que dan lugar a un entrecruzamiento de las mIg presentes sobre la superficie del linfocito B. La respuesta de los antígenos TI se caracteriza por ser débil, sin la formación de células de memoria y con producción casi exclusiva

de IgM, ya que el cambio (*switch*) de la globulina de superficie requiere la participación de células T, esenciales en la afinidad y el cambio de isotipo.

ANTIGENICIDAD

El concepto de antigenicidad, como se comentó antes, guarda relación con la capacidad de un antígeno de ligarse específicamente a una molécula de anticuerpo o el TCR. Cualquier tipo de molécula biológica, incluso metabolitos intermedios simples, azúcares, lípidos, hormonas y macromoléculas (como carbohidratos complejos, fosfolípidos, ácidos nucleicos y proteínas) puede funcionar como antígeno.

Especificidad inmunitaria

El concepto de antigenicidad está estrechamente relacionado con la especificidad de la respuesta inmunitaria. Uno de los precursores en el estudio de la especificidad inmunitaria fue Karl Landsteiner, quien utilizó en sus trabajos sustancias orgánicas simples o haptenos, de peso molecular reducido (<1 000 Da), que tienen la propiedad de reaccionar con los anticuerpos, pero que no son capaces de inducir una respuesta inmunitaria. Sin embargo, si estos haptenos se conjugan químicamente en proteínas inmunógenas o acarreadores (fig. 2-4), pueden inducir la formación de anticuerpos. Los anticuerpos resultantes reconocen específicamente al hapteno, al acarreador y al complejo hapteno-acarreador; en estos casos, el hapteno se comporta como un determinante inmunodominante. Con estos complejos hapteno-acarreador, Landsteiner estudió la respuesta dirigida exclusivamente contra el hapteno, para lo cual usó el mismo, pero combinado con un acarreador diferente. Sus investigaciones demostraron los efectos que ejercen los cambios sutiles en la molécula del antígeno en la capacidad de ésta para reaccionar con el anticuerpo. Así, cuando a un grupo aminobenceno se le introduce un radical carboxilo en diferentes posiciones, los anticuerpos resultantes presentan especificidades diferentes; el anticuerpo dirigido contra el aminobenceno no reacciona con las variantes *o*, *m* o *p*-aminobenzoico; de igual manera, un anticuerpo dirigido contra cualquiera de estas variantes reaccionará exclusivamente con la molécula que lo indujo (cuadro 2-1). El reconocimiento del antígeno por su anticuerpo presenta una gran especificidad que le permite distinguir entre polímeros compuestos por D o L-aminoácidos; otro ejemplo de la estereoespecificidad es la capacidad que tiene un anticuerpo para distinguir entre la alfa y la beta-glucopiranososa y de discriminar la celobiosa de la lactosa, cuyas moléculas difieren sólo en la posición del hidroxilo en el carbono 4 (fig. 2-5). Por último, un ejemplo que resalta el tema que nos ocupa es, sin duda, la especificidad de los anticuerpos contra grupos sanguíneos. El epítipo inmunodominante del grupo sanguíneo A es una N-acetilgalactosamina, mientras que el del grupo B es la galactosa (fig. 2-6). Los anticuerpos anti-A no reaccionan con los eritrocitos del grupo B y viceversa, lo que indica que son capaces de distinguir la presencia o ausencia de radicales amino y acetilo presentes en la misma estructura.

