

Pequeña célula T citotóxica preparándose para matar una gran célula tumoral.  
(De D. Zagury, J. Bernard, N. Thierness, M. Feldman y G. Berke, *Eur. J. Immunol.* 5:818-822, 1975.)

- Base celular de la inmunidad
- Propiedades funcionales de los anticuerpos
- La estructura fina de los anticuerpos
- La generación de la diversidad de los anticuerpos
- Los receptores de las células T y sus subclases
- Las moléculas MHC y la presentación del antígeno a las células T
- Las células T citotóxicas
- Células T colaboradoras y activación de las células T
- Selección del repertorio de células T

Nuestro sistema inmunitario nos salva de una muerte segura por infección. Un vertebrado que nazca con un sistema inmunitario gravemente defectuoso morirá pronto, a menos que se adopten medidas extraordinarias para aislarlo de un ejército de agentes infecciosos –bacterias, virus, hongos y otros parásitos. Todos los vertebrados tienen un sistema inmunitario, mientras que los invertebrados presentan sistemas de defensa más primitivos, que a menudo se basan principalmente en células fagocíticas. Estas células (principalmente macrófagos y neutrófilos) desempeñan también un papel importante en la defensa de los vertebrados contra la infección, aunque sólo constituyen una parte de una estrategia de defensa mucho más compleja y sofisticada.

La *inmunología*, el estudio del sistema inmunitario, nació a partir de la observación habitual de que las personas que se recuperan de ciertas infecciones son “inmunes” a la enfermedad a partir de entonces; es decir, rara vez sufren de nuevo la misma enfermedad. La inmunidad es altamente específica: un individuo que se recupera del sarampión queda protegido contra el virus del sarampión, pero no contra otros virus comunes como el de las paperas o el de la varicela. Esta especificidad es una característica fundamental de la respuesta inmunitaria.

Muchas de las respuestas del sistema inmunitario inician la destrucción y eliminación de los organismos invasores y de todas las moléculas tóxicas producidas por ellos. Estas reacciones inmunitarias son destructivas, por lo que es importante que únicamente se produzcan contra moléculas que son extrañas al organismo huésped y no frente a moléculas del propio huésped. Esta capacidad de distinguir entre moléculas *extrañas* y moléculas *propias* es otro rasgo fundamental del sistema inmunitario. En ocasiones el sistema inmunitario no distingue de una forma adecuada y reacciona de forma destructiva contra las propias moléculas del huésped; estas *enfermedades autoinmunitarias* pueden ser fatales.

El sistema inmunitario evolucionó en el sentido de proteger a los vertebrados contra la infección por parte de microorganismos y parásitos mayores, pero la mayor parte de lo que sabemos sobre la inmunidad procede de estudios sobre las respuestas inmunitarias en los animales de laboratorio ante inyecciones de sustancias no infecciosas, tales como proteínas y polisacáridos extraños. Casi cualquier macromolécula, siempre que sea extraña al receptor, puede inducir una respuesta inmunitaria; las sustancias capaces de desencadenar una respuesta inmunitaria reciben el nombre de **antígeno** (generador de *anticuerpo*). Es importante subrayar que el sistema inmunitario puede distinguir antígenos muy similares entre sí –por ejemplo, dos proteínas que se diferencien en un solo aminoácido, o dos isómeros ópticos de la misma molécula.

Existen dos clases principales de respuestas inmunitarias: (1) respuestas por anticuerpos y (2) respuestas inmunitarias mediadas por células. Las **respuestas por anticuerpos** implican la producción de anticuerpos, que son proteínas que reciben el nombre de *inmunoglobulinas*. Los anticuerpos circulan por la sangre y penetran en otros fluidos corporales donde se unen específicamente al antígeno extraño que los ha inducido. La unión del anticuerpo inactiva a virus y toxinas bacterianas (como la del tétanos o la botulínica) bloqueando su capacidad de unirse a los receptores de las células del huésped. La unión de los anticuerpos también marca a los microorganismos invasores para su destrucción, facilitando su ingestión por una célula fagocítica o mediante la activación de un sistema de proteínas sanguíneas, denominadas colectivamente *complemento*, que destruirá a los invasores.

La **respuesta mediada por células**, la segunda clase de respuestas inmunitarias, implica la producción de células especializadas que reaccionan con los antígenos extraños situados sobre la superficie de otras células del huésped. La célula reactiva, por ejemplo, puede matar a las células del huésped infectadas por virus, que presenten antígenos víricos en su superficie, eliminando así la célula infectada antes de que el virus se haya replicado. En otros casos, la célula reactiva segrega señales químicas que activan a los macrófagos para que destruyan a los microorganismos invasores.

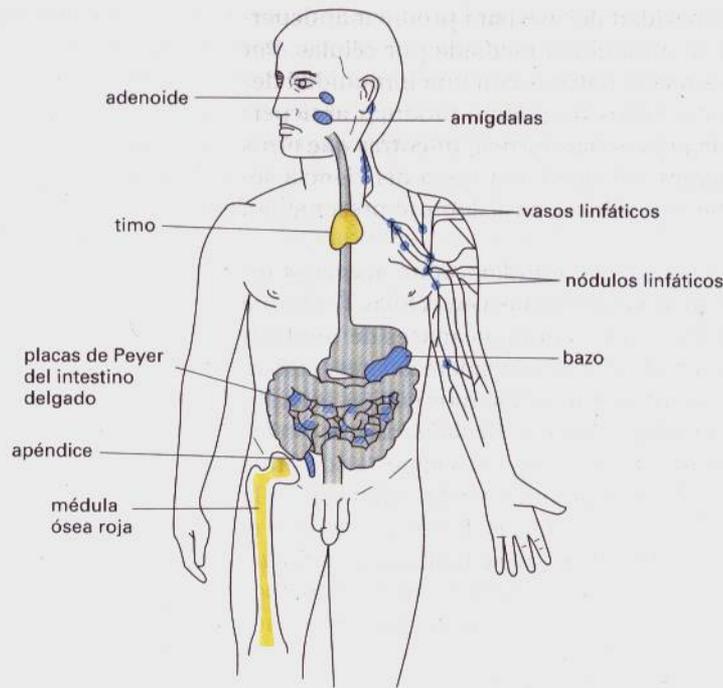
El principal reto de la inmunología ha sido entender cómo el sistema inmunitario reconoce específicamente y reacciona de forma agresiva frente a un número casi ilimitado de macromoléculas extrañas distintas, evitando al mismo tiempo reaccionar con las decenas de miles de macromoléculas propias diferentes producidas por las células del huésped. Empezaremos nuestra discusión sobre el sistema inmunitario considerando las células que son las responsables principales de los dos tipos de inmunidad. A continuación consideraremos las características estructurales y funcionales de los anticuerpos que posibilitan a las células reconocer y destruir los antígenos extracelulares. Después de discutir cómo se genera la diversidad de los anticuerpos, consideraremos las características especiales de las respuestas inmunitarias mediadas por células, que son cruciales en la defensa contra los microorganismos intracelulares.

## Base celular de la inmunidad

### El sistema inmunitario humano está compuesto por billones de linfocitos<sup>1</sup>

Las células responsables de la especificidad inmunitaria pertenecen a una clase de glóbulos blancos conocido como **linfocitos**. Se encuentran en grandes cantidades en la sangre, en la linfa (el líquido incoloro de los vasos linfáticos que conectan los nódulos linfáticos del cuerpo) y en **órganos linfoides** especializados como el timo, los nódulos linfáticos, el bazo y el apéndice (Figura 23-1).

En el cuerpo humano existen  $\sim 2 \times 10^{12}$  linfocitos, lo cual hace que el sistema inmunitario sea comparable, en masa celular, al hígado o al cerebro. Aunque los linfocitos fueron reconocidos hace tiempo como uno de los principales componentes de la sangre, su papel central en la inmunidad no fue demostrado hasta finales de los años 1950. La prueba se obtuvo a partir de experimentos en los que se irradiaba intensamente a ratas o ratones para matar la mayor parte de sus glóbulos blancos, incluidos los linfocitos. En estas condiciones estos animales son incapaces de producir respuestas inmunitarias, por lo que es posible transferirles varios tipos de células y determinar cuáles son las que corrigen la deficiencia. Únicamente los linfocitos restauraron la respuesta inmunitaria de los animales irradiados (Figura 23-2). Como se recuperaban tanto las respuestas con anticuerpos como las respuestas mediadas por células, estos experimentos establecieron que los linfocitos son los responsables de ambos tipos de respuestas inmunitarias. En el momento en que fueron realizados estos experimentos, los



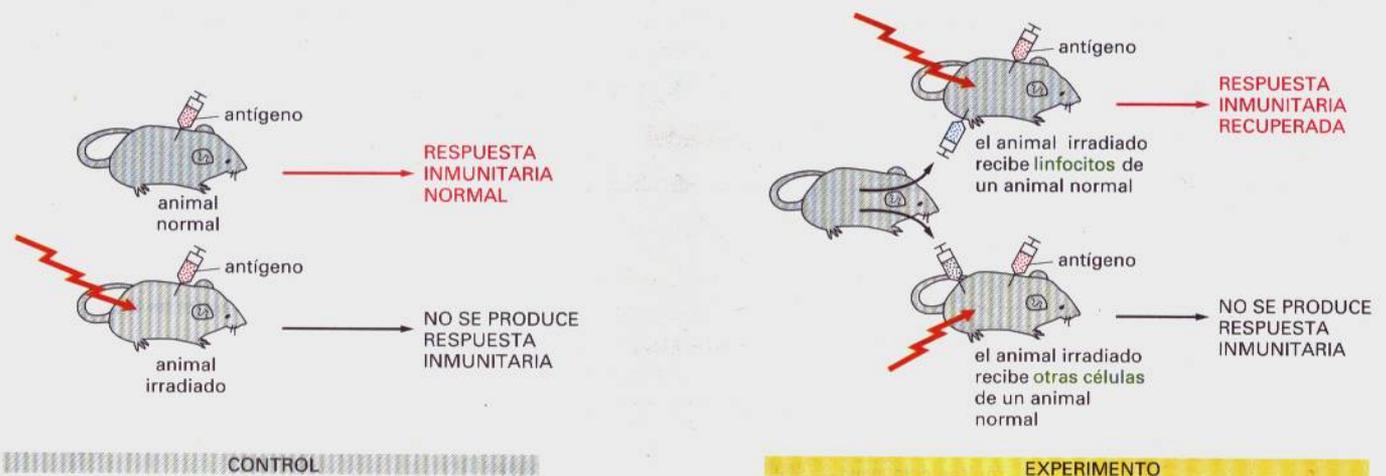
**Figura 23-1 Los órganos linfoides humanos.** Los linfocitos se desarrollan en el timo y en la médula ósea (en amarillo), los cuales se denominan por este motivo *órganos linfoides primarios (o centrales)*. Los linfocitos recién formados migran desde estos órganos primarios hacia los *órganos linfoides secundarios (o periféricos)* (en azul), donde pueden reaccionar con el antígeno. En el dibujo sólo se muestran algunos de los órganos linfoides secundarios; por ejemplo, muchos linfocitos se encuentran en la piel y en los pulmones.

linfocitos se encontraban entre las células de los vertebrados menos conocidas; ahora se encuentran entre las células que conocemos mejor.

### Los linfocitos B producen las respuestas humorales con anticuerpos; los linfocitos T producen las respuestas mediadas por células<sup>2</sup>

Durante los años 1960 se descubrió que los dos tipos principales de respuestas inmunitarias están mediadas por dos clases diferentes de linfocitos: las **células T** que se originan en el *timo* y son responsables de la inmunidad mediada por células, y las **células B**, que en los adultos se originan en la *médula ósea* y en el feto en el hígado, que producen los anticuerpos. Esta dicotomía del sistema linfoide fue demostrada inicialmente en animales con inmunodeficiencias inducidas experimentalmente. Se encontró que la extirpación del timo a un animal recién nacido perjudica de forma pronunciada las respuestas mediadas por células pero ejerce mucho menos efecto sobre las respuestas con anticuerpos. En las aves también fue posible demostrar el efecto contrario debido a que las células B se desarrollan en un órgano linfoide discreto asociado al intestino, la *bolsa de Fabricio*, que es exclusivo de las aves. La extirpación de la bolsa de Fabricio en el

**Figura 23-2 El experimento clásico que demuestra que los linfocitos son los responsables del reconocimiento y de la respuesta ante los antígenos extraños.** Una característica importante de todos estos experimentos de transferencia de células es que las células se transfieren entre animales de la misma *cepa consanguínea*. Los miembros de una cepa consanguínea son genéticamente idénticos. Si se transfieren los linfocitos a un animal genéticamente diferente que ha sido irradiado, estos linfocitos reaccionan contra los antígenos "extraños" del huésped y pueden matar al animal.

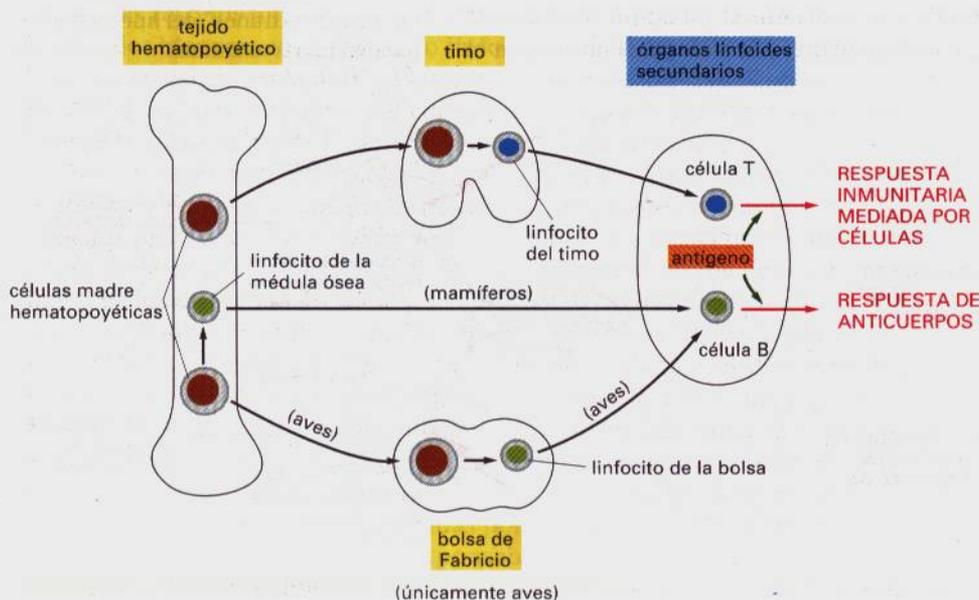


momento de la eclosión disminuye la capacidad del ave para producir anticuerpos pero ejerce muy poco efecto sobre la inmunidad mediada por células. Por otra parte, estudios realizados con niños recién nacidos con una inmunidad deficiente demostraron que algunos de estos niños no podían producir anticuerpos pero tenían una inmunidad mediada por células normal, mientras que otros presentaban la deficiencia opuesta; además, los que tenían una deficiencia selectiva en el tipo de respuestas mediadas por células, casi siempre presentaban anomalías en el timo.

Uno de los rasgos más sorprendentes de estos estudios sobre animales inmunodeficientes estribaba en que los individuos deficientes en células T (porque su timo había sido extirpado o era anormal) no sólo eran incapaces de producir respuestas inmunitarias mediadas por células sino que además presentaban unas respuestas de anticuerpos algo deficientes. Ahora sabemos cuál es la explicación. Existen dos tipos principales de células T —células T colaboradoras y células T citotóxicas. Las células T colaboradoras intensifican las respuestas de otros glóbulos blancos, y algunas de dichas células T colaboran con las células B en la producción de las respuestas por anticuerpos. Las células T citotóxicas, por el contrario, destruyen las células infectadas; debido a que se hallan *directamente* implicadas en la defensa contra la infección, a diferencia de las células T colaboradoras, las células T citotóxicas (junto con las células B) en ocasiones se denominan *células efectoras*.

### Los linfocitos se desarrollan en los órganos linfoides primarios y reaccionan con los antígenos extraños en los órganos linfoides secundarios<sup>3</sup>

Los linfocitos se desarrollan a partir de *células madre hematopoyéticas pluripotenciales*, que dan lugar a todas las células sanguíneas, incluidos los eritrocitos, los leucocitos y las plaquetas. Estas células madre, que han sido estudiadas en el Capítulo 22, están localizadas primariamente en los tejidos *hematopoyéticos* —el hígado en fetos y la médula ósea en adultos. Las células T se desarrollan en el timo a partir de células precursoras procedentes de los tejidos hematopoyéticos, por vía sanguínea. En los mamíferos las células B se desarrollan a partir de células madre en los propios tejidos hematopoyéticos; sin embargo, en las aves las células B se desarrollan en la bolsa de Fabricio a partir de células precursoras que han migrado hasta allí a partir de los tejidos hematopoyéticos, a través de la sangre. El timo, los tejidos hematopoyéticos y la bolsa de Fabricio se conocen como **órganos lin-**



**Figura 23-3 El desarrollo de las células T y B.** Los órganos linfoides primarios, donde se desarrollan los linfocitos a partir de células precursoras, están reseñados en los recuadros amarillos.

**foides (centrales) primarios**, debido a que son centros donde se desarrollan los linfocitos a partir de las células precursoras (Figura 23-1).

Tal como veremos más adelante, la mayoría de los linfocitos mueren poco después de haberse formado en un órgano linfoide primario. Otros, sin embargo, maduran y migran vía sanguínea hacia los **órganos linfoides (periféricos) secundarios** –principalmente, los nódulos linfáticos, el bazo y los nódulos linfáticos asociados al epitelio del tracto gastrointestinal, tracto respiratorio y la piel (véase Figura 23-1). En estos órganos linfoides secundarios es principalmente donde las células T y las células B reaccionan con los antígenos extraños (Figura 23-3).

El grueso de la migración de los linfocitos desde el timo y la bolsa de Fabricio se produce en las primeras etapas del desarrollo, por lo que la extirpación de estos órganos en los animales *adultos* tiene relativamente poco efecto sobre las respuestas inmunitarias; ésta es la razón de que su papel en la inmunidad tardara tanto tiempo en ser descubierto. Por el contrario, la médula ósea de los mamíferos continúa generando grandes cantidades de nuevas células B ( $\sim 5 \times 10^7$ /día en un ratón) durante toda la vida.

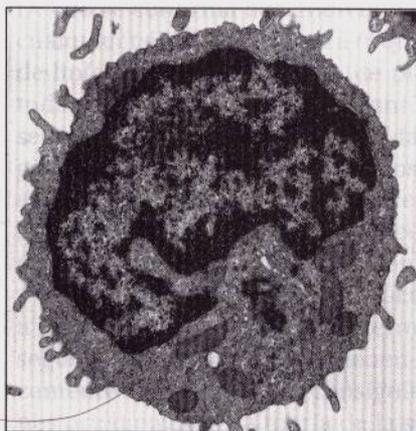
### Los marcadores de superficie celular permiten distinguir y separar las células T de las células B<sup>2,4</sup>

Las células T y las células B sólo son morfológicamente diferenciables después de haber sido estimuladas por un antígeno. Las células T y B no estimuladas (“en reposo”) tienen un aspecto muy similar, incluso al microscopio electrónico: ambas son pequeñas, sólo algo mayores que los eritrocitos, y tienen un núcleo voluminoso (Figura 23-4A). Ambas se activan por antígenos, pasando entonces a proliferar y a diferenciarse. Las células B activadas se convierten en células secretoras de anticuerpos, las más maduras de las cuales son las *células plasmáticas*, que presentan un retículo endoplasmático rugoso bien desarrollado (Figura 23-4B). En cambio, las células T activadas presentan muy poco retículo endoplasmático y no segregan anticuerpos, aunque segregan una gran variedad de mediadores denominados *linfoquinas*, *interleuquinas* o *citoquinas* (Figura 23-4C).

Ambos tipos de linfocitos, T y B, se presentan en todos los órganos linfoides secundarios, por lo que ha sido necesario encontrar sistemas para distinguir y separar ambos tipos celulares y sus numerosos subtipos, con el fin de estudiar sus propiedades individuales. Afortunadamente, existen numerosas diferencias en las glucoproteínas de la membrana plasmática de los diferentes tipos de linfocitos que se pueden utilizar como marcadores distintivos. Por ejemplo, los an-

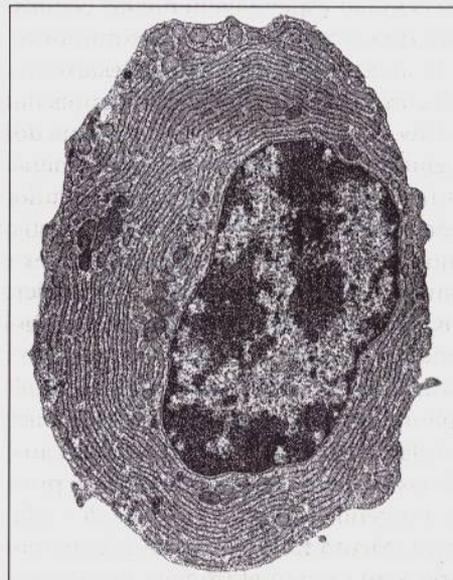
**Figura 23-4** Electronmicrográficas de linfocitos en reposo y activados. El

linfocito en reposo en (A) puede ser una célula T o una célula B pues resulta difícil distinguir las morfológicamente hasta que hayan sido activadas. La célula B activada (una célula plasmática) en (B) está repleta de un extenso retículo endoplasmático (ER) rugoso, que se halla distendido, con moléculas de anticuerpo. La célula T activada en (C) presenta relativamente poco ER rugoso pero está llena de ribosomas libres. Obsérvese que las tres células se muestran al mismo aumento. (A, por cortesía de Dorothy Zucker-Franklin; B, por cortesía de Carlo Grossi; A y B, de D. Zucker-Franklin et al., *Atlas of Blood Cells: Function and Pathology*, 2nd ed. Milan, Italia: Edi. Ermes, 1988; C, por cortesía de Stefanello de Petris.)



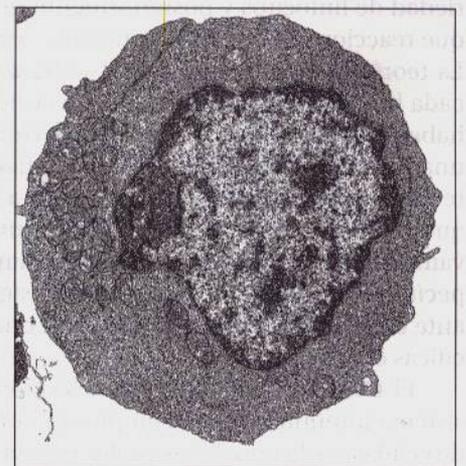
(A) célula T o B en reposo

1 μm



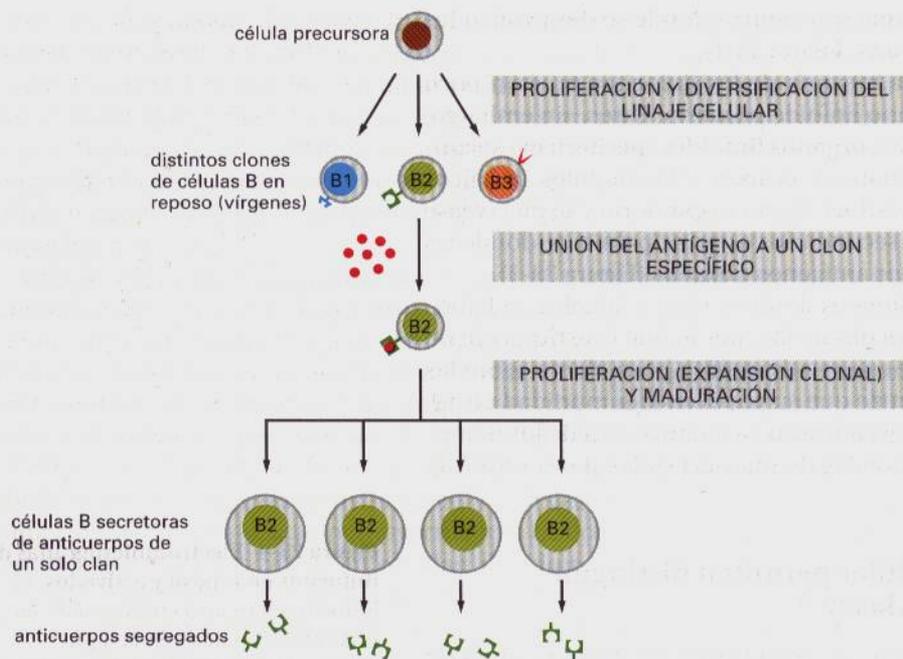
(B) célula B activa (célula plasmática)

1 μm



(C) célula T activa

1 μm



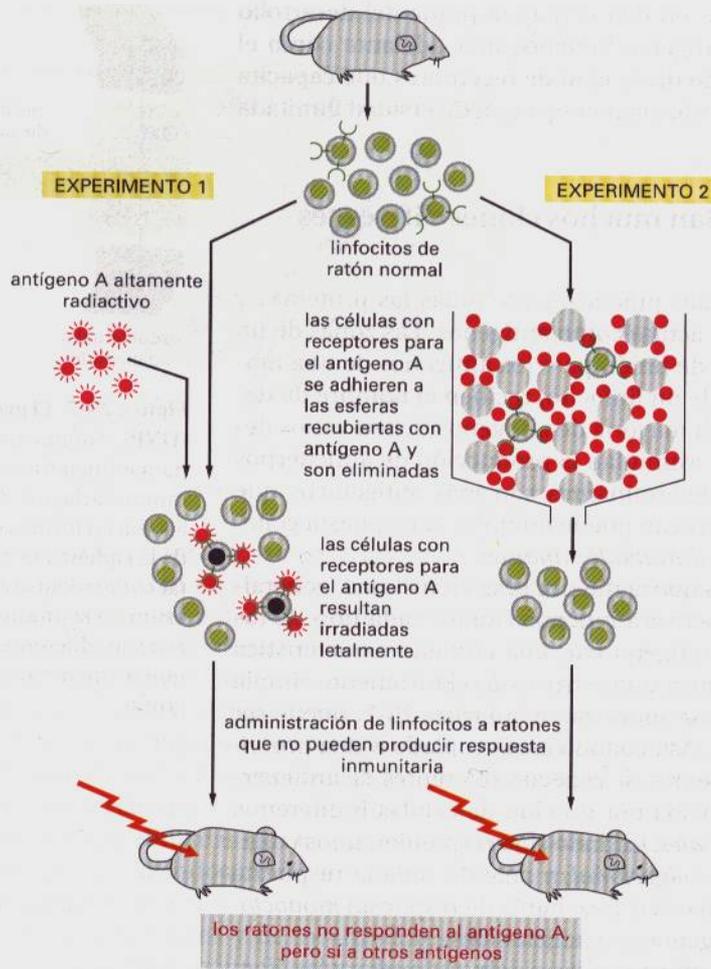
**Figura 23-5 La teoría de la selección clonal.** Un antígeno activa únicamente aquellos clones de linfocitos que ya están destinados a responder ante él. Una célula destinada a responder ante un antígeno concreto expresa receptores de superficie celular que reconocen específicamente al antígeno y todas las células del clon expresan el mismo receptor. Se cree que el sistema inmunitario consta de millones de clones diferentes de linfocitos, cientos de los cuales pueden ser activados por un antígeno particular (véase más adelante). Aunque sólo se muestran las células B, las células T actúan de forma similar.

anticuerpos que reaccionan con la *proteína Thy-1*, la cual se encuentra en las células T del ratón pero no en las B, son ampliamente utilizados para eliminar o purificar células T de una población mixta de linfocitos. Así mismo, los anticuerpos contra las *proteínas CD4* y *CD8*, que veremos más adelante, se utilizan muy a menudo para distinguir y separar células T colaboradoras de células T citotóxicas, respectivamente, tanto en el ratón como en el hombre.

### El sistema inmunitario actúa mediante la selección clonal<sup>5</sup>

El rasgo más notable del sistema inmunitario estriba en que puede responder a millones de antígenos extraños diferentes de una manera altamente específica –por ejemplo, mediante la producción de anticuerpos que reaccionan específicamente con el antígeno que ha inducido su formación. ¿Cómo puede el sistema inmunitario producir semejante diversidad de anticuerpos específicos? La respuesta empezó a dilucidarse en los años 1950 con la **teoría de la selección clonal**. Según dicha teoría cada animal genera primero aleatoriamente una gran variedad de linfocitos y posteriormente se seleccionan específicamente las células que reaccionan contra los antígenos extraños que el animal ha ido encontrando. La teoría de la selección clonal se basa en la idea de que durante el desarrollo, cada linfocito queda destinado a reaccionar con un antígeno concreto, antes de haber sido expuesto a este antígeno. Una célula expresa este destino en forma de unas proteínas receptoras de la superficie celular que se adaptan específicamente al antígeno. La unión del antígeno a los receptores activa la célula haciendo que proliferen y maduren. Por consiguiente, un antígeno extraño estimula selectivamente a aquellas células que expresan unos receptores complementarios y específicos del antígeno y que por consiguiente ya están destinadas a responder ante el antígeno. Esto es lo que hace que las respuestas inmunitarias sean específicas del antígeno.

El término “clonal” de “la selección clonal” deriva del postulado de que el sistema inmunitario está compuesto por millones de familias diferentes, o *clones* de células, cada uno de los cuales consta de células T o B descendientes de un ancestro común. Cada célula ancestral ya está destinada a producir un tipo de proteína receptora determinada, específica del antígeno, y todas las células de cada clon tienen la misma especificidad antigénica (Figura 23-5). Así, según la teoría de la selección clonal, el sistema inmunitario actúa según el principio de “lo ya confeccionado” y no de “lo hecho a medida”.



**Figura 23-6 Dos tipos de experimentos que apoyan la teoría de selección clonal.** Para una mayor simplicidad, los receptores de la superficie celular se han dibujado únicamente en los linfocitos que están destinados a responder al antígeno A; de hecho, sin embargo, todos las células T y B tienen receptores específicos para el antígeno en su superficie. Los experimentos se han realizado principalmente con células B, puesto que las células T reconocen un antígeno sólo cuando éste se ha unido a la superficie de una célula huésped, como veremos más adelante.

Existen muchas pruebas que apoyan los principios de la teoría de selección clonal. Por ejemplo, cuando los linfocitos de un animal que no ha sido inmunizado se incuban en un tubo de ensayo con un antígeno cualquiera de una serie de antígenos marcados radiactivamente –por ejemplo A, B, C y D– sólo una proporción muy reducida de los linfocitos (<0,01%) se unen a cada uno de los antígenos, lo cual sugiere que sólo unas cuantas células pueden responder a A, B, C o D. Ello se confirma haciendo que el antígeno A sea tan altamente radiactivo que cualquier célula que se una a él quede irradiada letalmente; la población restante de linfocitos ya no es capaz de producir respuesta inmunitaria ante A, aunque todavía puede responder a los antígenos B, C o D. El mismo efecto se puede conseguir con una columna de afinidad de cuentas de vidrio recubiertas con el antígeno A y haciendo pasar luego los linfocitos a través de la columna. Las células con receptores para A quedan retenidas en la columna mientras que las otras células la atraviesan; por ello, las células que salen de la columna ya no pueden responder ante A, pero responden normalmente a otros antígenos (Figura 23-6).

Estos dos experimentos indican primero que los linfocitos están destinados a responder a un antígeno determinado antes de haber estado expuestos a él, y segundo, que los linfocitos tienen receptores en su superficie que unen específicamente el antígeno. Por consiguiente quedan confirmadas dos de las predicciones principales de la teoría de la selección clonal. Aunque la mayoría de experimentos de este tipo se han realizado en células B y en respuestas de anticuerpos, otros experimentos indican que las respuestas mediadas por células T también se desarrollan por la selección clonal.

En la actualidad sabemos que los receptores específicos de antígenos tanto para las células T como para las células B se hallan codificados por genes que se ensamblan a partir de series de segmentos génicos mediante una única forma de

recombinación genética que tiene lugar en una etapa temprana del desarrollo celular, antes de encontrarse con el antígeno. Veremos más adelante cómo el proceso de ensamblaje genera la enorme diversidad de receptores que capacita al sistema inmunitario para responder prácticamente a una diversidad ilimitada de antígenos.

## La mayoría de antígenos estimulan muchos clones diferentes de linfocitos<sup>6</sup>

La mayoría de macromoléculas, incluidas prácticamente todas las proteínas y gran parte de los polisacáridos, pueden actuar como antígenos. Las zonas de un antígeno que se combinan con el lugar de unión para los antígenos de una molécula de anticuerpo o con el receptor de un linfocito, reciben el nombre de **determinantes antigénicos** (o *epítomos*). La mayoría de antígenos tienen varios determinantes antigénicos diferentes que estimulan la producción de anticuerpos o la respuesta de células T. Algunos determinantes son más antigénicos que otros, de modo que la reacción que provocan puede dominar la respuesta general; se dice que tales determinantes son *inmunodominantes*.

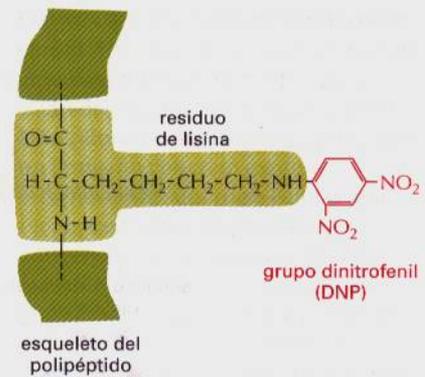
Como cabría esperar de un sistema que actúe por selección clonal, generalmente cada determinante antigénico activará muchos clones, cada uno de los cuales produce un lugar de unión al antígeno con una afinidad característica para el determinante. Por ejemplo, incluso una estructura relativamente simple como el grupo *dinitrofenol (DNP)*, que se muestra en la Figura 23-7, puede ser "mirada" de muchas maneras distintas. Así, cuando está acoplado a una proteína, suele estimular la producción de cientos de especies diferentes de anticuerpos anti-DNP, cada una de ellas producida por un clon de células B diferente. Tales respuestas se denominan *policlonales*. Cuando sólo responden unos cuantos clones, se dice que la respuesta es *oligoclonal*; y cuando toda la respuesta está producida por un solo clon de células B o T, se habla de respuesta *monoclonal*. Las respuestas a la mayoría de antígenos son policlonales.

Incluso los antígenos que activan muchos clones sólo estimulan una fracción muy reducida de la población linfocitaria total. Para asegurar que estos pocos linfocitos sean expuestos al antígeno, los antígenos son recogidos por *células presentadoras de antígeno* especializadas en los órganos linfoides secundarios, a través de los cuales circulan continuamente linfocitos T y B. Los antígenos que entran a través del intestino son atrapados por los tejidos linfoides asociados al intestino; los que penetran a través de la piel o el tracto respiratorio son retenidos localmente y/o transportados vía linfática hasta los nódulos linfáticos locales; y los que entran en la sangre son filtrados en el bazo.

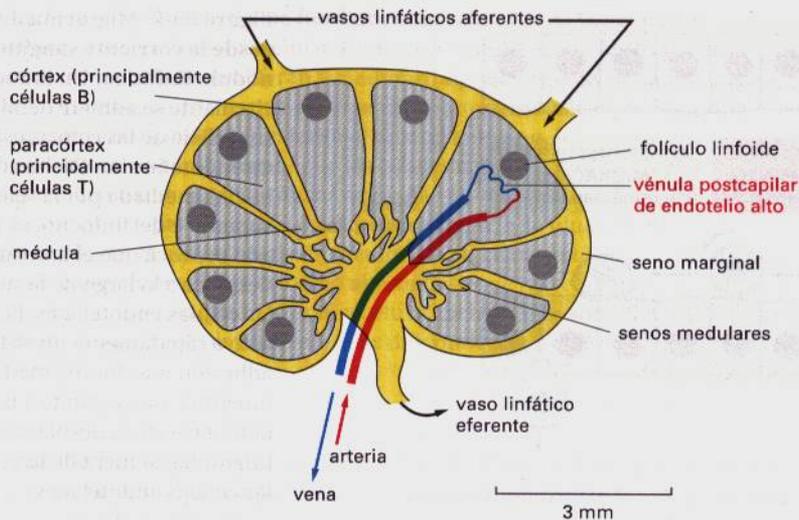
## La mayoría de los linfocitos recirculan continuamente<sup>7</sup>

La mayoría de las células T y B recirculan continuamente entre la sangre y los órganos linfoides secundarios. En un nódulo linfático, por ejemplo, los linfocitos abandonan la circulación pasando con dificultad entre células endoteliales especializadas; tras filtrarse a través del nódulo se acumulan en pequeños vasos linfáticos que abandonan el nódulo y conectan con otros vasos linfáticos, que a su vez atraviesan otros nódulos linfáticos situados más lejos. Circulando a través de vasos cada vez mayores, los linfocitos entran finalmente en el vaso linfático principal (el *conducto torácico*), que los devuelve a la circulación sanguínea. Esta recirculación continua no sólo asegura que los linfocitos apropiados entren en contacto con el antígeno sino que también asegura que los linfocitos apropiados se encuentren entre sí: veremos que las interacciones entre linfocitos determinados constituyen una parte crucial de la mayoría de las respuestas inmunitarias.

La recirculación de linfocitos depende de interacciones específicas entre la superficie celular del linfocito y la superficie de células endoteliales especializadas que recubren el interior de pequeñas venas en los órganos linfoides secundarios; debido al extraordinario tamaño de sus células endoteliales, dichas venas



**Figura 23-7 El grupo dinitrofenil (DNP).** Aunque es demasiado reducido para inducir una respuesta inmunitaria por sí mismo, cuando se acopla en forma covalente a una lisina de la cadena lateral de una proteína, tal como se ilustra aquí, el DNP estimula la producción de muchas especies diferentes de anticuerpos, que se unen específicamente a dicho grupo.



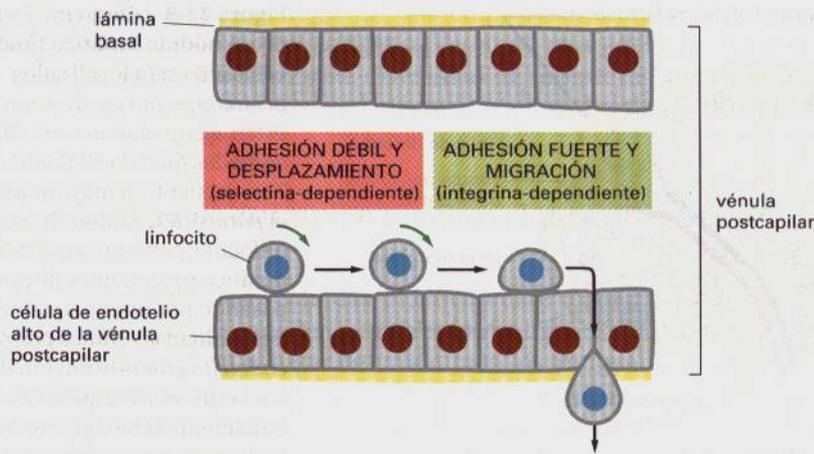
**Figura 23-8** Dibujo muy simplificado de un nódulo linfático humano. Las células B están localizadas principalmente en el córtex, donde están agrupadas en estructuras llamadas *folículos linfoides*. Las células T se encuentran mayoritariamente en el *paracórtex*. Ambos tipos de linfocitos penetran en el nódulo linfático procedentes de la sangre, pasando por unas pequeñas venas denominadas *vénulas postcapilares de endotelio grande* y migran después hacia sus áreas respectivas. Finalmente tanto las células T como las B migran a los senos medulares y abandonan el nódulo pasando por el vaso linfático eferente. Este vaso desemboca en la corriente sanguínea, permitiendo que los linfocitos empiecen otro ciclo de circulación a través de un órgano linfoide secundario.

se denominan *vénulas postcapilares de endotelio grande* (Figura 23-8). Muchos tipos celulares de la sangre entran en contacto con dichas células endoteliales grandes, pero sólo los linfocitos se adhieren y migran entonces fuera de la corriente sanguínea. Distintas subpoblaciones de linfocitos migran a través de distintos tejidos linfoides: por ejemplo, mientras que la mayoría de linfocitos migran hacia los nódulos linfáticos, algunos migran preferentemente hacia las placas de Peyer en el intestino delgado y constituyen, efectivamente, un subsistema intestinal específico de linfocitos especializados en la respuesta frente a antígenos que penetran en el cuerpo desde el intestino.

Dichas migraciones están dirigidas por los diferentes **receptores buscadores** en los linfocitos y por los ligandos de dichos receptores (en muchos casos denominados *localizadores de receptores*, "counterreceptors") en las células endoteliales. Ambos tipos de receptores y de localizadores de receptores se han identificado mediante anticuerpos monoclonales que se unen bien a la superficie de distintos linfocitos o bien a la de células endoteliales altas especializadas e inhiben la capacidad de los linfocitos para unirse a las células endoteliales en cortes de tejido de órganos linfoides secundarios así como para recircular *in vivo*. Por ejemplo, la migración de los linfocitos hacia los nódulos linfáticos depende de una proteína de adhesión celular denominada *selectina E*, que pertenece a la familia de selectinas de las lectinas de superficie celular, como se vio en el Capítulo 10. Este receptor buscador, que se encuentra en la mayoría de linfocitos, se une de forma específica a los grupos azúcar de un detector de receptores altamente glucosilado, similar a la mucina que se expresa únicamente en la superficie de las células del endotelio alto que revisten las vénulas postcapilares de los nódulos linfáticos (véase Figura 23-8). La unión de la selectina E induce a los linfocitos a adherirse débilmente a las células endoteliales y a deslizarse lentamente por su superficie. El deslizamiento prosigue hasta que se activa otro sistema más fuerte de adhesión. Dicha adhesión fuerte, que está facilitada por un miembro de la familia de las moléculas de adhesión celular *integrinas* de la superficie de los linfocitos (como vimos en el Capítulo 19), permite a los linfocitos detener su deslizamiento y desplazarse al exterior del vaso sanguíneo hacia el nódulo linfático (Figura 23-9).