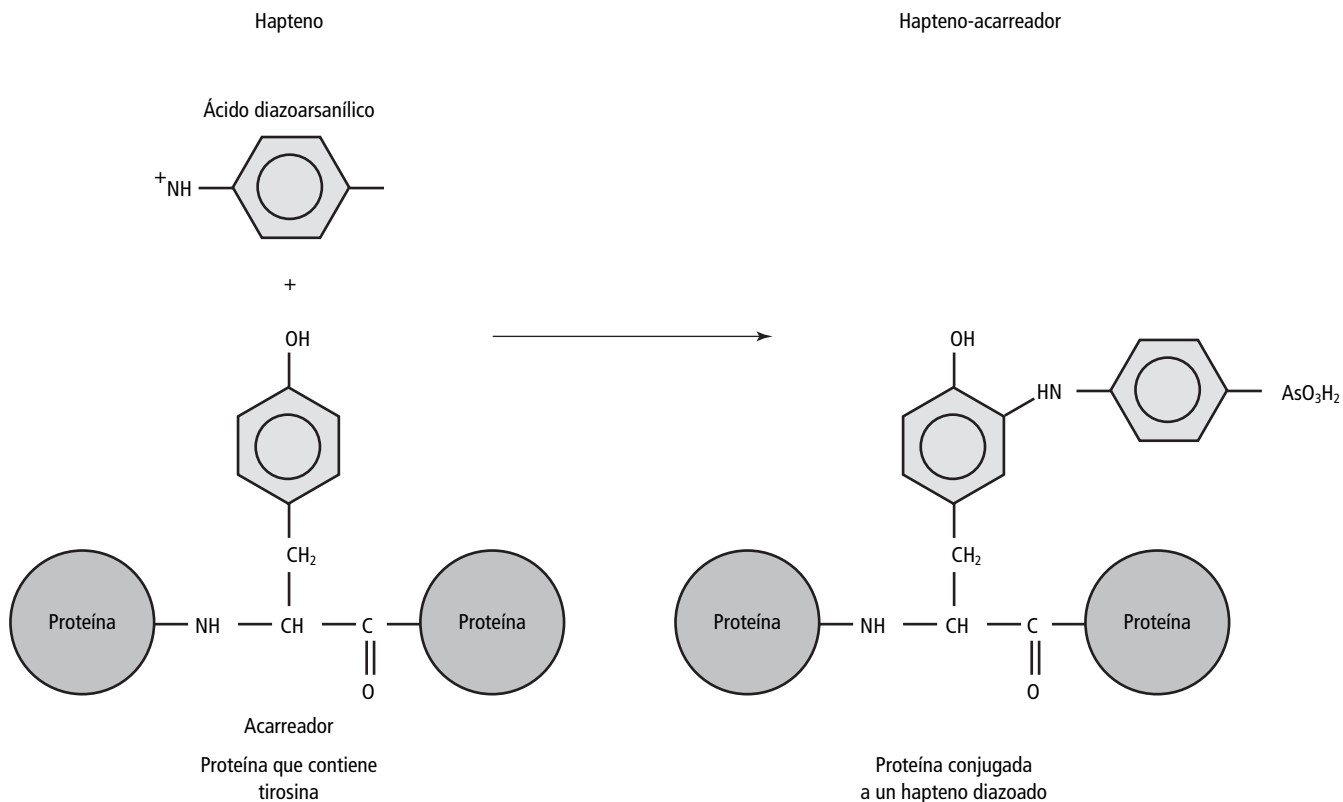


Figura 2-4. Representación de la combinación de un hapteno diazoado con un acarreador proteico con tirosina que produce un conjugado hapteno-acarreador.

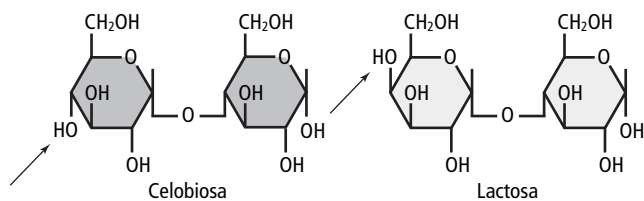


Figura 2-5. Fórmulas químicas de la celobiosa (glucosa 1 → 4 glucosa) y lactosa (galactosa 1 → 4 glucosa), que se distinguen solamente por la posición de un hidroxilo en el carbono 4 de las moléculas (glucosa o galactosa).

Reacciones cruzadas

Las observaciones de Landsteiner también pusieron de manifiesto la reacción cruzada de un anticuerpo con antígenos

que presentan pequeñas diferencias en su estructura química (cuadro 2-2), o bien con moléculas distintas que contienen epítomos idénticos. En el primer caso, la afinidad del anticuerpo suele ser menor que la que se observa con el epítomo original. Algunos microorganismos de la flora intestinal presentan epítomos similares a los de grupos sanguíneos, por lo que inducen la formación de anticuerpos en aquellos individuos que carecen de los determinantes antigénicos respectivos; los anticuerpos inducidos de esta manera reaccionan en forma cruzada con epítomos similares ubicados en los eritrocitos. También algunas bacterias, como *Streptococcus pyogenes*, contienen en su pared celular una proteína, denominada M, que induce en los individuos infectados la formación de anticuerpos que reaccionan en forma cruzada con proteínas del hospedador presentes en miocardio y músculo estriado, y causan trastornos cardíacos y renales. Un ejemplo interesante de las reacciones