Se cree que otros receptores buscadores de linfocitos son los responsables de la segregación de las células T y B en áreas diferentes en el nódulo linfático (véase Figura 23-8). Una vez han sido activados por el antígeno, la mayoría de los linfocitos pierden muchos de sus receptores buscadores iniciales y adquieren otros nuevos: en lugar de migrar a través de los órganos linfoides migran a través de tejidos no linfoides hacia los centros de inflamación. La migración de los linfocitos activados y de otros glóbulos blancos de la sangre hacia los centros de inflamación está facilitada ampliamente por diversas combinaciones de selectinas e integrinas (tal como hemos visto en el Capítulo 10).

Los antígenos extraños que entran en el nódulo linfático son expuestos en la superficie de *células presentadoras de antígeno* especializadas: un tipo de estas células (*células dendríticas con interdigitaciones*) presenta los antígenos a las células T en el área paracortical; se cree que otro tipo de células (*células dendríticas foliculares*) están implicadas en la activación de las células B de memoria (se discutirá más adelante) en el centro activado (denominado un *centro germinativo*) de los folículos linfoides.

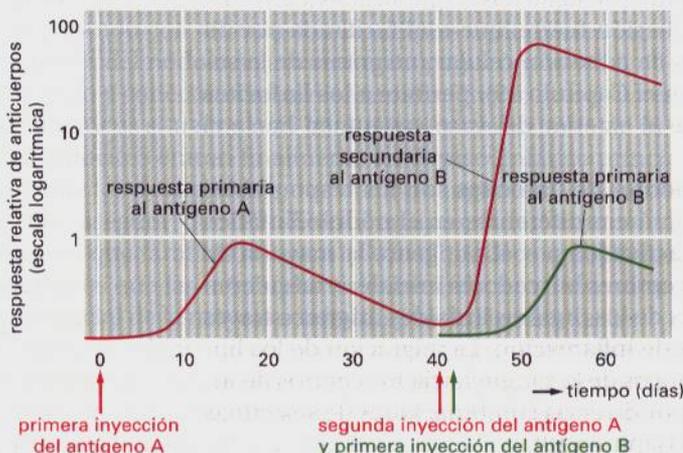


**Figura 23-9 Migración de un linfocito desde la corriente sanguínea hacia un nódulo linfático.** Un linfocito circulante se adhiere débilmente a la superficie de las células especializadas de endotelio alto. Dicha adhesión inicial, mediada por la selectina E de la superficie del linfocito, es tan débil que provoca que el linfocito se desplace a lo largo de la superficie de las células endoteliales. El linfocito activa rápidamente un sistema de adhesión más fuerte, mediado por una integrina, que permite a la célula detenerse en su desplazamiento y migrar hacia fuera de la vénula entre las células endoteliales.

## La memoria inmunológica se debe a la expansión clonal y a la maduración de los linfocitos<sup>8</sup>

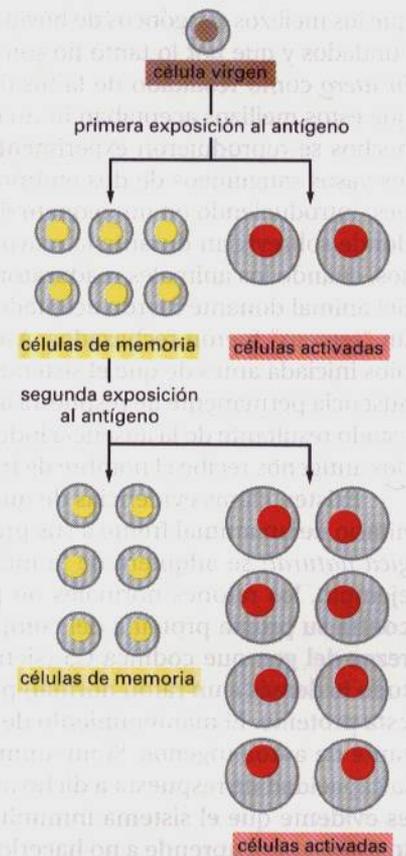
Como el sistema nervioso, el sistema inmunitario tiene la capacidad de recordar. Por ello, tras estar expuestos a determinados virus desarrollamos una inmunidad para toda la vida frente a muchas enfermedades víricas comunes, lo cual constituye la inmunización. Este mismo fenómeno se puede poner fácilmente de manifiesto en animales experimentales. Si a un animal se le inocula el antígeno A, su respuesta inmunitaria (ya sea por anticuerpos o mediada por células) aparecerá al cabo de un período de retraso de varios días, aumentando de manera rápida y exponencial para luego volver a disminuir, aunque de forma más gradual. Éste es el curso característico de una **respuesta inmunitaria primaria**, que se produce en la primera exposición de un animal a un antígeno. Si se dejan transcurrir algunas semanas o meses, o incluso años, y de nuevo se inyecta al animal el antígeno A, se producirá una **respuesta inmunitaria secundaria**, muy distinta de la respuesta primaria: el período de retraso es más breve y la respuesta es mayor y su duración más prolongada. Estas diferencias indican que el animal ha “recordado” su primera exposición al antígeno A. Si al animal se le administra un antígeno distinto (por ejemplo el antígeno B), en lugar de una segunda inyección de antígeno A, típicamente la respuesta será de tipo primario y no secundario; por consiguiente, la respuesta secundaria refleja una **memoria inmunológica** específica del antígeno A (Figura 23-10).

La teoría de la selección clonal proporciona una trama conceptual útil para comprender la base celular de la memoria inmunológica. En un animal adulto, las células T y B de los órganos linfoides secundarios son una mezcla de células



**Figura 23-10 Respuestas primaria y secundaria de anticuerpos.** La respuesta secundaria es más rápida e intensa que la respuesta primaria y es específica para A, lo cual indica que el sistema inmunitario ha “recordado” específicamente el haberse encontrado anteriormente con el antígeno A. Si se miden las respuestas mediadas por células T y no las respuestas de anticuerpos de células B, se obtienen pruebas de memoria inmunológica del mismo tipo.

**Figura 23-11 Modelo de los fundamentos celulares de la memoria inmunitaria.** Cuando las células T o B vírgenes son estimuladas por su antígeno específico, proliferan y maduran; algunas se activan dando lugar a una respuesta, mientras que otras se transforman en células de memoria. Durante una exposición posterior al mismo antígeno, las células de memoria responden más rápidamente que las células vírgenes: proliferan y se desarrollan dando lugar a células activadas y a más células de memoria. En el modelo que se presenta aquí, cada célula virgen individual puede desarrollarse ya sea en célula de memoria o en célula activada, dependiendo de las condiciones. En un modelo alternativo (que no se muestra en la figura) las células vírgenes que maduran a células de memoria son diferentes de las que maduran en células activadas. Se desconoce cuál de estos modelos es el correcto.

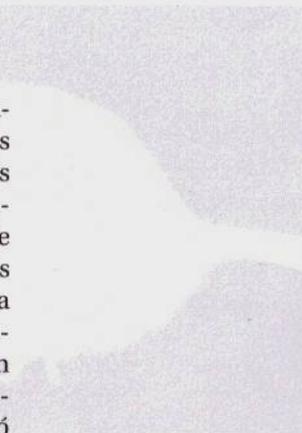


que se hallan por lo menos en tres fases discretas de maduración, que se pueden denominar *células vírgenes* (o "naïve cells"), *células con memoria* y *células activadas*. Cuando las **células vírgenes** se encuentran con un antígeno por primera vez, algunas de ellas se estimulan para multiplicarse y se transforman en **células activadas** —es decir, en células dedicadas activamente a producir una respuesta (las células activadas T realizan respuestas mediadas por células, mientras que las células activadas B secretan anticuerpo). Otras células vírgenes se estimulan para multiplicarse y diferenciarse en **células de memoria** —es decir, en células que no producen respuesta pero que fácilmente se inducen a transformarse en células activadas, ante un encuentro posterior con el mismo antígeno (Figura 23-11). Mientras que las células vírgenes y las células de memoria pueden vivir durante meses o incluso años, las células efectoras mueren por muerte celular programada en unos cuantos días.

Las células de memoria responden mucho más rápidamente al antígeno que las células vírgenes. Veremos más adelante que una de las razones que explica esta capacidad de respuesta incrementada de las células B de memoria es que sus receptores presentan una mayor afinidad por el antígeno. Por el contrario, las células de memoria T parecen responder al antígeno más rápidamente que las células vírgenes T no debido a la presencia de receptores de alta afinidad para el antígeno, sino porque que se adhieren de forma más fuerte a otras células y traducen las señales extracelulares de forma más eficiente. Según este esquema, la memoria inmunológica se genera durante la respuesta primaria, en parte porque la proliferación de la célula virgen, desencadenada por el antígeno, genera muchas células de memoria —proceso conocido como *expansión clonal*— y en parte porque las células vírgenes se diferencian en células de memoria que son capaces de responder más fácilmente al antígeno que una célula virgen. Los antígenos pueden persistir en los tejidos linfoides durante largo tiempo constituyendo una respuesta primaria y se cree que una estimulación continua mediante un antígeno contribuye al mantenimiento de dicha memoria a largo plazo.

### La falta de respuesta ante los antígenos propios es debida a una tolerancia inmunológica adquirida<sup>9</sup>

¿Por qué es capaz el sistema inmunitario de diferenciar entre las moléculas extrañas y las moléculas propias? Una posibilidad estriba en que el animal hereda unos genes que codifican los receptores para los antígenos extraños pero no para los antígenos propios, de modo que su sistema inmunológico esté constituido genéticamente para responder únicamente a los antígenos extraños. También es posible que el sistema inmunitario sea, de forma inherente, capaz de responder tanto a los antígenos extraños como a los propios, pero que durante el desarrollo "aprenda" a no responder a los antígenos propios. Se ha demostrado que esta segunda explicación es la correcta. La primera prueba de ello fue una observación realizada en 1945. Normalmente, cuando se trasplantan tejidos de un individuo a otro, se reconocen como extraños por el sistema inmunitario y son destruidos. Pero se observó



que los mellizos dizigóticos de bóvidos, que se desarrollan a partir de dos óvulos fecundados y que por lo tanto no son idénticos, intercambiaban células sanguíneas *in utero* como resultado de la fusión espontánea de sus placentas; se demostró que estos mellizos aceptaban mutuamente los injertos cutáneos. Más tarde, estos hechos se reprodujeron experimentalmente en pollos, permitiendo la fusión de los vasos sanguíneos de dos embriones distintos; también se realizaron en ratones, introduciendo en un neonato de ratón células del bazo de una cepa distinta, donde sobrevivían durante la mayor parte de la vida del receptor. En ambos casos, cuando los animales maduraron, los injertos procedentes del animal unido o del animal donante fueron aceptados (Figura 23-12), mientras que los injertos de un "tercero" fueron rechazados. Así, la presencia continua de antígenos no propios iniciada antes de que el sistema inmunitario haya madurado, conduce a una ausencia permanente de respuesta ante los antígenos no propios determinados. El estado resultante de la ausencia inducida de respuesta inmunológica a determinados antígenos recibe el nombre de **tolerancia inmunológica adquirida**.

Existen claras evidencias de que la ausencia de respuesta del sistema inmunitario de un animal frente a sus propias macromoléculas (*tolerancia inmunológica natural*) se adquiere de la misma forma y, por lo tanto, no es innata. Por ejemplo, los ratones normales no pueden producir una respuesta inmunitaria contra su propia proteína del complemento C5, pero un ratón mutante que carezca del gen que codifica C5 (siendo por otro lado genéticamente idéntico en todo lo demás a un ratón normal) puede producir respuesta inmunitaria frente a esta proteína. El mantenimiento de la autotolerancia requiere la presencia constante de autoantígenos. Si un animal elimina un antígeno como el C5 recupera la capacidad de respuesta a dicho antígeno en unos cuantos días o semanas. Así, es evidente que el sistema inmunitario es genéticamente capaz de responder a lo propio pero aprende a no hacerlo.

El proceso de aprendizaje que posibilita la autotolerancia puede implicar tanto la eliminación de linfocitos autorreactivos (*delección clonal*) como la inactivación funcional de las células pero manteniéndolas vivas (*anergia clonal*). Como veremos más adelante, muchos linfocitos autorreactivos se eliminan o inactivan cuando encuentran por primera vez un antígeno en los órganos linfoides primarios. Al parecer, los linfocitos formados nuevamente en dichos órganos no se activan por unión al antígeno aunque son eliminados o inactivados por dicho antígeno.

Alguna vez la tolerancia ante los antígenos propios desaparece, haciendo que las células T o B (o ambas) reaccionen contra los antígenos de sus propios tejidos. La *miastenia gravis* es un ejemplo de estas **enfermedades autoinmunitarias**. Los individuos afectados producen anticuerpos contra los receptores de acetilcolina de sus propias células del músculo esquelético; los anticuerpos interfieren en el funcionamiento normal de los receptores, de modo que estos pacientes se debilitan y pueden morir por incapacidad para respirar.



**Figura 23-12 Tolerancia inmunológica.** El injerto cutáneo que muestra esta fotografía, trasplantado de un ratón pardo adulto a un ratón blanco adulto, ha sobrevivido durante muchas semanas únicamente porque el segundo animal fue convertido en inmunológicamente tolerante gracias a la inyección de células del ratón pardo desde el momento del nacimiento. (Por cortesía de Leslie Brent, de I. Roitt, *Essential Immunology*, 6th ed. Oxford, U.K.: Blackwell Scientific, 1988.)

## Resumen

*El sistema inmunitario evolucionó en el sentido de defender a los vertebrados de la infección. Está compuesto por millones de clones de linfocitos. Los linfocitos de cada clon comparten un receptor determinado de la superficie celular que les permite unirse a un "determinante antigénico" concreto, consistente en una disposición específica de átomos de una zona de la molécula. Existen dos clases de linfocitos: las células B, que se forman en la médula ósea y producen anticuerpos, y las células T, que se forman en el timo y desarrollan respuestas inmunitarias mediadas por células.*

*Durante las primeras fases del desarrollo de los linfocitos, muchos linfocitos que reaccionarían contra determinantes antigénicos de macromoléculas propias son eliminados o inactivados; a consecuencia de ello, normalmente el sistema inmunitario reacciona sólo contra antígenos extraños. La unión de un antígeno extraño a un linfocito inicia una respuesta por parte de la célula que ayuda a eliminar el antígeno. Como parte de esta respuesta, algunos linfocitos proliferan y maduran a células de memoria, que son capaces de responder más rápidamente que las células vírgenes frente al antígeno. Así, la próxima vez que aparezca el mismo antígeno la respuesta inmunitaria será más rápida e intensa.*

## Propiedades funcionales de los anticuerpos<sup>10</sup>

Los vertebrados mueren rápidamente a causa de una infección si no son capaces de producir anticuerpos. Los anticuerpos nos defienden de la infección mediante la inactivación de los virus y de las toxinas bacterianas, así como mediante el reclutamiento del sistema del complemento y de varios tipos de glóbulos blancos de la sangre que matan a los microorganismos extracelulares y a parásitos más grandes. Los anticuerpos, sintetizados exclusivamente por las células B, son producidos en millones de formas, cada una de las cuales tiene una secuencia de aminoácidos y un lugar de unión al antígeno diferentes. Conocidos colectivamente como **inmunoglobulinas** (abreviado, **Ig**), se encuentran entre los componentes proteicos más abundantes de la sangre, constituyendo aproximadamente un 20% en peso del total de proteínas plasmáticas. En esta sección describiremos las cinco clases de anticuerpos que se encuentran en los vertebrados superiores, cada una de las cuales media una respuesta biológica característica tras su unión al antígeno.

## Los receptores de las células B específicos para los antígenos son moléculas de anticuerpo<sup>11</sup>

Como predice la teoría de la selección clonal, todas las moléculas de anticuerpo producidas por cada célula B tienen el mismo lugar de unión para el antígeno. Los primeros anticuerpos producidos por una célula B recién formada no se secretan, sino que quedan insertados en la membrana plasmática, donde actúan como receptores para el antígeno. Cada célula B tiene aproximadamente  $10^5$  moléculas de anticuerpo en su membrana plasmática. Cada una de dichas moléculas de anticuerpo se halla asociada de forma no covalente con una serie constante de cadenas polipeptídicas transmembrana implicadas en transmitir señales al interior de la célula cuando el lugar de unión extracelular para el antígeno se halla ocupado por un antígeno. Dichos polipéptidos constantes tienen la finalidad de acoplar los receptores de los antígenos de las células B a uno o más miembros de la familia Src de proteínas tirosina quinasa (incluyendo la Lyn quinasa), de forma que cuando se une un antígeno se activa una cascada de fosforilaciones (véase Figura 23-54B).

Cada célula B produce una sola clase de anticuerpo, con un único lugar de unión al antígeno. Cuando una célula virgen o una célula B con memoria es activada por un antígeno (con la ayuda de las células T colaboradoras), prolifera y

madura convirtiéndose en una célula secretora de anticuerpos. Las células activadas producen y segregan grandes cantidades de anticuerpos solubles (en vez de unidos a membrana), con un lugar de unión para el antígeno igual al de los anticuerpos de la superficie celular que inicialmente habían servido de receptores para el antígeno (Figura 23-13). Las células B activadas pueden empezar a secretar anticuerpos mientras todavía son linfocitos pequeños, pero la fase final de su proceso de maduración es una gran célula plasmática (véase Figura 23-4B) que secreta anticuerpos a gran velocidad, del orden de unas 2000 moléculas por segundo. Parece que las células plasmáticas han dedicado una parte tan grande de su maquinaria de síntesis de proteínas a la producción de anticuerpos que son incapaces de crecer y dividirse, muriendo la mayoría de ellas al cabo de varios días.

### Las células B pueden ser estimuladas a segregar anticuerpos en una placa de cultivo<sup>12</sup>

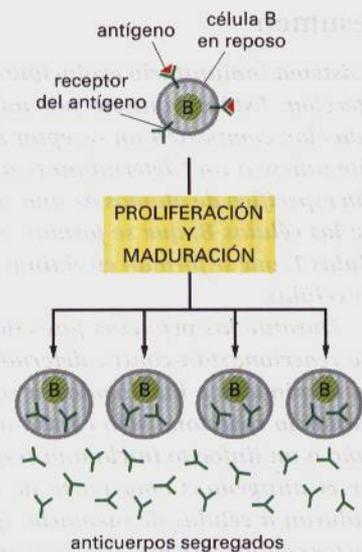
Dos adelantos realizados en los años 1960 revolucionaron la investigación sobre las células B. El primero fue el desarrollo de la **prueba de la placa hemolítica**, que hizo posible identificar y contar células B activadas secretoras de anticuerpos contra un antígeno específico. En la forma más sencilla de esta prueba, se toman linfocitos (generalmente del bazo) de animales que se habían inmunizado contra eritrocitos de oveja (SRBC, de Sheep Red Blood Cells). Luego, estos linfocitos se incluyeron en agar, junto con un exceso de SRBC, de modo que la placa contenía un "césped" de SRBC inmovilizados y algunos linfocitos. En estas condiciones las células son incapaces de moverse, pero cualquier anticuerpo anti-SRBC que sea secretado por una célula B difundirá hacia el exterior y recubrirá los SRBC de las proximidades de la célula secretora. Una vez recubiertos de anticuerpo, los SRBC se pueden matar añadiendo complemento. De esta manera, la presencia de cada célula secretora de anticuerpo viene indicada por la presencia de un punto claro, o *placa*, en la capa opaca de SRBC. Esta misma prueba se puede utilizar para contar las células que producen anticuerpos contra otros antígenos, tales como proteínas y polisacáridos, acoplando químicamente estos antígenos a la superficie de los SRBC.

El segundo avance importante fue la demostración de que las células B pueden ser inducidas a segregar anticuerpos exponiéndolas al antígeno en un ensayo en tubo o en la placa de cultivo, donde las interacciones celulares se pueden manipular y el entorno se puede controlar. Esto condujo al descubrimiento de que la mayoría de antígenos necesitan, para estimular a las células B vírgenes a secretar anticuerpos, tanto los células T colaboradoras como las *células presentadoras de antígeno* especializadas, tal como veremos más adelante.

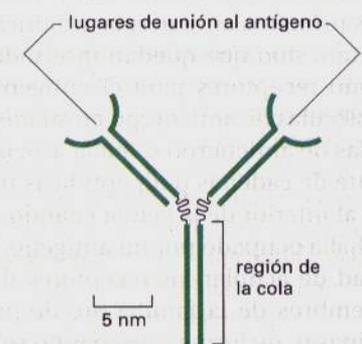
### Los anticuerpos tienen dos lugares idénticos de unión al antígeno<sup>13</sup>

Las moléculas más sencillas de anticuerpo tienen forma de Y con dos lugares idénticos de **unión al antígeno**, uno en cada punta de los dos brazos de la Y (Figura 23-14). Como tienen dos lugares de unión al antígeno, se dice que son *bivalentes*. Cuando las moléculas de antígeno tienen tres o más determinantes antigénicos, las moléculas de anticuerpo bivalentes pueden establecer enlaces cruzados entre moléculas de antígeno, formando amplias redes (Figura 23-15), que pueden ser fagocitadas y degradadas rápidamente por los macrófagos. La eficiencia de la unión del antígeno y la formación de enlaces cruzados se ve altamente incrementada por la presencia en los anticuerpos de una *región bisagra flexible*, que permite variar la distancia entre los dos lugares de unión al antígeno (Figura 23-16).

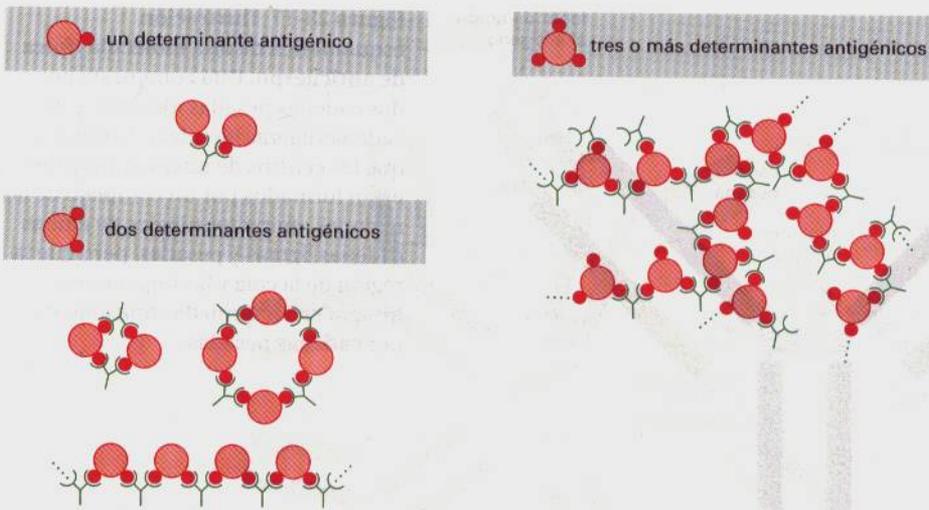
El efecto protector de los anticuerpos no se debe simplemente a su capacidad para unir el antígeno. También participan en diversas actividades mediadas por el pie de la molécula en forma de Y. Esta parte de la molécula determina lo que le sucederá al antígeno después de unirse al anticuerpo. Veremos que anti-



**Figura 23-13 Activación de una célula B.** Cuando se activan células B en reposo mediante un antígeno para que proliferen y maduren a células secretoras de anticuerpos, producen y segregan anticuerpos con un único tipo de lugar de unión, que es el mismo que en los anticuerpos unidos a membrana actuaba como receptor del antígeno.



**Figura 23-14 Representación sencilla de una molécula de anticuerpo.** Obsérvese que los dos lugares de unión al antígeno son idénticos.



cuerpos con lugares de unión al antígeno iguales pueden tener uno cualquiera de los diferentes tipos de pie, cada uno de los cuales confiere al anticuerpo propiedades funcionales distintas, como por ejemplo la capacidad de activar el complemento o de unirse a células fagocíticas.

### Una molécula de anticuerpo está compuesta por dos cadenas ligeras idénticas y dos cadenas pesadas idénticas<sup>13</sup>

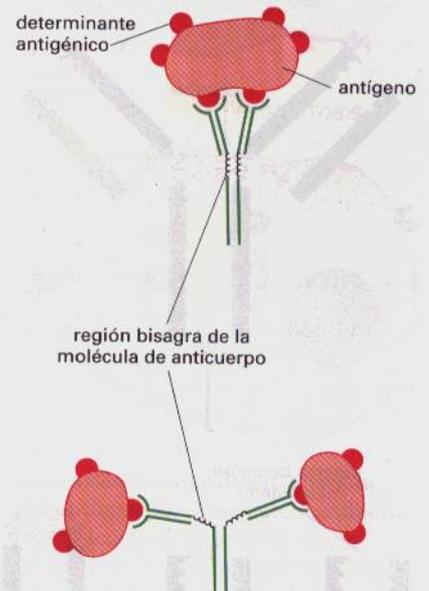
La unidad estructural básica de una molécula de anticuerpo consta de cuatro cadenas polipeptídicas, dos **cadenas ligeras (L)** idénticas (cada una de ellas de unos 220 aminoácidos) y dos **cadenas pesadas (H)** (de "heavy") idénticas (generalmente de unos 440 aminoácidos). Las cuatro cadenas se mantienen unidas entre sí gracias a una combinación de uniones no covalentes y covalentes (enlaces disulfuro). La molécula está compuesta por dos mitades idénticas, con el lugar de unión al antígeno igual, y normalmente tanto la cadena ligera como la cadena pesada cooperan entre sí formando la superficie de unión al antígeno (Figura 23-17).

Las enzimas proteolíticas papaína y pepsina rompen las moléculas de anticuerpo en diferentes fragmentos característicos. La *papaína* produce dos **fragmentos Fab** (de Fragment Antigen Binding) idénticos, cada uno de los cuales presenta un lugar de unión al antígeno, y un **fragmento Fc** (llamado así porque cristaliza con facilidad). En cambio, la *pepsina* produce un **fragmento F(ab')<sub>2</sub>** llamado así porque consta de dos fragmentos F(ab') unidos covalentemente (cada uno de ellos algo mayor que un fragmento Fab); el resto de la molécula se degrada en fragmentos menores (Figura 23-18). Los fragmentos F(ab')<sub>2</sub> son bivalentes, por lo que todavía pueden, a diferencia de los fragmentos Fab monovalentes, formar enlaces cruzados con los antígenos, y precipitar. Ninguno de estos fragmentos conserva las otras propiedades biológicas de las moléculas de anticuerpo intactas debido a que carecen de la región del pie (Fc) en la que se basan estas propiedades.

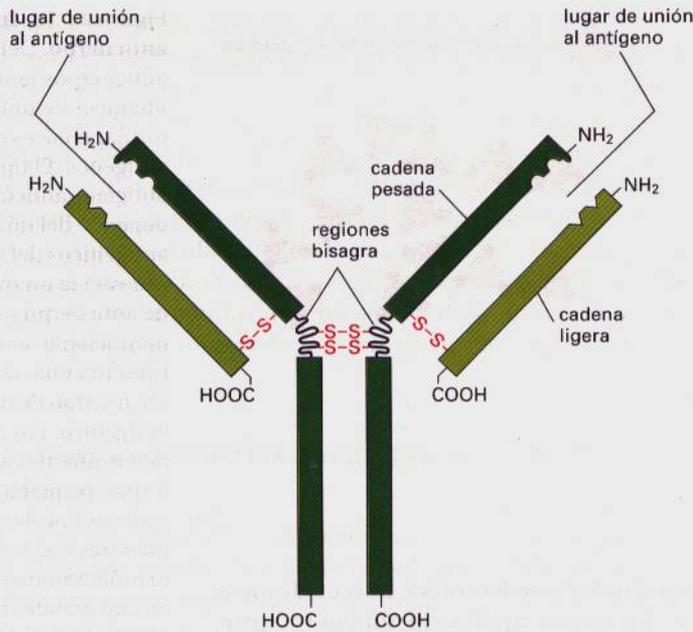
### Existen cinco clases diferentes de cadenas pesadas, cada una de las cuales tiene propiedades biológicas distintas<sup>10, 14</sup>

En los vertebrados superiores existen cinco *clases* diferentes de anticuerpos, IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, cada una de las cuales tiene su propia clase de cadena pesada  $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\gamma$  y  $\mu$ , respectivamente; las moléculas de IgA tienen cadenas  $\alpha$ , las moléculas de IgG tienen cadenas  $\gamma$ , etc. Además, existen varias subclases de inmunoglobulinas IgG e IgA; por ejemplo: en humanos existen cuatro subclases de IgG (IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4) constituidas respectivamente por las cadenas pe-

**Figura 23-15 Interacciones antígeno-anticuerpo.** Debido que los anticuerpos tienen dos lugares idénticos de unión al antígeno, pueden formar enlaces cruzados entre antígenos. El tipo de complejo antígeno-anticuerpo que forman depende del número de determinantes antigénicos del antígeno. Aquí se muestra la unión de una sola especie de anticuerpo (un anticuerpo monoclonal) a un antígeno que presenta una, dos o tres copias de un mismo tipo de determinante antigénico. Los antígenos con dos determinantes antigénicos pueden formar pequeños complejos cíclicos o cadenas lineales con el anticuerpo, mientras que los antígenos con tres o más determinantes antigénicos pueden formar grandes redes tridimensionales que precipitan rápidamente en la solución. La mayoría de antígenos poseen muchos determinantes antigénicos distintos (véase Figura 23-25A) y los distintos anticuerpos que reconocen estos determinantes diferentes pueden cooperar formando enlaces cruzados con el antígeno (no se muestra en la figura).



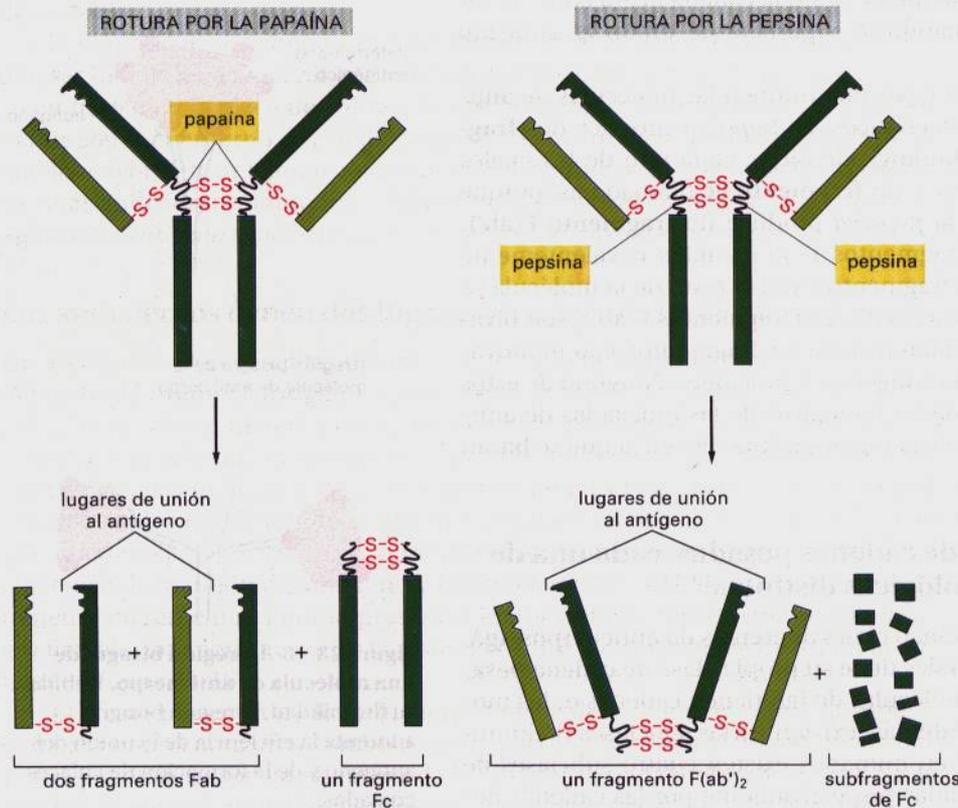
**Figura 23-16 La región bisagra de una molécula de anticuerpo.** Debido a su flexibilidad, la región bisagra aumenta la eficiencia de la unión del antígeno y de la formación de enlaces cruzados.



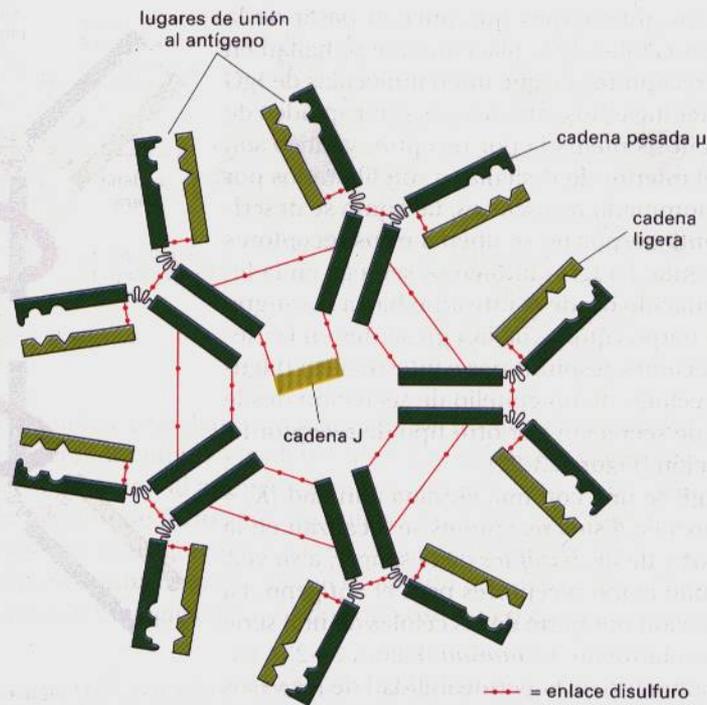
**Figura 23-17 Ilustración esquemática de una molécula típica de anticuerpo.** Está compuesta por dos cadenas pesadas idénticas y dos cadenas ligeras idénticas. Obsérvese que los centros de unión al antígeno están formados por un complejo de las regiones amino terminales de ambas cadenas ligeras y pesadas, pero que la región de la cola y las regiones en bisagra están formadas únicamente por cadenas pesadas.

sadas  $\gamma_1$ ,  $\gamma_2$ ,  $\gamma_3$  y  $\gamma_4$ . Las diferentes cadenas pesadas imparten una conformación distintiva a las regiones de bisagra y de pie de los anticuerpos y confieren a cada clase y subclase unas propiedades características.

La **IgM**, cuya cadena pesada es siempre  $\mu$ , es la primera clase de anticuerpo que producen las células B en desarrollo, aunque posteriormente muchas células B pasan a producir otras clases de anticuerpo (como veremos más adelante). Inicialmente el precursor inmediato de una célula B, denominado **célula pre-B**, sólo fabrica cadenas  $\mu$ , las cuales se asocian con cadenas de polipéptidos no li-



**Figura 23-18 Fragmentos de anticuerpo Fab y F(ab')<sub>2</sub>.** Estos fragmentos se producen cuando las moléculas de anticuerpo son degradadas con las enzimas proteolíticas papaína y pepsina, respectivamente.



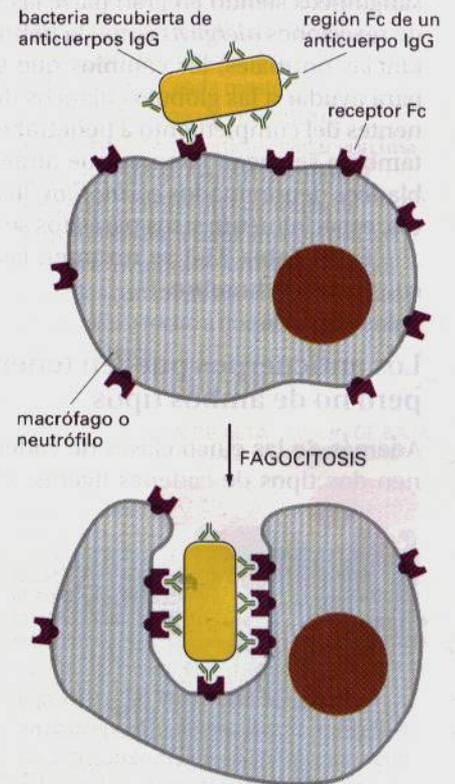
**Figura 23-19 Una molécula pentamérica de IgM.** Las cinco subunidades están unidas entre sí por enlaces disulfuro. Una única cadena J, que presenta una estructura similar a la de un único dominio de Ig (se estudia más adelante), está unida por enlaces disulfuro entre dos cadenas pesadas  $\mu$ . La cadena J es necesaria para el proceso de polimerización. La adición de cada una de las cuatro subunidades sucesivas de la cadena IgM requiere una cadena J, que se desprende, excepto la última, que queda retenida.

geras (con frecuencia denominadas substituyentes de las cadenas ligeras) y situadas en la membrana plasmática. En cuanto incrementa la síntesis de las cadenas ligeras, éstas se combinan con las cadenas  $\mu$ , desplazando las cadenas ligeras substituyentes, formando una molécula de IgM de cuatro cadenas (con dos cadenas  $\mu$  y dos cadenas ligeras), que se insertan en la membrana plasmática. Ahora la célula tiene receptores en su superficie a los que puede unirse el antígeno; en este momento la célula recibe el nombre de *célula B virgen*. Muchas células B vírgenes empiezan también a producir moléculas IgD de superficie celular, con el mismo lugar de unión a antígeno que las moléculas IgM.

La IgM no es sólo la primera clase de anticuerpo en aparecer en la superficie celular de las células B en desarrollo, sino que también es la clase principal de Ig secretada a la sangre en las primeras fases de una respuesta *primaria* de anticuerpos. La forma de IgM de secreción se compone de cinco unidades de cuatro cadenas, teniendo así un total de diez lugares de unión para el antígeno. Cada pentámero contiene una copia de otra cadena polipeptídica denominada *cadena J* (de "joining"). Las células secretoras de IgM producen la cadena J y la insertan covalentemente entre dos regiones adyacentes del pie (Fc) (Figura 23-19).

La unión del antígeno a las regiones Fab de la IgM pentamérica secretada induce a las regiones Fc a unirse, y por tanto a activar al primer componente del *sistema del complemento*. Tal como veremos más adelante, cuando el antígeno se encuentra en la superficie de un microorganismo invasor, la activación resultante del sistema del complemento inicia un ataque bioquímico que mata al microorganismo. A diferencia de las IgM, las moléculas de IgD raramente son secretadas por una célula B activa; sus funciones –además de las que presentan como receptores para el antígeno– son desconocidas.

La clase principal de inmunoglobulinas que se hallan en la sangre es la de las **IgG**, que se producen en grandes cantidades durante las respuestas inmunitarias *secundarias*. Además de activar el sistema del complemento, la región Fc de una molécula de IgG se une a receptores específicos de macrófagos y de neutrófilos. Estas células fagocíticas, en gran parte mediante estos **receptores Fc**, se unen, ingieren y destruyen a los microorganismos infectantes que han sido recubiertos por anticuerpos IgG producidos en respuesta a la infección (Figura 23-20). Algunos tipos de glóbulos blancos que expresan receptores Fc pueden también matar células eucariotas extrañas recubiertas de IgG, sin fagocitarlas.



**Figura 23-20 Fagocitosis activada por anticuerpo.** Una bacteria cubierta por anticuerpos IgG es fagocitada eficazmente por un macrófago o un neutrófilo, los cuales tienen receptores de superficie capaces de unirse a la región Fc de las moléculas de IgG. La unión de esta bacteria recubierta de anticuerpos a estos receptores Fc del macrófago activa el proceso de fagocitosis.

Las moléculas de IgG son los únicos anticuerpos que pueden pasar de la madre al feto a través de la placenta. Las células de la placenta que se hallan en contacto con la sangre materna tienen receptores Fc que unen moléculas de IgG y median su paso hacia el feto. En primer lugar, los anticuerpos son captados de la sangre materna mediante una endocitosis mediada por receptor, y luego son transportados a través de la célula en el interior de vesículas y son liberados por exocitosis a la sangre fetal (proceso denominado *transcitosis*, tal como se describe en el Capítulo 13). Otras clases de anticuerpos no se unen a estos receptores por lo que no pueden atravesar la placenta. La IgG también se segrega en la leche materna y es captada por el recién nacido desde el intestino hacia la sangre.

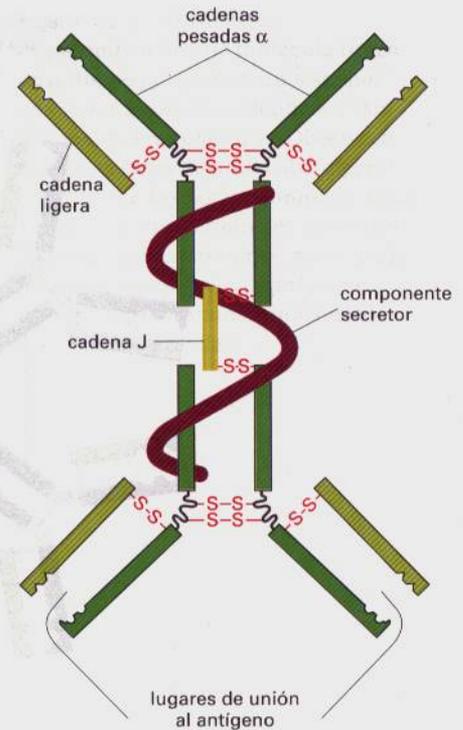
La IgA es la principal clase de anticuerpos que se hallan presentes en las secreciones (saliva, lágrimas, leche y secreciones respiratorias e intestinales) (Figura 23-21). Se transporta a través de las células de un epitelio de secreción desde el medio extracelular hasta el material de secreción por otro tipo de receptor Fc que es el único de los epitelios de secreción (Figura 23-22).