Cuadro 2-1. Especificidad de la reacción hapteno-anticuerpo: efecto del cambio de posición del carboxilo en un grupo aminobenceno

Antisero contra	Reacción con:			
	Aminobenceno	<i>o</i> -aminobenzoico	<i>m</i> -aminobenzoico	<i>p</i> -aminobenzoico
Aminobenceno	+++	0	0	0
Ácido <i>o</i> -aminobenzoico	-	+++	-	-
Ácido <i>m</i> -aminobenzoico	-	-	++++	-
Ácido <i>p</i> -aminobenzoico	-	-	-	-

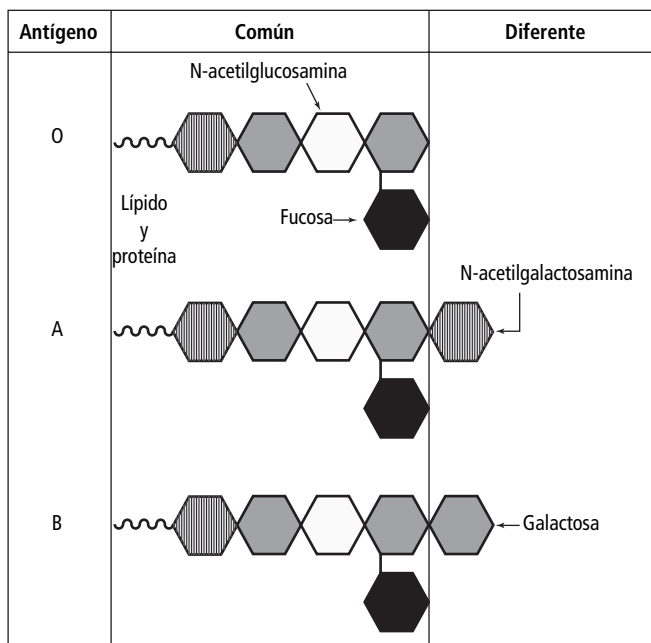


Figura 2-6. Representación esquemática de los grupos sanguíneos O, A y B, donde se muestra la estructura de los azúcares terminales que los caracterizan.

crucadas es la vacunación contra la viruela, en la cual el uso de un virus que causa esta enfermedad en las vacas (*Poxvirus officinale*) protege contra el virus de la viruela humana (*Poxvirus variolae*), gracias a la similitud antigénica entre ambos virus.

Accesibilidad de los epítomos

Un estudio muy ingenioso de Michael Sela, del Instituto Rehovot de Israel, acerca de la especificidad de la respuesta inmunitaria, pone de relieve la importancia de la accesibilidad de los epítomos en su reactividad con el anticuerpo. El autor usó dos copolímeros sintetizados con los mismos aminoácidos; el esqueleto constituido por poli-L-lisina presenta variaciones solamente en la posición de la tirosina y el ácido glutámico. En el primero (fig. 2-7A) se agrega una ramificación de poli-D,L-alanina que contiene en su extremo terminal residuos de L-tirosina y L-glutámico, mientras que en el segundo (fig. 2-7B) se añaden directamente sobre el esqueleto los residuos de L-tirosina y L-glutámico, por encima de

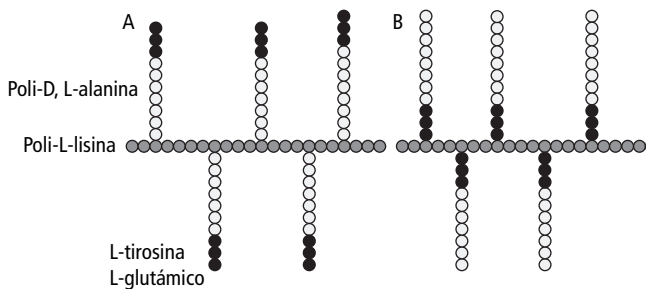


Figura 2-7. Esquema de dos copolímeros que se diferencian por el ordenamiento de sus aminoácidos en las cadenas laterales. A, esquema de la poli-L-lisina con cadenas laterales de poli-D,L-alanina en cuyos extremos libres se unen residuos de L-tirosina y L-glutámico; B, en este copolímero los residuos de L-tirosina y L-glutámico se encuentran unidos al esqueleto de poli-L-lisina y sobre ellos se encuentran adheridas las cadenas de poli-D,L-alanina.