La región Fc de las moléculas de IgE se une con una elevada afinidad ( $K_a \approx 10^{10}$  litros/mol) a otra clase de receptores Fc. Estos receptores se localizan en la superficie de los *mastocitos* de los tejidos y de los *basófilos* de la sangre; a su vez, las moléculas de IgE unidas a ellos actúan como receptores para el antígeno. La unión del antígeno desencadena la secreción por parte de las células de una serie de aminas biológicamente activas, particularmente *histamina* (Figura 23-23). Estas aminas causan una dilatación y un aumento de la permeabilidad de los vasos sanguíneos siendo en gran parte las responsables de las manifestaciones clínicas de reacciones *alérgicas* como la fiebre del heno, el asma y la urticaria. En circunstancias normales, los cambios que sufren los vasos sanguíneos están pensados para ayudar a las glóbulos blancos de la sangre, a los anticuerpos y a los componentes del complemento a penetrar en los lugares de inflamación. Los mastocitos también segregan factores que atraen y activan a una clase especial de glóbulos blancos denominados *eosinófilos*, los cuales pueden matar varios tipos de parásitos, especialmente si los parásitos se hallan recubiertos de anticuerpos IgE o IgA.

En la Tabla 23-1 se resumen las propiedades de los distintos tipos de anticuerpos en el hombre.

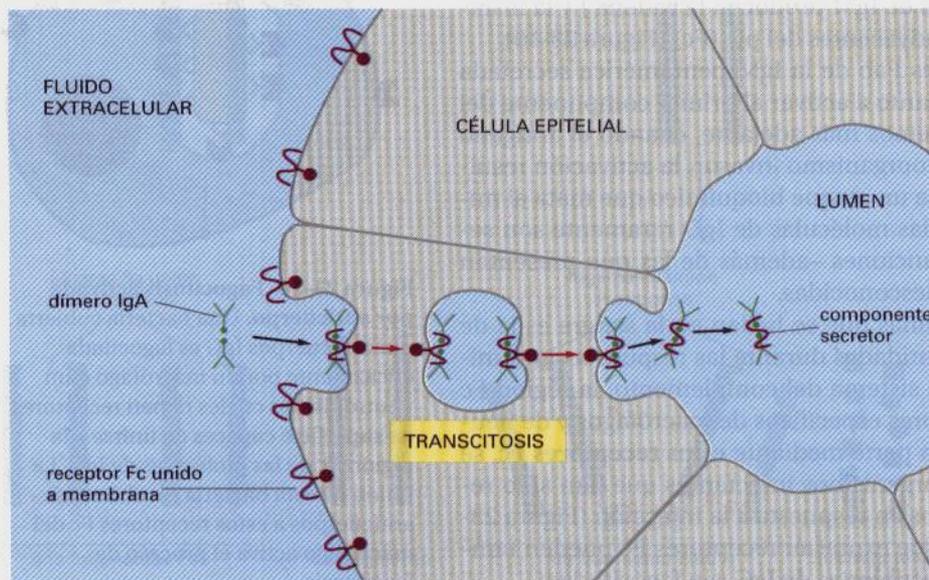
### Los anticuerpos pueden tener cadenas ligeras $\kappa$ o $\lambda$ , pero no de ambos tipos

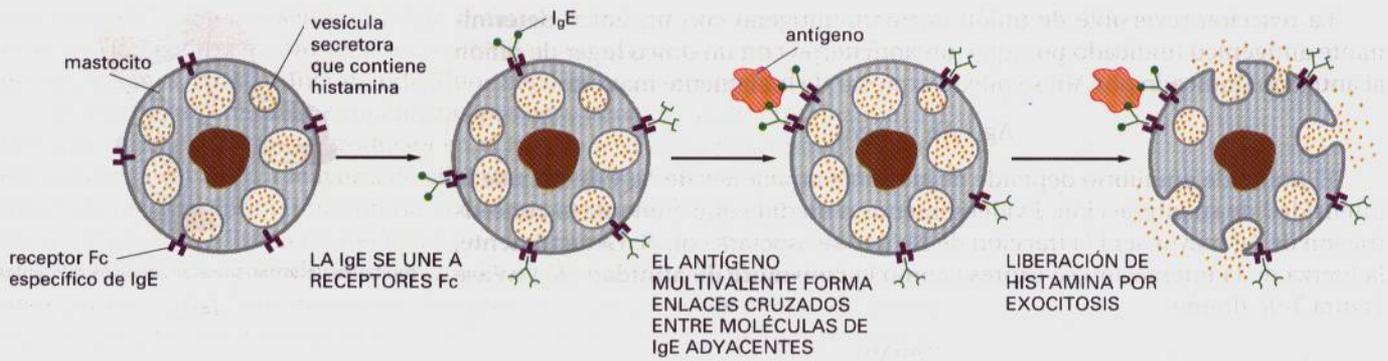
Además de las cinco clases de cadenas pesadas, los vertebrados superiores tienen dos tipos de cadenas ligeras,  $\kappa$  y  $\lambda$ , que pueden estar asociadas con cual-



**Figura 23-21** Diagrama altamente esquemático de una molécula dimérica de IgA, la cual se presenta en las secreciones. Además de los dos monómeros de IgA, existe una única cadena J y una cadena polipeptídica adicional denominada *componente secretor*, el cual parece que protege las moléculas de IgA de la digestión por las enzimas proteolíticas de las secreciones.

**Figura 23-22** Mecanismo de transporte de una molécula dimérica de IgA a través de una célula epitelial. La molécula de IgA, así como la cadena J que contiene el dímero, se une a un receptor Fc transmembrana especializado de la superficie no luminal de la célula epitelial secretora. Los complejos receptor-IgA son ingeridos por endocitosis mediada por receptor, transportados a través del citoplasma de la célula epitelial en vesículas, y secretados en el lumen del lado opuesto de la célula por exocitosis. Cuando queda expuesto en el lumen, la parte del receptor Fc, que está unido al dímero de IgA (el *componente secretor*), se escinde de su cola transmembrana, liberando así el anticuerpo, tal como se muestra en la Figura 23-21.





quiera de las cadenas pesadas. Una determinada molécula de anticuerpo contiene siempre cadenas ligeras idénticas y cadenas pesadas idénticas; por consiguiente, sus dos lugares de unión al antígeno siempre son idénticos. Esta simetría es crucial para la función de formación de enlaces cruzados que tienen los anticuerpos secretados. Por consiguiente, una molécula de IgG puede tener cadenas ligeras  $\kappa$  o  $\lambda$  pero no ambas a la vez. Por el momento no se han identificado diferencias en la función biológica de estos dos tipos de cadenas ligeras.

### La intensidad de una interacción antígeno-anticuerpo depende tanto del número de lugares de unión ocupados como de la afinidad de cada lugar de unión<sup>10, 15</sup>

La unión de un antígeno a un anticuerpo, al igual que la unión de un sustrato a una enzima, es reversible. Está mediada por la suma de numerosas fuerzas no-covalentes, cada una de las cuales es relativamente débil: enlaces hidrofóbicos, fuerzas de van der Waals, interacciones iónicas, etc. Estas fuerzas débiles sólo son eficaces cuando la molécula de antígeno está lo bastante cerca para permitir que alguno de sus átomos puedan encajar en los huecos complementarios existentes en la superficie del anticuerpo. Las regiones complementarias de una unidad de anticuerpo de cuatro cadenas son sus dos lugares idénticos de unión al antígeno, mientras que la región correspondiente del antígeno es un *determinante antigénico* (Figura 23-24). La mayoría de las macromoléculas antigénicas presentan muchos determinantes antigénicos diferentes; si dos o más de ellos son idénticos (como sucede en un polímero con estructura repetitiva), se dice que el antígeno es *multivalente* (Figura 23-25).

**Figura 23-23 Función de las IgE en la secreción de histamina por los mastocitos.** Un mastocito (o un basófilo) se une a las moléculas de IgE después de que hayan sido segregadas por las células B activadas; los anticuerpos IgE solubles se unen a las proteínas receptoras Fc de la superficie celular del mastocito que reconoce específicamente la región Fc de estos anticuerpos. Las moléculas IgE adquiridas pasivamente por el mastocito sirven como receptores de superficie celular para el antígeno. Así, a diferencia de las células B, cada mastocito (y basófilo) presenta un conjunto de anticuerpos de superficie celular con una gran variedad de centros de unión al antígeno. Cuando una molécula de antígeno se une a estos anticuerpos IgE unidos a membrana formando enlaces cruzados con los de las células cercanas, activa al mastocito a que libere histamina por exocitosis.

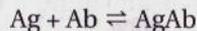


**Figura 23-24 Unión del antígeno al anticuerpo.** Un determinante antigénico de una macromolécula interacciona con el lugar de unión del antígeno de dos moléculas distintas de anticuerpo, una de alta afinidad y otra de baja afinidad. El determinante antigénico se mantiene en el lugar de unión gracias a la acción de varias fuerzas débiles, no covalentes y en el lugar de mayor adaptación al antígeno posee una gran afinidad. Obsérvese que normalmente tanto las cadenas pesadas como las ligeras de la molécula de anticuerpo contribuyen al lugar de unión al antígeno.

**Tabla 23-1 Propiedades de las clases principales de anticuerpos humanos**

Propiedades	Clase de anticuerpo				
	IgM	IgD	IgG	IgA	IgE
Cadenas pesadas	$\mu$	$\delta$	$\gamma$	$\alpha$	$\epsilon$
Cadenas ligeras	$\kappa$ o $\lambda$				
Número de unidades de cuatro cadenas	5	1	1	1 o 2	1
Porcentaje respecto al total de Ig en sangre	10	<1	75	15	<1
Activa el complemento	++++	-	++	-	-
Atraviesa la placenta	-	-	+	-	-
Se une a macrófagos y neutrófilos	-	-	+	-	-
Se une a mastocitos y basófilos	-	-	-	-	+

La reacción reversible de unión entre un antígeno con un único determinante antigénico (indicado por Ag) y un anticuerpo con un único lugar de unión al antígeno (indicado por Ab) se puede expresar de la siguiente manera:



El punto de equilibrio depende de las concentraciones de Ag y de Ab y de la intensidad de su interacción. Evidentemente, a medida que aumente la concentración de Ag mayor será la fracción de Ab que se asociará con él. Generalmente, la fuerza de la interacción se expresa como la **constante de afinidad** ( $K_a$ ) (véase Figura 3-9), donde

$$K_a = \frac{[\text{AgAb}]}{[\text{Ag}][\text{Ab}]}$$

(los corchetes indican la concentración de cada componente en el equilibrio).

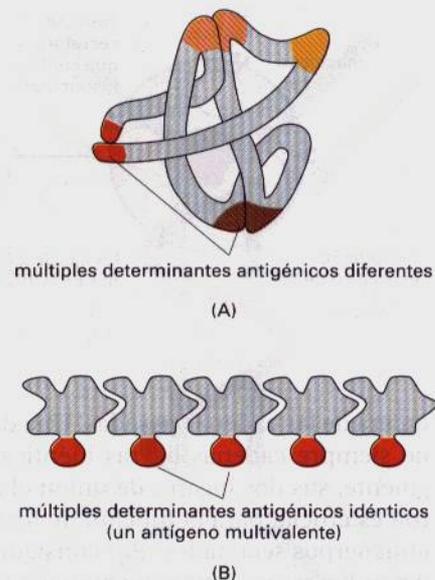
La constante de afinidad, denominada a veces constante de asociación, se puede determinar midiendo la concentración de Ag libre necesaria para ocupar la mitad de los lugares de unión al antígeno del anticuerpo. Cuando están ocupados la mitad de estos lugares,  $[\text{AgAb}] = [\text{Ab}]$  y  $K_a = 1/[\text{Ag}]$ . Por lo tanto el valor inverso de esta concentración de antígeno que produce la mitad de la unión máxima es igual a la constante de afinidad del anticuerpo por el antígeno. Los valores habituales oscilan desde cifras tan bajas como  $5 \times 10^4$  hasta cifras tan altas como  $10^{11}$  litros/mol. La constante de afinidad para la cual una molécula de inmunoglobulina deja de ser considerada como anticuerpo para un determinado antígeno, es algo arbitraria, pero es poco probable que un anticuerpo con una  $K_a$  inferior a  $10^4$  sea biológicamente eficaz; además, es poco probable que las células B que posean receptores de baja afinidad por un antígeno sean activadas por dicho antígeno.

La **afinidad** de un anticuerpo para un antígeno determinante refleja la fuerza de la unión de una sola copia de un determinante antigénico a un solo lugar de unión del antígeno, y es independiente del número de lugares de unión. Sin embargo, cuando un antígeno que transporta múltiples copias de un mismo determinante antigénico se combina con un anticuerpo multivalente, la fuerza de dicha unión se incrementa notablemente debido a que para que el antígeno y el anticuerpo puedan disociarse, se han de romper simultáneamente todas las uniones antígeno-anticuerpo. Así, una molécula característica de IgG puede unirse a un antígeno multivalente con una fuerza de por lo menos 50-100 veces mayor si en lugar de participar un sólo lugar de unión participan todos los lugares de unión al antígeno. La fuerza total de la unión de un anticuerpo multivalente a un antígeno multivalente se designa como la **avidez** de la interacción.

Si la afinidad de los lugares de unión de una molécula de IgG y de IgM es la misma, la molécula de IgM (con 10 lugares de unión) tendrá una avidez muy superior por un antígeno multivalente que una molécula de IgG (que tiene dos lugares). Esta diferencia de avidez, a menudo de  $10^4$  veces o más, es importante debido a que generalmente los anticuerpos producidos en las primeras fases de una respuesta inmunitaria tienen afinidades muy inferiores a las que muestran los producidos más tarde. (El aumento de la afinidad media de los anticuerpos producidos después de un tiempo de la inmunización, denominado *maduración de la afinidad*, se estudiará más adelante.) Debido a su elevada avidez total, las IgM –la principal clase de Ig producida en las primeras fases de las respuestas inmunitarias– pueden actuar de forma eficaz a pesar de que cada uno de sus lugares de unión presente una afinidad baja.

### La utilización del complemento por los anticuerpos contribuye a la lucha contra las infecciones bacterianas<sup>16</sup>

El **complemento**, denominado así porque *complementa* y amplifica la acción de los anticuerpos, es una de las formas principales a través de la cual los anticuerpos defienden a los vertebrados contra la mayoría de las infecciones bacterianas.



**Figura 23-25 Moléculas con múltiples determinantes antigénicos.** (A) Una proteína globular con varios determinantes antigénicos diferentes. Generalmente distintas regiones de una cadena polipeptídica pueden quedar juntas en la estructura plegada, formando cada uno de los determinantes antigénicos de la superficie de la proteína. (B) Una estructura polimérica con muchos determinantes antigénicos idénticos; una molécula de este tipo recibe el nombre de *antígeno multivalente*.

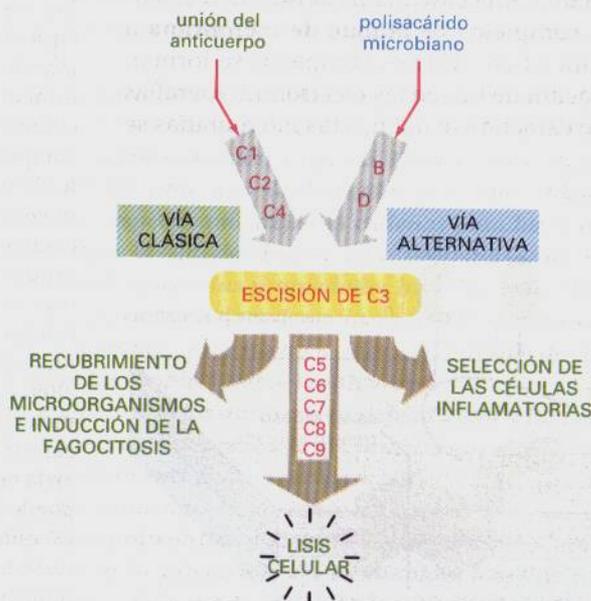
Los individuos que presentan alguna deficiencia en uno de los componentes centrales del complemento (denominado C3) están sujetos a repetidas infecciones bacterianas, como si fueran individuos deficientes en anticuerpos.

El sistema de complemento consta aproximadamente de 20 proteínas solubles que principalmente se producen en el hígado y circulan por la sangre y por el fluido extracelular. La mayoría de ellas son inactivas a menos que se activen a través de una respuesta inmunitaria, o de forma más directa por un microorganismo invasor. La última consecuencia de la activación del complemento es el ensamblaje de los denominados *componentes tardíos del complemento* que forman grandes complejos proteicos, denominados *complejos de ataque de membrana*, que producen perforaciones en la membrana de un microorganismo y pueden llegar a destruirlo.

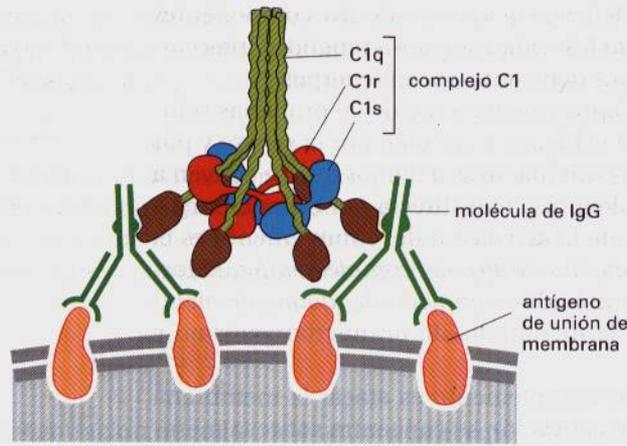
Una de las funciones principales del complemento es atacar la membrana de las células microbianas, por lo que su activación se concentra sobre la membrana celular microbiana, activada por los anticuerpos que están unidos al microorganismo o por los polisacáridos de la cubierta microbiana; ambos activan los *componentes tempranos del complemento*. Existen dos grupos de componentes tempranos, que pertenecen a dos vías diferentes de activación del complemento, la **vía clásica** y la **vía alternativa**. Los componentes tempranos de ambas vías actúan localmente activando C3, el componente más importante del complemento, cuya fragmentación provoca no sólo el ensamblaje de los complejos de ataque de membrana sino también la selección de distintos tipos de glóbulos blancos (Figura 23-26).

Los componentes tempranos y C3 son proenzimas que se activan secuencialmente por escisión proteolítica limitada: la escisión de cada proenzima de la secuencia, activa el componente que genera una serina proteasa que escinde la siguiente proenzima de la secuencia, y así sucesivamente. Como que cada enzima activada escinde varias moléculas de la siguiente proenzima de la cadena, la activación de los componentes tempranos constituye una *cascada proteolítica* amplificada. Así cada molécula activada al inicio de la secuencia provoca la producción de varios componentes activos, incluyendo muchos complejos de ataque de membrana.

Muchas de estas escisiones liberan un pequeño fragmento peptídico, y de este modo se expone en el fragmento mayor un lugar de unión a membrana, el cual se une estrechamente a la membrana de la célula diana y ayuda a llevar a cabo la siguiente reacción de la secuencia, provocando temporalmente la formación de complejos de ataque de membrana. Esta forma de activación del



**Figura 23-26 Fases principales de la activación del complemento por las vías clásica y alternativa.** En ambas vías, normalmente las reacciones de la activación del complemento tienen lugar sobre la superficie del microorganismo invasor, como por ejemplo una bacteria. C1-C9 y los factores B y D son los componentes reactivos del sistema de complemento; otros tipos de componentes (no se muestran en la figura) regulan el sistema. Los *componentes tempranos* están señalados dentro de las flechas grises, mientras que los *componentes tardíos* se hallan dentro de la flecha marrón.



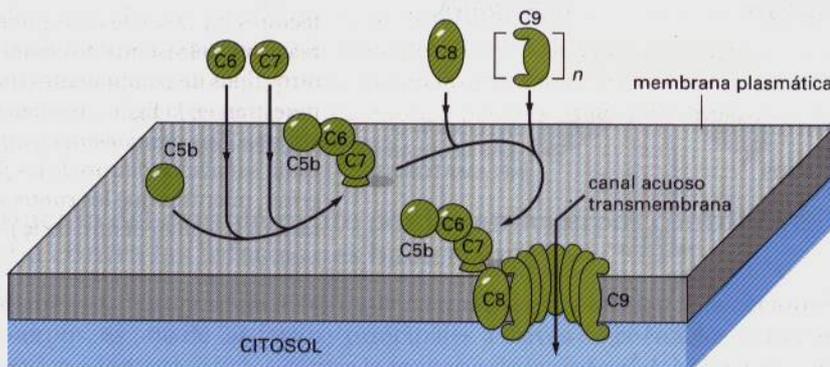
**Figura 23-27 La compleja estructura de C1.** La unión de dos o más moléculas de IgG (o una molécula pentamérica de IgM; no se muestra) a la superficie de un microorganismo capacita a sus regiones Fc para unirse al primer componente de la vía clásica, C1, que es un gran complejo integrado por tres subcomponentes—C1q, C1r y C1s. Cuando C1q se une a los complejos antígeno-anticuerpo, activa a C1r, que adquiere actividad proteolítica, rompiendo C1s e iniciando así la cascada proteolítica. Obsérvese que C1q está integrado por seis subunidades idénticas, cada una de ellas con una cabeza globular (que lo une al anticuerpo) y una cola similar a la colágena.

complemento está confinada principalmente a la zona de la superficie celular donde ha comenzado. El fragmento mayor de C3 se denomina C3b. Éste se une de forma covalente a la superficie de una célula diana. Una vez allí no sólo actúa como una proteasa que cataliza las etapas siguientes de la cascada del complemento sino que también es reconocido por proteínas receptoras específicas de los macrófagos y de los neutrófilos que incrementan la capacidad de dichas células para fagocitar la célula diana. El fragmento más pequeño de C3 (denominado C3a) actúa independientemente como una señal difusible que provoca una respuesta inflamatoria, estimulando a los glóbulos blancos de la sangre a migrar hacia el foco de la infección.

Generalmente la vía clásica se activa por agregados de anticuerpos IgG o IgM unidos a los antígenos de la superficie de un microorganismo. La primera etapa de esta vía queda ilustrada en la Figura 23-27. Por el contrario, la vía alternativa se activa mediante los polisacáridos de la cubierta celular de los microorganismos, incluso en ausencia de anticuerpos, aunque la activación de la vía clásica también activa la vía alternativa mediante una retroalimentación positiva. Por consiguiente, la vía alternativa proporciona una primera línea de defensa contra la infección, antes de que la respuesta inmunitaria pueda ponerse en marcha, y una vez la respuesta inmunológica ha empezado también amplifica los efectos de la vía clásica.

Las moléculas de membrana C3b inmovilizadas, producidas tanto por la vía clásica como por la alternativa desencadenan una cascada posterior de reacciones que provocan el ensamblaje de los **complejos de ataque de membrana** a partir de los últimos componentes (Figura 23-28). Dichos complejos se forman en la membrana cerca del lugar de activación de C3; en las electronmicrografías teñidas negativamente tienen un aspecto característico. En estas micrografías se

**Figura 23-28 Ensamblaje de los componentes tardíos del complemento, formando el complejo de ataque de membrana.** Cuando se produce C3b tanto por la vía clásica como por la vía alternativa, queda inmovilizado sobre la membrana, donde provoca la escisión de una proteína del complemento denominada C5 produciendo C5a (no se muestra en la figura) y C5b. C5b permanece unido de forma laxa a C3b (no se muestra en la figura) y se ensambla rápidamente con C6 y C7 formando C567, que se une entonces firmemente a la membrana vía C7, tal como se ilustra en la figura. Este complejo añade una molécula de C8 formando C5678. La unión de una molécula de C9 a C5678 induce un cambio conformacional en C9 que expone una región hidrofóbica, insertándose en la bicapa lipídica de la célula diana, próxima a C8. Esto inicia una reacción en cadena en la que C9 alterado se une a una segunda molécula de C9, la cual sufre un cambio de conformación y se inserta en la bicapa; a su vez, esta molécula puede unir otra molécula de C9, etc. De esta manera por cada molécula de C9 se forma un gran canal transmembrana.



puede observar cómo forman poros acuosos a través de la membrana (Figura 23-29). Por esta razón, y debido a que perturban la estructura de la bicapa lipídica en sus proximidades, hacen agujeros en la membrana. Las moléculas pequeñas salen o entran de la célula a través de estos complejos mientras que las macromoléculas permanecen en el interior, de forma que se interrumpe el mecanismo normal de la célula para controlar el balance de agua. Por consiguiente, el agua penetra en el interior de las células por ósmosis, causando su hinchamiento y explosión. El proceso es tan eficiente que un pequeño número de complejos de ataque de membrana (quizás uno sólo) puede matar un glóbulo rojo. Incluso un virus con cubierta, que no presenta un gradiente de presión osmótica grande a través de su membrana y no es susceptible por tanto a esta lisis osmótica, puede ser destruido por estos complejos, posiblemente debido a que estos complejos de ataque desorganizan la membrana vírica.

Las propiedades destructoras autoamplificantes de la cascada del complemento hacen necesario que los componentes clave activados sean rápidamente inactivados después de haber sido generados, para evitar que el ataque se extienda a las células del huésped que se hallen en las proximidades. La desactivación se consigue por lo menos de dos maneras. En primer lugar, en la sangre existen unas proteínas inhibidoras específicas que finalizan la cascada, bien fijando o bien escindiendo ciertos componentes cuando se han activado por escisión proteolítica. En segundo lugar, muchos de los componentes activados de la cascada son inestables; a menos que se unan inmediatamente a un componente apropiado de la cadena o a una membrana próxima, son inactivados rápidamente.

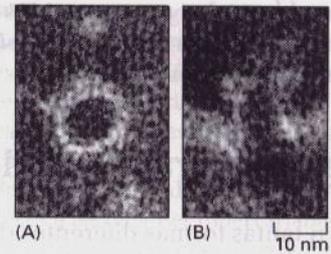
## Resumen

*Una molécula de anticuerpo típica es una proteína en forma de Y con dos lugares idénticos de unión al antígeno en los extremos de los brazos de la Y (las regiones Fab) y diversos lugares de unión para los componentes del complemento y/o para varios receptores de superficie celular, en el pie de la Y (región Fc). Los anticuerpos defienden a los vertebrados de la infección, inactivando virus y toxinas bacterianas y reclutando complemento y diversas células para matar e ingerir a los microorganismos invasores.*

*Cada clon de células B produce moléculas de anticuerpo con un único tipo de lugar de unión al antígeno. Inicialmente, las moléculas se insertan en la membrana plasmática, donde actúan como receptores para el antígeno. La unión del antígeno a dichos receptores activa determinadas células B (habitualmente con la ayuda de las células T colaboradoras) para multiplicarse y madurar, convirtiéndose en células con memoria o en células secretoras de anticuerpo, las cuales secretan anticuerpos cuyo lugar de unión al antígeno es igual al que tenían los anticuerpos unidos a la membrana de las células B.*

*Cada molécula de anticuerpo consta de dos cadenas pesadas idénticas y dos cadenas ligeras idénticas. Típicamente, los lugares de unión al antígeno están formados por parte de ambos tipos de cadenas, pesadas y ligeras. Existen cinco clases de anticuerpos (IgA, IgD, IgE, IgG e IgM), cada uno de los cuales tiene una cadena pesada característica ( $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\lambda$ ,  $\gamma$  y  $\mu$ , respectivamente). Las cadenas pesadas también forman la región Fc del anticuerpo, la cual determina a qué proteínas se unirá el anticuerpo y, por consiguiente, cuáles serán las propiedades biológicas de cada clase de anticuerpo. Cualquiera de los dos tipos de cadena ligera ( $\kappa$  o  $\lambda$ ) puede asociarse con cualquier clase de cadena pesada. Sin embargo, parece que el tipo de cadena ligera no tiene influencia sobre las propiedades del anticuerpo.*

*El sistema del complemento coopera con los anticuerpos defendiendo a los vertebrados de las infecciones. Los componentes tempranos son proenzimas que circulan por la sangre y se activan secuencialmente en una serie amplificada de reacciones proteolíticas limitadas. El componente más importante del complemento es la proteína C3 que se activa por escisión proteolítica y se une a la membrana de una célula microbiana, donde colabora en la iniciación del ensamblaje local de los componentes tardíos del complemento y en la inducción de la fagocitosis de la célula.*



**Figura 23-29** Electronmicrografías de lesiones de la membrana plasmática de un glóbulo rojo, obtenidas con tinción negativa. La lesión en (A) está vista de frente mientras que en (B) está vista de lado, como si fuera un canal transmembrana. El colorante negativo llena el canal, por lo que aparece de color negro. (De R. Dourmashkin, *Immunology* 35:205-212, 1978.)

la *microbiana*. Los componentes tardíos constituyen grandes complejos de ataque de membrana en la membrana de la célula microbiana y de este modo destruyen el microorganismo invasor.

## La estructura fina de los anticuerpos

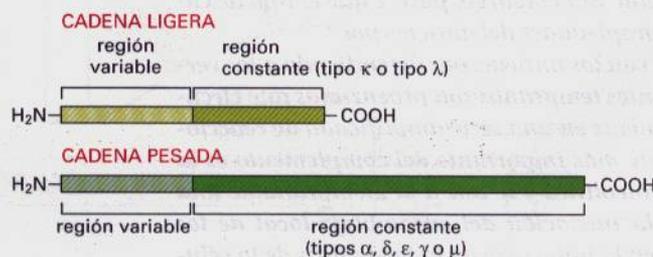
Existen tantas formas diferentes de anticuerpos, que cada uno de ellos constituye una mínima fracción de las moléculas de Ig de la sangre de un individuo no inmunizado. Este hecho colocó a los bioquímicos frente a un difícil problema, único en química de proteínas: cómo obtener suficiente cantidad de cada una de las moléculas de anticuerpo para determinar su secuencia de aminoácidos y su estructura tridimensional.

El problema se resolvió gracias al descubrimiento de que las células de un tipo de cáncer, conocido como **mieloma múltiple** (dado que se desarrollan múltiples tumores en la médula ósea, o tejidos mieloides), secretan a la sangre del paciente grandes cantidades de una única especie de anticuerpo. El anticuerpo es homogéneo, o monoclonal, ya que el cáncer suele empezar con el crecimiento incontrolado de una sola célula, y en el mieloma múltiple esta célula es una célula plasmática secretora de anticuerpos. El anticuerpo, que se acumula en la sangre, recibe el nombre de **proteína del mieloma**.

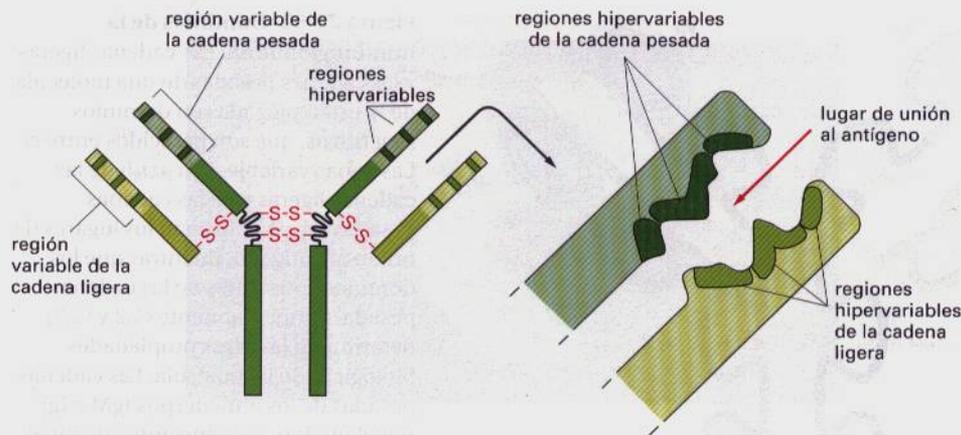
La estructura detallada de los anticuerpos fue establecida inicialmente con el estudio de las proteínas de mieloma presentes en la orina y en la sangre de estos pacientes, o de ratones a los que se les había inducido experimentalmente un tumor similar al del mieloma múltiple. Posteriormente ha sido posible conseguir células B secretoras de anticuerpo inmortales, al fusionarlas con células de mieloma no secretoras de anticuerpo. Los *hibridomas* resultantes proporcionan una fuente rápida de anticuerpos monoclonales, que pueden ser producidos en cantidades ilimitadas contra cualquier antígeno deseado, tal como se vio en el Capítulo 4. En la actualidad pueden producirse cantidades ilimitadas de anticuerpos homogéneos mediante la tecnología del DNA recombinante.

## Las cadenas ligeras y las cadenas pesadas presentan regiones constantes y regiones variables<sup>10, 13</sup>

La comparación de las secuencias de aminoácidos de distintas proteínas de mieloma reveló un rasgo notable de importantes implicaciones genéticas. Tanto las cadenas pesadas como las cadenas ligeras tienen una secuencia variable en su extremo amino terminal y una secuencia constante en su extremo carboxilo terminal. Por ejemplo, al comparar las secuencias de aminoácidos de muchas cadenas  $\kappa$  diferentes de mieloma se observa que las mitades carboxilo terminales o son iguales o sólo muestran pequeñas diferencias, mientras que las mitades amino terminales son completamente diferentes. Por consiguiente, las cadenas ligeras tienen una **región constante** de aproximadamente 110 aminoácidos de longitud y una **región variable** del mismo tamaño. La región variable de las cadenas pesadas (en su extremo amino terminal) también tiene unos 110 aminoácidos de longitud, mientras que la región constante tiene unos 330 o 440 aminoácidos, dependiendo de la clase de inmunoglobulina de que se trate (Figura 23-30).



**Figura 23-30** Zonas variables y constantes de las cadenas de inmunoglobulina. Las cadenas ligeras y las cadenas pesadas de una molécula de Ig tienen distintas regiones constantes y variables.



**Figura 23-31 Regiones hipervariables del anticuerpo.** Dibujo altamente esquemático que ilustra cómo las tres regiones hipervariables de cada cadena ligera y pesada forman, en conjunto, el lugar de unión al antígeno de una molécula de anticuerpo. A veces a las regiones hipervariables se les denomina *regiones determinantes de la complementariedad*. La estructura tridimensional real de un lugar de unión al antígeno se muestra en la Figura 23-35.

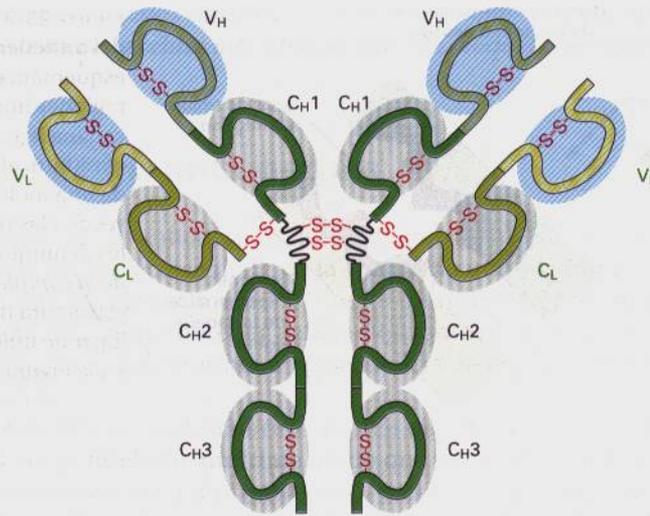
Los extremos amino terminales de las cadenas ligeras y de las cadenas pesadas son los que se unen entre sí formando el lugar de unión al antígeno (véase Figura 23-17), y la variabilidad de sus secuencias de aminoácidos constituye la base estructural de la diversidad de estos lugares de unión. La existencia de las regiones variable y constante en las moléculas de anticuerpo plantea importantes cuestiones genéticas que consideraremos más adelante. Antes de que fuera posible investigar directamente estas cuestiones genéticas, los estudios estructurales de las proteínas de mieloma revelaron otros rasgos importantes de la estructura de los anticuerpos.

### Las cadenas ligeras y las cadenas pesadas contienen tres regiones hipervariables cada una, que en conjunto forman el lugar de unión al antígeno<sup>17</sup>

El estudio detallado de las secuencias de aminoácidos de una gran diversidad de cadenas Ig muestra que la variabilidad de las regiones variables de las cadenas ligeras y pesadas está restringida en su mayor parte a tres pequeñas **regiones hipervariables** de cada cadena. Las restantes zonas de la región variable, conocidas como *regiones de almacén*, son relativamente constantes. Estos hallazgos condujeron a la predicción de que el lugar de unión al antígeno está formado por tan sólo los 5 a 10 aminoácidos de cada región hipervariable (Figura 23-31). Dicha predicción se confirmó más tarde gracias a estudios mediante difracción de rayos X de las moléculas de anticuerpo (véase más adelante). En relación con el tamaño del lugar de unión al antígeno de una molécula de anticuerpo, generalmente el determinante antigénico que es reconocido de forma específica por un anticuerpo es comparativamente más pequeño: por ejemplo puede ser de menos de unos 25 residuos de aminoácido de una proteína globular de superficie (véase Figura 23-35) y puede llegar a ser tan pequeño como un grupo dinitrofenol (véase Figura 23-7).

### Las cadenas ligeras y las cadenas pesadas están plegadas en dominios repetitivos similares<sup>10, 18</sup>

Tanto las cadenas ligeras como las cadenas pesadas están formadas por segmentos repetitivos—cada uno de ellos de una longitud de unos 110 aminoácidos y con enlaces disulfuro entre cisteínas de la misma cadena— que se pliegan independientemente formando unidades funcionales compactas, o **dominios**. Como muestra la Figura 23-32, una cadena ligera consta de un dominio variable ( $V_L$ ) y otro constante ( $C_L$ ), en cambio la mayoría de las cadenas pesadas constan de un dominio variable ( $V_H$ ) y tres dominios constantes ( $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$  y  $C_{H3}$ ). (Tanto las cadenas  $\mu$  como las cadenas  $\epsilon$  tienen un dominio variable y cuatro constantes.) Los dominios variables son los responsables de la unión al antígeno, mientras que



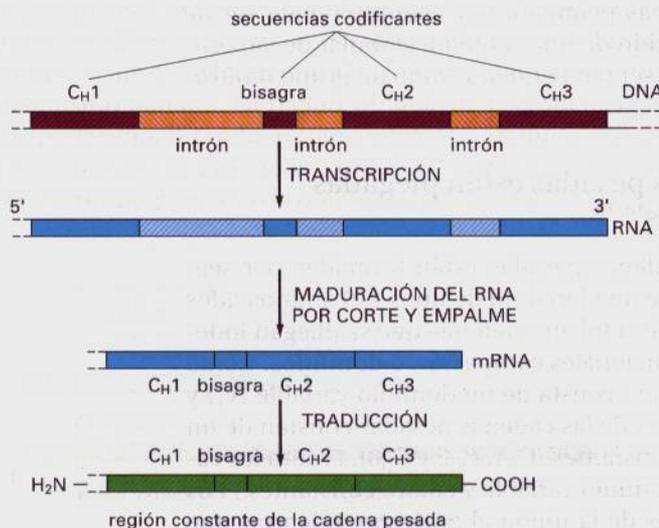
**Figura 23-32 Dominios de la inmunoglobulina.** Las cadenas ligeras y las cadenas pesadas de una molécula de Ig están plegadas en dominios repetitivos, que son parecidos entre sí. Las zonas variables (en azul) de las cadenas ligeras y de las cadenas pesadas ( $V_L$  y  $V_H$ ) forman los lugares de unión al antígeno, mientras que los dominios constantes de las cadenas pesadas (principalmente  $C_{H2}$  y  $C_{H3}$ ) determinan las otras propiedades biológicas de la molécula. Las cadenas pesadas de los anticuerpos IgM e IgE tienen un dominio constante adicional ( $C_{H4}$ ). Las interacciones hidrofóbicas entre los dominios de cadenas Ig adyacentes juegan un papel importante en mantener juntas las cadenas en la molécula de Ig: por ejemplo,  $C_L$  se une a  $C_{H1}$  y los dominios  $C_{H3}$  se unen entre sí.

los dominios constantes de las cadenas pesadas (excepto el  $C_{H1}$ ) forman la región Fc, la cual determina las demás propiedades biológicas del anticuerpo.

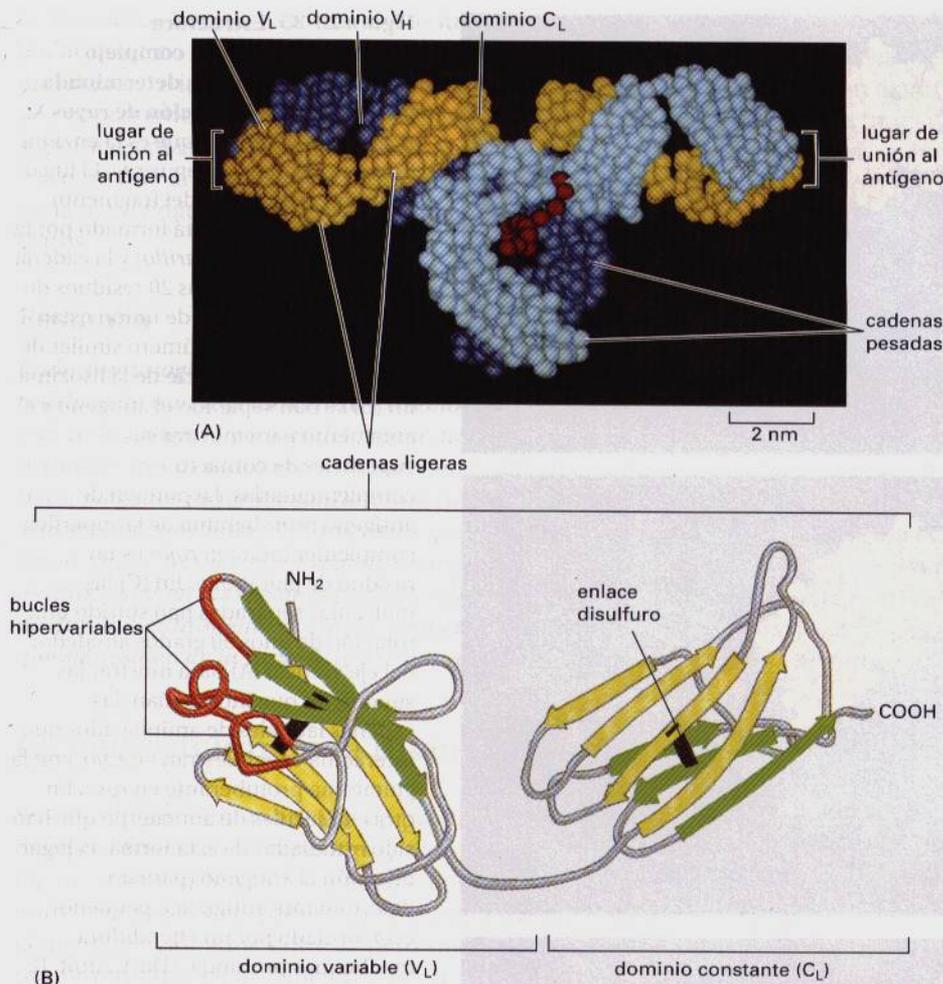
La similitud existente entre los diferentes dominios sugiere que probablemente las cadenas de Ig surgieron durante la evolución gracias a una serie de duplicaciones génicas, empezando con un gen primordial que codificaba un dominio de 110 aminoácidos de función desconocida. Esta hipótesis se ve confirmada por el descubrimiento de que cada dominio de la región constante de una cadena pesada está codificado por una secuencia codificadora aislada (exón) (Figura 23-33).