los cuales se une la poli-D,L-alanina, que queda en el exterior de la molécula. Los anticuerpos dirigidos contra el primer copolímero reconocen principalmente a la L-tirosina y al L-glutámico situados en los extremos de aquél. Sin embargo, este anticuerpo no reacciona con el segundo a pesar de tener la misma composición, ya que la L-tirosina y el L-glutámico no están accesibles al anticuerpo. Este dato sugiere que la superficie de una molécula proteica globular es potencialmente antigénica, es decir, que las regiones que sobresalen son reconocidas como epítomos, cuyos residuos suelen ser hidrófilos.

Los epítomos que reconoce un anticuerpo pueden ser secuenciales o conformacionales, estos últimos constituidos por segmentos y no por secuencias, que se unen por el doblamiento conformacional o estructura terciaria del antígeno. Lo anterior también se refleja en la afinidad que presentan los anticuerpos producidos por inmunización con la proteína nativa o natural, los cuales presentan mayor afinidad hacia la conformación nativa que hacia otras conformaciones de fragmentos o moléculas desnaturalizadas. Asimismo, los anticuerpos formados contra fragmentos o moléculas desnaturalizadas suelen tener una mayor afinidad para estas formas que para la conformación natural. De esta manera, si se inmuniza un conejo con ribonucleasa nativa que contiene cuatro puentes disulfuro que le dan una conformación definida a su cadena polipeptídica (fig. 2-8), se obtienen anticuerpos que no reaccionan con la ribonucleasa que ha sido oxidada con ácido per fórmico y ha perdido su conformación original. Del mismo modo, los anticuerpos contra la forma oxidada no reconocen a la molécula nativa.

Cuadro 2-2. Reacciones cruzadas entre epítomos estructuralmente relacionados

Antisuero contra	Reacción con:			
	Aminobenceno	p-cloroaminobenceno	p-toluidina	p-nitroaminobenceno
Aminobenceno	++++	+	+±	+
p-Cloroaminobenceno	+++	++	++	+±
p-Toluidina	+±	++	++	+
p-Nitroaminobenceno	+	++	+±	+

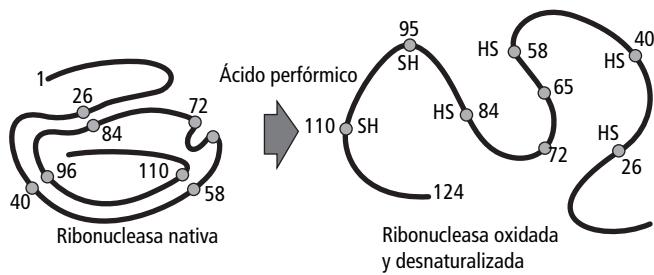


Figura 2-8. Esquema de la enzima ribonucleasa en su forma nativa, con sus cuatro puentes disulfuro que le dan una conformación definida. La oxidación causa una desnaturalización de la molécula que ocasiona la pérdida de su conformación.

Se ha encontrado que la mayor parte de la superficie de una proteína globular es potencialmente antigénica, por lo cual debe mostrar una gran cantidad de sitios con esta propiedad, aunque sólo unos cuantos son reconocidos por el sistema inmunitario. En este aspecto existen variaciones tanto entre especies como entre individuos de una misma especie.

ANTÍGENOS RECOMBINANTES

El diseño de vacunas ha experimentado cambios importantes, gracias a los adelantos logrados en biología molecular en los últimos años; en este campo, por medio de la metodología del ADN recombinante ahora es posible obtener antígenos específicos. En esta forma, un gen que codifica una proteína inmunógena puede ser aislado y clonado en bacterias, levaduras o células de mamífero. La primera vacuna diseñada de esta manera ha sido la vacuna contra la hepatitis B, en la que se aisló y clonó en levaduras el gen que codifica al antígeno principal de superficie (HbsAg). Esta vacuna induce la formación de anticuerpos protectores. Debido a que las vacunas así obtenidas son procesadas como antígenos exógenos, no tienden a inducir la activación de células T restringidas a moléculas de la clase I.