### Estudios por difracción de rayos X han revelado la estructura tridimensional de los dominios de las Ig y de sus lugares de unión al antígeno<sup>19</sup>

Aunque se conozca la secuencia completa de aminoácidos de una gran proteína, no es posible todavía deducir su estructura tridimensional; generalmente hay que realizar estudios por difracción de rayos X sobre proteínas cristalizadas. Se han cristalizado varios fragmentos tanto de proteína de mieloma como de anticuerpos, así como de una molécula intacta de IgG, y los estudios sobre su estructura por rayos X han confirmado las predicciones de los inmunoquímicos. Lo



**Figura 23-33 Organización de las secuencias de DNA que codifican la región constante de una cadena pesada de Ig.** Las secuencias codificantes (exones) de cada dominio y de la región bisagra están separadas por secuencias no codificantes (intrones). Las secuencias intrónicas se eliminan mediante la maduración de los transcritos primarios de RNA, que da lugar al mRNA. Se cree que la presencia de intrones en la secuencia de DNA puede haber facilitado las duplicaciones accidentales de segmentos de DNA que, en el transcurso de la evolución, han dado lugar a los genes de los anticuerpos (se discute en el Capítulo 8). Las secuencias de DNA y de RNA que codifican la región variable de la cadena pesada no se muestran en la figura.

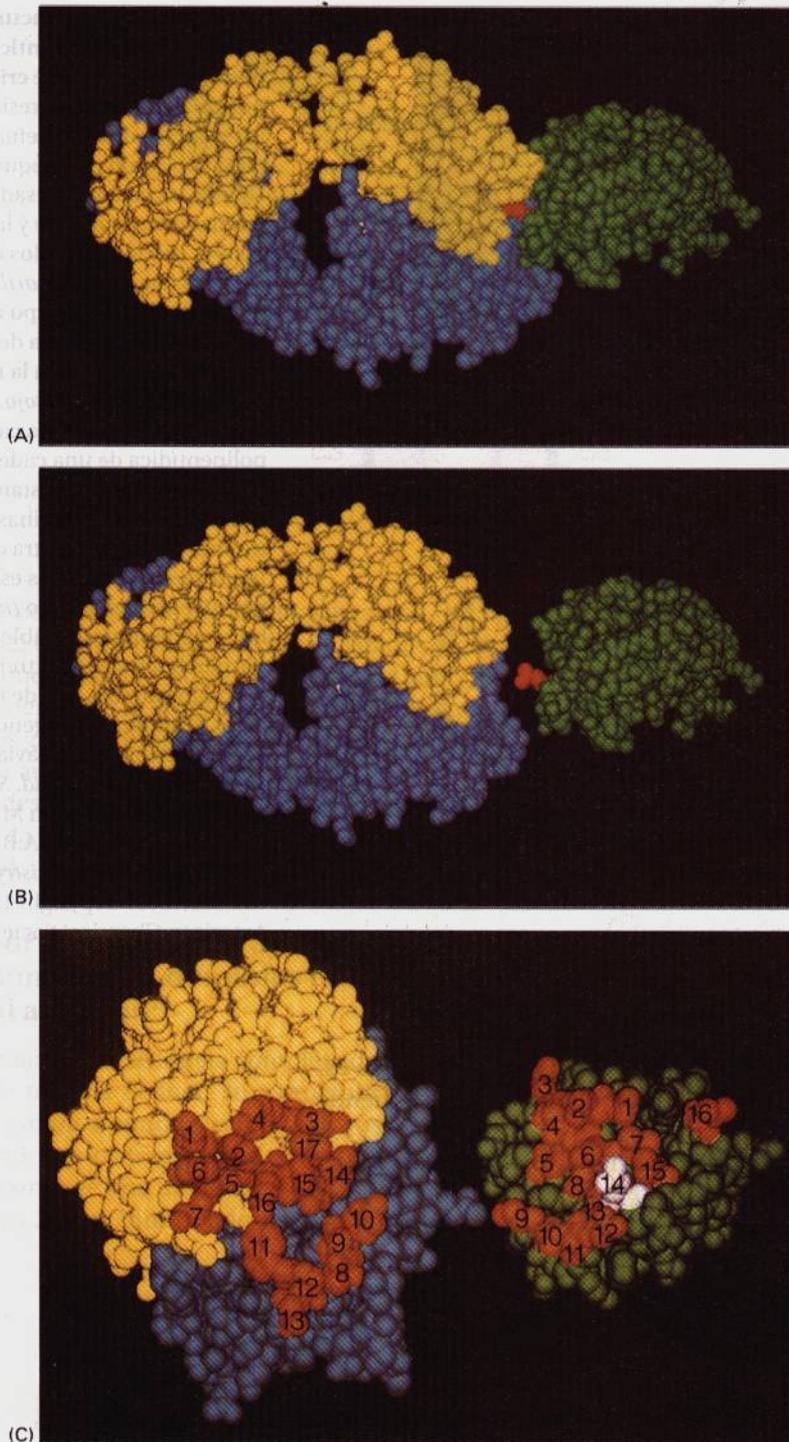


**Figura 23-34** La estructura plegada de una molécula de anticuerpo IgG, basada en estudios de cristalografía por rayos X. (A) Cada residuo de aminoácido de la proteína se ha dibujado como una pequeña esfera. Una de las cadenas pesadas se ha dibujado en azul claro y la otra en azul oscuro, con los dominios de las cadenas ligeras en amarillo. Todas las moléculas de anticuerpo están glucosiladas: la cadena de oligosacáridos unida a la región C<sub>H</sub>2 está representada en rojo. (B) Configuración de la cadena polipeptídica de una cadena ligera. Las regiones variable y constante están formadas por dos láminas β—una con tres hebras (verde) y otra con cuatro (amarillo). Las láminas están unidas por un enlace disulfuro (negro). Todas las regiones hipervariables (rojo) forman bucles en el extremo distal del dominio variable, donde forman el lugar de unión al antígeno. (A, según E.W. Silverton, M.A. Navia y D.R. Davies, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 75:5140, 1977; B, según M. Schiffer, R.L. Girling, K.R. Ely y A.B. Edmundson, *Biochemistry* 12:4620, 1973. Copyright 1973 American Chemical Society.)

que todavía es más importante, estos estudios han revelado la forma en que están construidos millones de lugares diferentes de unión al antígeno, siguiendo un patrón estructural común.

Tal como se ilustra en la Figura 23-34, cada dominio de las Ig tienen estructuras tridimensionales muy similares, basadas en lo que ahora se denomina el **plegamiento de las inmunoglobulinas**. A grandes rasgos, cada dominio es un cilindro (de 4 × 2,5 × 2,5 nm) compuesto por un “bocadillo” de dos capas proteicas extendidas: una capa contiene tres hebras de cadena polipeptídica mientras que la otra contiene cuatro hebras. En cada capa las hebras adyacentes son anti-paralelas y forman una lámina β. Las dos capas son más o menos paralelas y están conectadas entre sí por un único enlace disulfuro intracatenario. Veremos más adelante que muchas otras proteínas de la superficie de los linfocitos y de otras células, muchas de las cuales actúan como moléculas de adhesión célula-célula (estudiadas en el Capítulo 19) contienen dominios similares y por tanto son miembros de un amplio número de proteínas de la *superfamilia de las inmunoglobulinas*.

Los dominios variables de las moléculas de Ig presentan la característica propia de tener su conjunto particular de tres regiones hipervariables, que se disponen en *tres bucles hipervariables* (véase Figura 23-34B). Tal como se había predicho, los bucles hipervariables de los dominios variables ligero y pesado están agrupados formando un lugar de unión al antígeno. Un principio importante que se deduce de estos estudios es que la región variable de una molécula de anticuerpo consta de una estructura rígida altamente conservada, con unos bucles hipervariables unidos entre sí en uno de los extremos. Por consiguiente, es posible generar una enorme diversidad de lugares de unión al antígeno cam-



**Figura 23-35 Estructura tridimensional de un complejo antígeno-anticuerpo, determinada por análisis de difracción de rayos X.** El antígeno proteico, que es la enzima lisozima, se muestra en *verde*. El lugar de unión al antígeno del fragmento Fab del anticuerpo está formado por la cadena ligera (en *amarillo*) y la cadena pesada (en *azul*). Unos 20 residuos de aminoácido del lugar de unión están en contacto con un número similar de residuos de la superficie de la lisozima. En (B) se han separado el antígeno y el anticuerpo para mostrar sus superficies de contacto complementarias. La porción de antígeno protuberante de la superficie complementaria (en *rojo*) es un residuo de glutamina. En (C) las moléculas separadas han sufrido una rotación de unos 90 grados alrededor del eje vertical (A) para mostrar las superficies que interactúan; las cadenas laterales de aminoácidos que interactúan se muestran en *rojo*, con la glutamina protuberante en *rosa*. En otras moléculas de anticuerpo que han sido estudiadas de esta forma, el lugar de unión al antígeno (para un determinante antigénico pequeño) está formado por una hendidura mucho más profunda. (De A. Amit, R. Mariuzza, S. Phillips, y R. Poljak, *Science* 233:747-753, 1986. Copyright 1986 por AAAS.)

biando sólo la longitud y la secuencia de aminoácidos de los bucles hipervariables, sin alterar la estructura tridimensional global necesaria para la función del anticuerpo.

El análisis por rayos X de cristales de fragmentos de anticuerpo unidos a un antígeno o a un determinante antigénico ha revelado con exactitud de qué forma cooperan, en determinados casos, los bucles hipervariables de los dominios variables ligero y pesado entre sí formando la superficie de unión al antígeno (Figura 23-35). Las dimensiones y la forma de cada lugar diferente varían según la conformación de la cadena polipeptídica de los bucles hipervariables la cual, a su vez, viene determinada por la secuencia de aminoácidos de las cadenas la-

terales de los bucles. La forma de los lugares de unión varían mucho dependiendo del anticuerpo –desde hendiduras, hasta surcos que se adaptan a las superficies ondulantes, e incluso protuberancias. Los ligandos más pequeños tienden a unirse a depresiones poco profundas, mientras que los más grandes tienden a unirse a superficies más accidentadas. Además, los lugares de unión pueden alterar su forma para que la unión con el antígeno pueda encontrar mejor al ligando. Así pues, en la actualidad los principios generales de la estructura de los anticuerpos están claros.

## Resumen

***Cada inmunoglobulina ligera y pesada consta de una región variable de unos 110 residuos de aminoácidos en su extremo amino terminal y de una región constante, que en la cadena ligera es del mismo tamaño que la región variable y en la cadena pesada es tres o cuatro veces mayor. Cada cadena está formada por dominios repetitivos, plegados de forma similar: una cadena ligera tienen una región variable ( $V_L$ ) y una región constante ( $C_L$ ), mientras que las cadenas pesadas tienen una región variable ( $V_H$ ) y tres o cuatro regiones constantes ( $C_H$ ). La variación de la secuencia de aminoácidos en las regiones variables de las cadenas ligeras y pesadas está restringida fundamentalmente a varias pequeñas regiones hipervariables; forman bucles que sobresalen de la superficie y se juntan formando el lugar de unión al antígeno.***

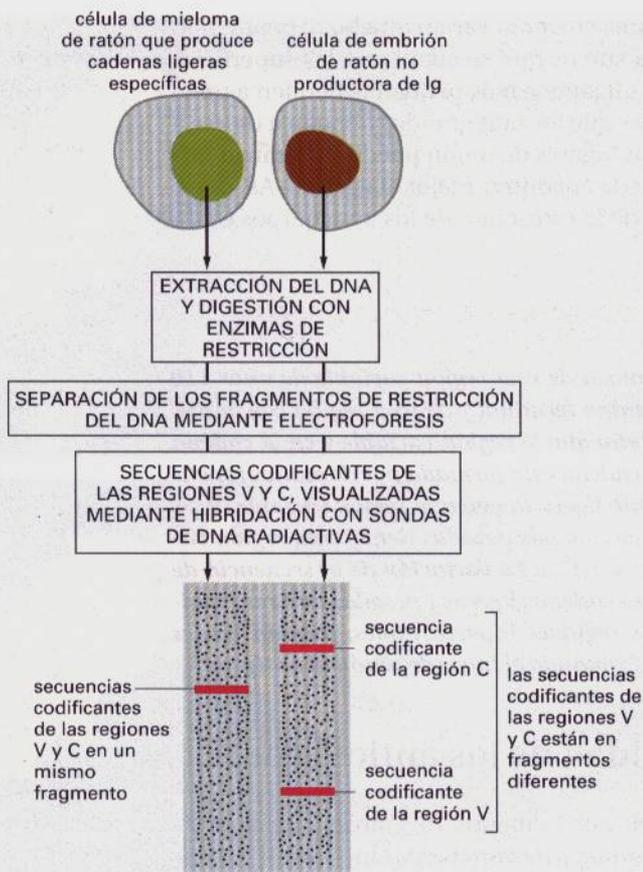
## La generación de la diversidad de los anticuerpos

Se estima que el hombre puede producir por lo menos  $10^{15}$  moléculas de anticuerpo diferentes –su *repertorio preinmunitario de anticuerpos* incluso en ausencia de estimulación por antígenos. Los lugares de unión al antígeno de muchos anticuerpos pueden presentar reacción cruzada con varios determinantes antigénicos relacionados entre sí pero diferentes, y por lo que parece el repertorio preinmunitario es lo suficientemente amplio como para asegurar que siempre haya un lugar de unión a antígeno que encaje con un determinante antigénico potencial cualquiera, aunque esta unión sea de baja afinidad.

Los anticuerpos son proteínas, y las proteínas están codificadas por genes. Por consiguiente, la diversidad de los anticuerpos plantea un problema genético particular: ¿cómo puede un animal producir más anticuerpos que genes hay en su genoma? (Se cree que el genoma humano, por ejemplo, contiene menos de  $10^5$  genes.) Este problema no es tan formidable como podría parecer a primera vista. Debido a que las regiones variables de las cadenas ligeras y pesadas contribuyen al lugar de unión al antígeno, un animal con 1000 genes que codifiquen cadenas ligeras y 1000 genes que codifiquen cadenas pesadas podrían combinar sus productos de  $1000 \times 1000$  maneras diferentes formando  $10^6$  lugares de unión distintos (asumiendo que cualquier cadena ligera puede combinarse con cualquier cadena pesada formando un lugar de unión al antígeno). Sin embargo, el sistema inmunitario de los mamíferos ha desarrollado mecanismos genéticos únicos que lo capacitan para generar un número casi ilimitado de cadenas ligeras y de cadenas pesadas diferentes de una forma altamente económica, fusionando *segmentos génicos* separados antes de que sean transcritos. Las aves y los peces utilizan estrategias muy diferentes para diversificar los anticuerpos, pero centraremos nuestra discusión en los mecanismos que utilizan los mamíferos.

## Durante el desarrollo de las células B, los genes de los anticuerpos se ensamblan a partir de segmentos génicos aislados<sup>20</sup>

La primera evidencia directa de que el DNA se reordena durante el desarrollo de las células B procede de experimentos realizados en 1976, en los cuales se comparó el DNA de embriones tempranos de ratón que no producen anticuerpos, con el DNA de una línea celular de mieloma de ratón que sí los produce. Los experimen-



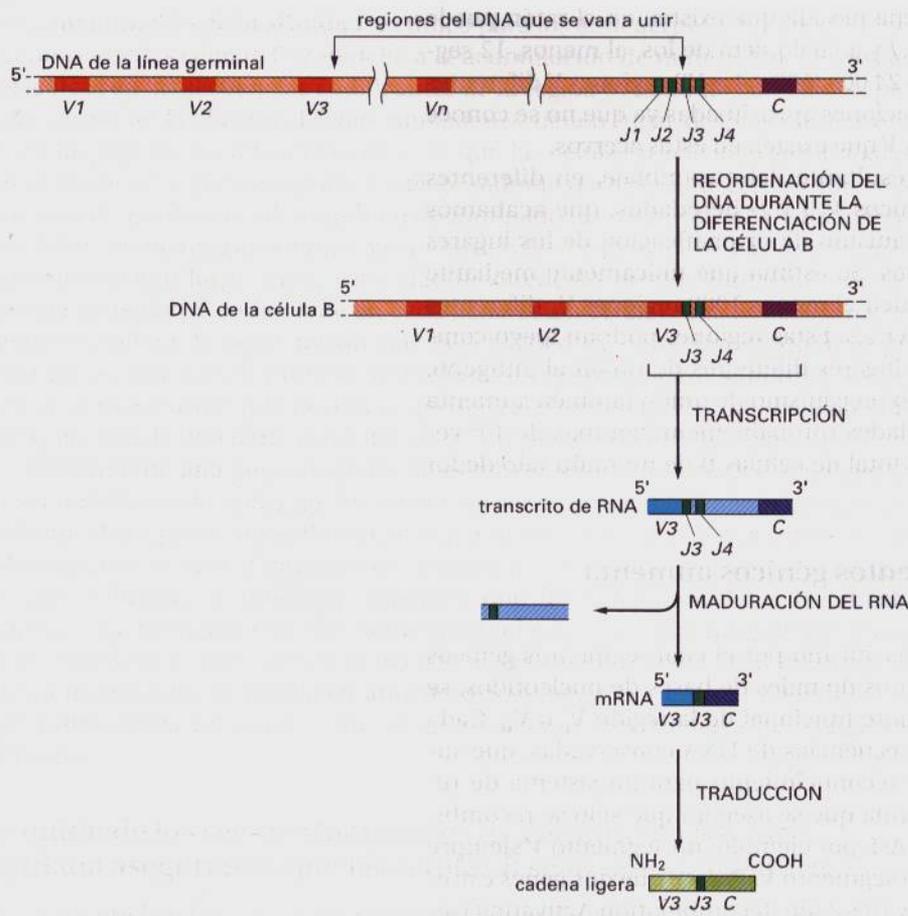
**Figura 23-36 Experimento que demostró directamente la reordenación del DNA durante el desarrollo de la célula B.** Las dos sondas radiactivas utilizadas eran específicas de las secuencias de DNA codificantes de la región C y de la región V de la cadena ligera del mieloma.

tos mostraron que las secuencias codificantes específicas de la región variable (V) y de la región constante (C) utilizadas por las células del mieloma estaban presentes en el mismo fragmento de restricción de DNA en las células de mieloma pero no en dos fragmentos de restricción distintos de los embriones, lo cual demostraba que las secuencias de DNA que codifican una molécula de anticuerpo se reordenan en alguna fase de la diferenciación de las células B (Figura 23-36).

Actualmente se sabe que existe un acervo diferente de **segmentos génicos** para cada uno de los tipos de cadenas de Ig —cadenas ligeras  $\kappa$ , cadenas ligeras  $\lambda$  y cadenas pesadas— a partir del cual se sintetiza una única cadena polipeptídica. Cada acervo se halla en un cromosoma diferente y normalmente contiene un gran número de segmentos génicos codificantes de la región V de una cadena de Ig y un menor número de segmentos génicos codificantes de la región C. Durante el desarrollo de la célula B, para cada una de las dos cadenas de Ig a sintetizar se ensambla una secuencia codificante completa por recombinación específica de lugar (se estudia en el Capítulo 6), juntando la secuencia codificante de la región V con la secuencia codificante de la región C. Además de reunir los segmentos génicos individuales del gen que codifica un anticuerpo, estas reordenaciones también activan la transcripción a partir del gen promotor mediante cambios en las posiciones relativas de las secuencias activadoras y silenciadoras que actúan sobre el promotor. Así, una cadena completa de Ig sólo puede sintetizarse después de que haya ocurrido una reordenación génica. Como veremos, el proceso de reunión de los segmentos génicos contribuye a la diversidad de los lugares de unión al antígeno de varias maneras.