Hoy en día se prefiere usar como vectores a bacterias o virus atenuados que se replican dentro del hospedador y, al mismo tiempo, expresan el producto del gen del patógeno, que constituye un inmunógeno potente. Con este propósito se han usado el virus de la viruela vacuna, cepas atenuadas de *Salmonella* sp y el BCG de *Mycobacterium bovis*. El virus vacuno favorece tanto la respuesta humoral como la celular, en tanto que *Salmonella* sp, que infecta células de la mucosa del tubo intestinal, propicia la producción de IgA secretora.

USO DE VACUNAS DE ADN COMO FUENTE DEL ANTÍGENO AL QUE CODIFICA

Un método de inmunización que experimentalmente ha mostrado gran eficacia es la vacunación con un plásmido que contiene un ADN que codifica un antígeno viral. El ADN es captado por las células musculares y el antígeno proteico codificado expresa e induce una respuesta humoral y celular. Se desconoce si el ADN se integra dentro del

ADN del cromosoma o se mantiene durante largo tiempo en forma de episoma. Es probable que las células dendríticas cercanas al sitio de inoculación también capten al ADN y expresen el antígeno viral, particularmente porque estas células y no las musculares manifiestan moléculas coestimulantes. Este tipo de vacunas induce inmunidad humoral y celular, y además genera la expresión del antígeno durante largo tiempo, lo que seguramente redundará en una buena respuesta anamnésica. Sin embargo, se desconoce qué células precisamente capturan al ADN y qué consecuencias pueda acarrear una estimulación prolongada del antígeno codificado. No obstante, la facilidad con que se manipula el cADN para expresar muchos antígenos diversos, y la capacidad de coexpresar otras proteínas que pueden aumentar la respuesta inmunitaria, como citocinas y coestimuladores, vuelven muy promisorio esta técnica.

MITÓGENOS

Los inmunógenos estimulan a células T y B que los reconocen a través de receptores específicos. Por otra parte, existe un grupo de sustancias llamadas mitógenos, que activan policlonalmente a los linfocitos T y B. Se conocen dos grupos principales de mitógenos, las lectinas y los lipopolisacáridos de bacterias gramnegativas. Las lectinas son proteínas que se enlazan a la porción glucídica de las glucoproteínas, mientras que los lipopolisacáridos reaccionan con la membrana plasmática por medio de un lípido. La reacción de las lectinas o lipopolisacáridos con los linfocitos causa aglutinación o agregación, así como activación y proliferación celular. Entre las lectinas más conocidas destacan la concanavalina A y la fitohemaglutina, que se obtienen de leguminosas del género *Phaseolus*, y que actúan selectivamente en linfocitos T, induciendo activación y proliferación celular. Otra es la fitolaca, que a diferencia de las anteriores ejerce su efecto en linfocitos tanto T como B. Por otra parte, los lipopolisacáridos bacterianos, en concentraciones bajas, favorecen la producción específica de anticuerpos, pero en cifras altas actúan como activadores policlonales, estimulando la proliferación y diferenciación de un gran número de células B, independientemente de su especificidad antigénica.

SUPERANTÍGENOS

En fecha reciente se ha descrito un grupo de antígenos, denominados superantígenos, que tienen la peculiaridad de estimular selectivamente a los linfocitos T. Se han identificado superantígenos exógenos de origen bacteriano, y endógenos codificados por algunos virus que infectan células de mamíferos. Ambos son dependientes de linfocitos T y no requieren un procesamiento fagocítico, ya que en lugar de encajarse en el TCR donde se insertan típicamente las moléculas inmunitarias, se enlazan con la región externa del dominio V_{β} del TCR y simultáneamente a la cadena α de las moléculas DP, DQ o DR del MHC (véase capítulo Complejo mayor de histocompatibilidad) ubicadas en las células presentadoras de antígeno (fig. 2-9). De esta manera, los superantígenos pueden entrecruzar a la célula T con una molécula de clase

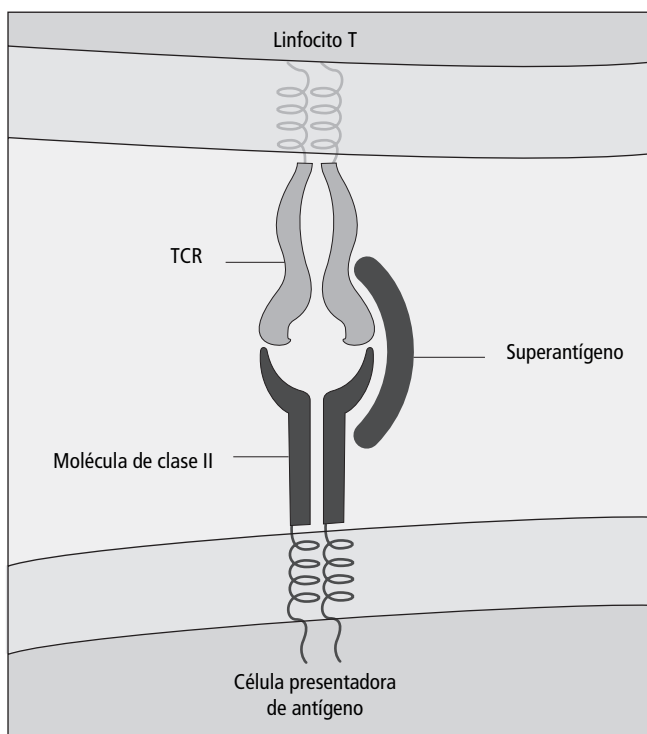


Figura 2-9. Esquema de un superantígeno que se une por la región externa del TCR a través de la cadena V_{β} y un dominio de la molécula de clase II del MHC presente en la célula auxiliar.

II de la célula accesoria, aun cuando el TCR no reconozca a un antígeno peptídico enlazado, y activar así al linfocito. Los superantígenos reaccionan con muy diversas moléculas del TCR cuya estructura periférica es similar, de manera que estimulan esta forma a múltiples células T que aumentan una respuesta protectora tanto de células T como B. Así, estas moléculas al combinarse con el TCR V_{β} y el dominio α -1 de la molécula DR, pueden inducir la proliferación de 10% de células T $CD4^{+}$ y originar así la liberación de grandes cantidades de citocinas.

Staphylococcus aureus produce una enterotoxina y una toxina que ocasiona un síndrome de choque tóxico, la segunda causa choque y muerte en el "síndrome de los tampones", ocasionado por la liberación de grandes cantidades de citocinas. Estas toxinas activan a un gran número de células T_{H1} al entrecruzar el TCR con moléculas de clase II del MHC que expresa la célula accesoria presentadora de antígeno.

Un retrovirus murino que produce tumores mamarios se integra al ADN de algunas cepas de ratones; las células infectadas expresan en su membrana las proteínas virales llamadas Mlc (del inglés *minor lymphocyte-stimulating*). Los antígenos virales producidos por las células de una cepa son capaces de activar los linfocitos T de otra cepa que expresen en su TCR ciertos dominios V_{β} . Se trata de una forma de reacción de linfocitos mixta que no es ocasionada por disparidad en el MHC, sino por la presencia de genes retrovirales distintos, que se heredan de manera estable en cepas homocigotas.

Bibliografía

- Abrahmsen L. Superantigen engineering. *Curr Opin Struc Biol.* 1995;5:64.
- Berzofsky JA, Designing peptide vaccines to broaden recognition and enhance potency. *Ann NY Acad Sci.* 1995;754:161.
- Brodsky FM, Guagliaardi LE. The cell biology of antigen processing and presentation. *Annu Rev Immunol.* 1991;9:707.
- Donnelly JJ, Ulmer JB, Shiver JW, Liu MA. DNA vaccines. *Annu Rev Immunol.* 1997;15:617.
- Germain RN, Margulies DH. The biochemistry and cell biology of antigen processing and presentation. *Annu Rev Immunol.* 1993;11:403.
- Greenspan MS. Epitopes, paratopes, an other topes: Do immunologists know what they are talking about? *Bull Inst Pasteur.* 1992;90:267.
- Herman A, Kappler JW, Marrack P, Pullen AM. Superantigens: Mechanism of T-cell stimulation and role in immune responses. *Annu Rev Immunol.* 1991;9:745.
- Monaco JJ. Antigen presentation: Not so groovy after all. *Curr Biol.* 1992;2:433.
- Rothbard JB, Geftter ML. Interactions between immunogenic peptides and MHC proteins. *Annu Rev Immunol.* 1991;9:527.
- Sela M. Antigenicity: Some molecular aspects. *Science.* 1969;166:1365.
- Stern LJ, Wiley DC. Antigenic peptide binding by class I and class II histocompatibility proteins. *Structure.* 1994;2:245.