### Cada región V está codificada por más de un segmento génico<sup>21</sup>

Cuando se analizaron las secuencias de DNA genómico que codifican las regiones V y C, se encontró que la región C está codificada por un solo **segmento gé-**



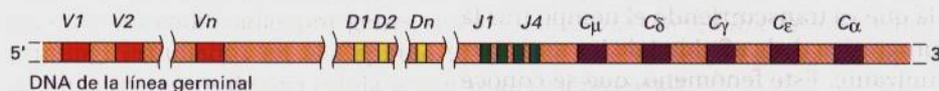
**Figura 23-37** Proceso de unión V-J que participa en la producción de una cadena ligera  $\kappa$  en el ratón. En el DNA de la "línea germinal" (en la que los genes de las inmunoglobulinas no se expresan y por consiguiente no se reordenan), el grupo de los cuatro segmentos génicos  $J$  está separado del segmento génico  $C$  por un corto intrón, y separado de los aproximadamente 300 segmentos génicos  $V$ , por varios pares de nucleótidos. Durante el desarrollo de la célula B, el segmento génico  $V$  elegido ( $V3$  en este caso) se desplaza quedando exactamente junto a uno de los segmentos génicos  $J$  ( $J3$  en este caso). El gen  $J$  "extra" ( $J4$ ) y la secuencia intrónica se transcriben (junto con los segmentos génicos unidos  $V3$ ,  $J3$  y  $C$ ) y luego son eliminados durante la maduración del RNA, generando moléculas de mRNA en las cuales las secuencias  $V3$ ,  $J3$  y  $C$  son contiguas. Luego, estos mRNA se traducen a cadenas ligeras  $\kappa$ . Un segmento génico  $J$  codifica unos 15 aminoácidos del extremo carboxilo terminal de la región  $V$ , y la unión de los segmentos  $V$ - $J$  coincide con la tercera región hipervariable de la cadena ligera.

El segmento  $C$  de una cadena Ig, mientras que cada una de las regiones  $V$  están codificadas por uno o dos segmentos génicos. Cada una de las regiones  $V$  de una cadena ligera está codificada por una secuencia de DNA ensamblada a partir de dos fragmentos génicos –un segmento génico  $V$  largo y un segmento de unión corto, o segmento génico  $J$  (no confundir con la proteína cadena  $J$ , véase Figura 23-19), codificado en otro lugar del genoma. La Figura 23-37 ilustra los mecanismos genéticos que participan en la producción de un polipéptido de una cadena ligera intacta a partir de segmentos génicos  $V$ ,  $J$  y  $C$  separados.

Cada región  $V$  de una cadena pesada está codificada por una secuencia de DNA ensamblada a partir de tres segmentos génicos –un segmento  $V$ , un segmento  $J$  y un segmento de diversidad o segmento génico  $D$ . La Figura 23-38 muestra la organización de los segmentos génicos implicados en la producción de cadenas pesadas.

El elevado número de segmentos génicos  $V$ ,  $J$  y  $D$  heredados que son disponibles para la codificación de las cadenas de Ig contribuye substancialmente por sí mismo a la diversidad de los anticuerpos, pero la unión combinatoria de estos segmentos (denominada **diversificación combinatoria**) aumenta ampliamente esta contribución. Por ejemplo, cualquiera de los aproximadamente 300 segmentos  $V$  del acervo de segmentos génicos de la cadena ligera  $\kappa$  que existen en el ratón, puede unirse a cualquiera de los 4 segmentos  $J$  (véase Figura 23-37), de forma que a partir de este acervo se pueden formar al menos 1200 ( $300 \times 4$ ) regiones  $V$  diferentes de cadena  $\kappa$ . De forma similar, cualquiera de los aproximadamente

**Figura 23-38** El conjunto de segmentos génicos de la cadena pesada en el ratón. Se cree que el ratón contiene entre 100 y 1000 segmentos  $V$ , al menos 12 segmentos  $D$ , 4 segmentos  $J$  y un grupo ordenado de segmentos  $C$ , cada uno de los cuales codifica una clase diferente de cadenas pesadas. El segmento  $D$  codifica los aminoácidos de la tercera región hipervariable de la región  $V$ , que forma parte del segmento  $J$ . La figura no ha sido dibujada a escala. Por ejemplo, los segmentos génicos  $J1$  y  $C\alpha$  se hallan separados por unos 200 000 pares de nucleótidos. Además se han omitido muchos detalles: por ejemplo, existen cuatro segmentos génicos  $C\gamma$  ( $C\gamma1$ ,  $C\gamma2a$ ,  $C\gamma2b$  y  $C\gamma3$ ); cada segmento génico  $C$  está compuesto por múltiples exones (véase Figura 23-33); y los segmentos génicos  $V_H$  están agrupados en el cromosoma en conjuntos de familias homólogas. Los mecanismos genéticos implicados en la producción de una cadena pesada son los mismos que los que se muestran en la Figura 23-37 para las cadenas ligeras, con la excepción de que en este caso se necesitan dos etapas en la reordenación del DNA en lugar de una: primero, un segmento  $D$  se une a un segmento  $J$ , y luego un segmento  $V$  se une a los segmentos  $DJ$  reordenados.



500 segmentos *V* del acervo de la cadena pesada que existen en el ratón puede unirse a cualquiera de los 4 segmentos *J* y a cualquiera de los, al menos, 12 segmentos *D*, para codificar como mínimo 24 000 ( $500 \times 4 \times 12$ ) regiones *V* diferentes de cadena pesada. Éstas son sólo estimaciones aproximadas ya que no se conoce el número exacto de segmentos génicos *V* que existen en estos acervos.

La diversificación combinatoria resultante del ensamblaje, en diferentes combinaciones, de los segmentos génicos *V*, *J* y *D* heredados, que acabamos de ver, constituye un importante mecanismo de diversificación de los lugares de unión al antígeno de los anticuerpos. Se estima que únicamente mediante este mecanismo, un ratón podría producir al menos 1000 regiones  $V_L$  diferentes y del orden de 25 000 regiones  $V_H$  diferentes. Estas regiones podrían luego combinarse entre sí produciendo  $25 \times 10^6$  lugares diferentes de unión al antígeno. Además, como veremos ahora, el propio mecanismo de unión también aumenta ampliamente este número de posibilidades (probablemente en más de  $10^8$  veces), haciéndolo mayor que el número total de células B de un ratón (alrededor de  $5 \times 10^8$ ).

### La unión imprecisa de los segmentos génicos aumenta la diversidad de las regiones $V^{21,22}$

Todavía no se conoce con detalle el mecanismo por el cual segmentos génicos que pueden estar alejados entre sí cientos de miles de bases de nucleótidos, se unen formando una secuencia codificante funcional de la región  $V_L$  o  $V_H$ . Cada segmento génico está flanqueado por secuencias de DNA conservadas, que supuestamente actúan como centros de reconocimiento para un sistema de recombinación específica de lugar, de forma que se asegura que sólo se recombinen los segmentos génicos adecuados. Así, por ejemplo, un segmento *V* siempre se unirá a un segmento *J* o *D* y no a otro segmento *V*. Parece que dos genes estrechamente ligados, denominados *rag-1* y *rag-2* (de Recombination Activating Genes, genes activadores de recombinación) codifican las proteínas específicas de los linfocitos del sistema de recombinación *V(D)J*. Así, si se transfecta un fibroblasto con ambos tipos de genes, se puede conseguir experimentalmente una reordenación de segmentos génicos Ig introducidos, lo suficiente para que la célula B se desarrolle normalmente. Además, los ratones transgénicos que son deficientes en ambos genes son incapaces de iniciar reordenaciones *V(D)J* y en consecuencia no poseen ni células B ni células T funcionales. (Las células T utilizan una reordenación similar para ensamblar los genes que codifican sus receptores específicos de antígenos.)

En la mayoría de los casos de recombinación específica de lugar, la unión del DNA es precisa, pero durante la unión de los segmentos génicos del anticuerpo (y del receptor de la célula T), a menudo se pierde un número variable de nucleótidos de los extremos de los segmentos de recombinación y, en el caso de la cadena pesada, se pueden insertar uno o más nucleótidos, elegidos de forma aleatoria. Esta pérdida y ganancia de nucleótidos en los sitios de unión [denominada **diversificación de empalme** (junctional diversification)] aumenta enormemente la diversidad de las secuencias codificantes de la región *V* creadas por recombinación, específicamente en la tercera región hipervariable. En este caso, el incremento de la diversificación cuesta un precio ya que, en muchas ocasiones, producirá un corrimiento de la pauta de lectura de forma que se producirá un gen no funcional; habitualmente, en el desarrollo de las células B se producen uniones "improductivas" de este tipo.

### La hipermutación somática dirigida por el antígeno acaba de afinar las respuestas de anticuerpos<sup>23</sup>

Tal como vimos anteriormente, a medida que va transcurriendo el tiempo tras la inmunización se produce un aumento progresivo de la afinidad de los anticuerpos producidos contra el antígeno inmunizante. Este fenómeno, que se conoce

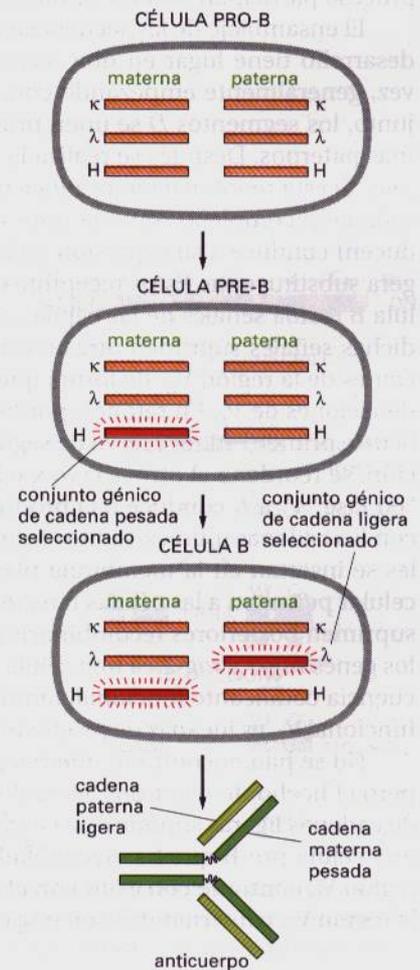
como **maduración de la afinidad**, es único para los anticuerpos (no ocurre en los receptores de las células T) y se debe a la acumulación de mutaciones puntuales específicas en las secuencias codificantes de la región V, tanto de las cadenas pesadas como de las ligeras. Dichas mutaciones tienen lugar después de ensamblarse las regiones codificantes, una vez que las células B han sido estimuladas por el antígeno y por las células T colaboradoras para generar células con memoria en el centro activado (también denominado *centro germinal*) de un folículo linfóide, en un órgano linfóide secundario (véase Figura 23-8). Las mutaciones puntuales tienen lugar a una velocidad de alrededor de una mutación por secuencia de región V codificante en cada generación celular, que es aproximadamente un millón de veces mayor que la velocidad de mutación espontánea en otros genes; por eso, el proceso se denomina **hipermutación somática**. No se conoce el mecanismo que posibilita que los cambios de nucleótidos puedan dirigirse al DNA de una parte especificada de forma precisa del genoma.

Únicamente una pequeña parte de estas mutaciones puntuales se reflejarán en los receptores de antígeno, los cuales presentarán un incremento de la afinidad para el antígeno. Sin embargo, el bajo número de células B que expresen estos receptores de alta afinidad serán estimuladas preferentemente por el antígeno para sobrevivir y proliferar, mientras que las restantes células B sufrirán muerte celular programada. Así, como resultado de ciclos repetidos de hipermutación somática y selección de antígenos dirigidos, en el transcurso de una respuesta inmunitaria se producen anticuerpos de elevada y creciente afinidad, lo cual proporciona una protección progresivamente mejor contra los antígenos agresores.

### La unión de los segmentos génicos de los anticuerpos está regulada asegurando que las células B sean monoespecíficas<sup>24</sup>

Tal como predice la teoría de la selección clonal, las células B son *monoespecíficas*. O sea, todos los anticuerpos que produce una célula B poseen lugares de unión al antígeno iguales. Esto garantiza que los lugares de unión al antígeno de algunas moléculas de anticuerpo sean idénticos y, por tanto, que los anticuerpos segregados puedan formar grandes redes de antígenos entrecruzados, que de este modo provocan la eliminación del antígeno (véase Figura 23-15). Esto también asegura que una célula activada segregue anticuerpos con una especificidad similar a la de los anticuerpos unidos a la membrana de las células B que se habían estimulado inicialmente.

La necesidad de monoespecificidad significa que debe existir algún mecanismo que asegure que, cuando los genes de las Ig se activan durante el desarrollo de una célula B, cada una de dichas células B produzca un sólo tipo de región  $V_L$  y un sólo tipo de región  $V_H$ . Las células B, como otras células somáticas, son diploides, por lo que cada célula tiene seis acervos de segmentos génicos codificantes de anticuerpos: dos acervos de genes de cadena pesada (uno de cada progenitor) y cuatro acervos de cadena ligera (uno  $\kappa$  y otro  $\lambda$  de cada progenitor). Si las reordenaciones del DNA ocurren independientemente en cada uno de los acervos de cadena pesada y de cadena ligera; una sola célula podría producir hasta ocho anticuerpos diferentes, cada uno de los cuales tendría un lugar distinto de unión al antígeno. Sin embargo, cada célula B sólo utiliza dos de los seis acervos de segmentos génicos: uno de los cuatro acervos de genes de cadena ligera y uno de los dos acervos de genes de cadena pesada. Así, cada célula B debe escoger, no sólo entre los acervos de cadena ligera,  $\kappa$  y  $\lambda$ , sino también entre sus acervos materno y paterno de genes de cadena ligera y de cadena pesada (Figura 23-39). Este tipo de elección, se denomina **exclusión alélica** y parece que únicamente ocurre en los genes codificantes de anticuerpos (y los de receptores de células T). Para otras proteínas codificadas por genes autosómicos [excepto para las que son codificadas por genes sujetos a actividad heredable (genomic imprinting) estudiados en el Capítulo 9], parece que tanto los genes maternos como los paternos de una célula se expresan casi por igual.



**Figura 23-39 Desarrollo de una célula B.** Este esquema muestra las selecciones secuenciales de la activación de los genes de Ig que deben realizar las células B para producir anticuerpos con un solo tipo de lugar de unión al antígeno. Se cree que la selección entre los conjuntos de segmentos génicos materno y paterno ha de ser al azar.

Todavía no conocemos el mecanismo de exclusión alélica y la elección del tipo de cadena ligera,  $\kappa$  o  $\lambda$ , que se produce durante el desarrollo de la célula B. Una posibilidad reside en que las células B son mono-específicas, simplemente debido a que la probabilidad de que una serie de reordenaciones se den en más de un conjunto de genes para cada cadena Ig es muy baja. Sin embargo, éste no constituye el único mecanismo, como resulta evidente de algunos tipos de *regulación por retroalimentación negativa* del sistema de recombinación V(D)J, por el que una reordenación funcional en un conjunto de segmentos génicos suprime las reordenaciones en los conjuntos restantes que codifican el mismo tipo de cadena polipeptídica. Por ejemplo, en los clones de células B aislados a partir de ratones transgénicos que expresan una reordenación del gen de la cadena  $\mu$ , la reordenación de los genes endógenos de la cadena pesada generalmente queda suprimida únicamente si la cadena  $\mu$  codificada por el transgén se inserta en la membrana plasmática. Se han obtenido resultados similares a éstos para las cadenas ligeras. Por consiguiente parece que para que actúe la retroalimentación negativa, el producto de un ensamblaje de genes de cadena pesada o ligera debe expresarse en la superficie celular, lo cual indica que en la regulación del proceso participan señales extracelulares.

El ensamblaje de las secuencias codificantes de la región V de una célula B en desarrollo tiene lugar en una secuencia ordenada, con un solo segmento cada vez, generalmente empezando con el acervo de la cadena pesada. En este conjunto, los segmentos  $D$  se unen primero a los segmentos  $J_H$  en ambos cromosomas paternos. Después se realiza la unión de  $V_H$  a  $DJ_H$  en uno de estos cromosomas. Si esta reordenación produce un gen funcional, la producción resultante de cadenas  $\mu$  completas (que siempre son las primeras cadenas pesadas que se producen) conduce a su expresión en la superficie celular asociada a una cadena ligera substituyente. Estos receptores de la superficie celular posibilitan que la célula B reciba señales de las células cercanas (denominadas *células del estroma*) y dichas señales suprimen otras reordenaciones de los segmentos génicos codificantes de la región  $V_H$ , de forma que puede incrementar la velocidad de las reordenaciones de  $V_L$ . En ratones, por lo menos, la reordenación de  $V_L$  generalmente ocurre primero en un acervo de segmentos génicos  $\kappa$ , y sólo si falla esta reordenación, se reordena el otro acervo  $\kappa$  o los acervos  $\lambda$ . Si en algún momento la unión "en fase"  $V_L$  a  $J_L$  conduce a la producción de cadenas ligeras, éstas se combinan con las cadenas  $\mu$  preexistentes formando moléculas de anticuerpo IgM, las cuales se insertan en la membrana plasmática. Los receptores IgM de la superficie celular permiten a las células B recién formadas recibir señales extracelulares que suprimen posteriores recombinaciones V(D)J por inactivación de la expresión de los genes *rag-1* y *rag-2*. Si una célula B en desarrollo no consigue ensamblar la secuencia codificante funcional, tanto de la región funcional  $V_H$  como de la región funcional  $V_L$ , es incapaz de producir moléculas de anticuerpo, y muere.

No se han encontrado diferencias biológicas entre las cadenas ligeras  $\kappa$  y  $\lambda$ , pero el hecho de tener dos acervos distintos de segmentos génicos codificantes de cadenas ligeras supone una ventaja obvia: aumenta las probabilidades de que una célula pre-B que ha ensamblado con éxito una secuencia codificante de la región  $V_H$  continúe con éxito con el ensamblaje de una secuencia codificante de la región  $V_L$ , convirtiéndose en una célula B.

### **Cuando las células B son estimuladas por un antígeno, pasan de la producción de anticuerpo ligado a la membrana a la producción de la forma segregada del mismo anticuerpo<sup>25</sup>**

De los mecanismos genéticos que determinan el lugar de unión al antígeno de un anticuerpo, pasemos ahora a los mecanismos que determinan sus propiedades biológicas –los responsables de la forma de la región constante de la cadena pesada que será sintetizada. La elección de los segmentos génicos particulares que codifican el lugar de unión al antígeno es irreversible durante toda la vida de una célula B y de su progenie, pero el tipo de región  $C_H$  producida cambia du-

rante el desarrollo de una célula B. Los cambios son de dos tipos: cambio de una forma ligada a membrana a una forma secretada de la misma región  $C_H$ , y cambios en la clase de región  $C_H$  producida.

Todas las clases de anticuerpos pueden producirse tanto en forma ligada a membrana como en forma soluble y secretada. La forma ligada a membrana actúa como un receptor para el antígeno en la superficie de la célula B, mientras que la forma soluble se produce sólo después de que la célula haya sido estimulada por un antígeno para convertirse en célula secretora de anticuerpos. La única diferencia entre ambas formas reside en el extremo carboxilo terminal de la cadena pesada: las cadenas pesadas de las moléculas de anticuerpo Ig ligadas a membrana, por ejemplo, tienen un extremo carboxilo hidrofóbico que las ancla en la bicapa lipídica de la membrana plasmática de la célula B mientras que las moléculas de Ig secretadas tienen un extremo carboxilo hidrofílico que les permite escapar de la célula. El paso al carácter de producción de moléculas de Ig tiene lugar debido a que la activación de las células B por el antígeno (y por las células T colaboradoras) induce un cambio en la forma en que se procesan los transcritos de RNA de Ig en el núcleo (véase Figura 9-78).

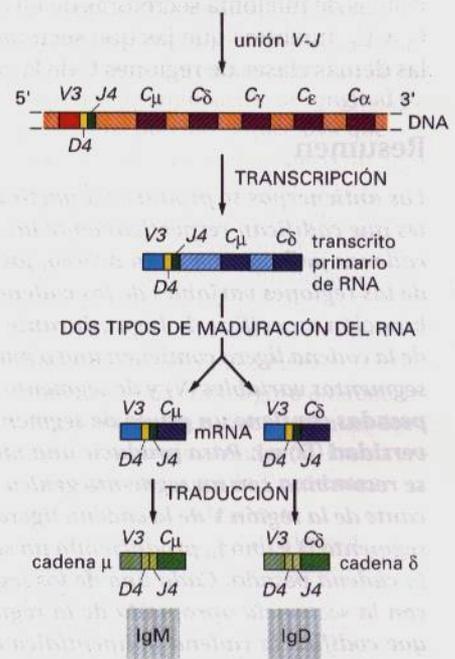
### Las células B pueden cambiar la clase de anticuerpo que producen<sup>26</sup>

Durante el desarrollo, muchas de las células B pasan de producir una determinada clase de anticuerpo a producir otra –proceso denominado **cambio de clase**. Todas las células B empiezan su vida de síntesis de anticuerpos produciendo moléculas de IgM, que insertan en la membrana plasmática donde actuarán de receptores para el antígeno. Antes de interactuar con el antígeno, muchas células B cambian y producen moléculas tanto de IgM como de IgD, las cuales actuarán como receptores de antígeno ligados a membrana. Tras la estimulación por el antígeno, algunas de estas células se activan y secretan anticuerpos IgM, que son los dominantes en la respuesta primaria de anticuerpos. Otras células estimuladas por el antígeno cambian y producen anticuerpos IgG, IgE o IgA; las células con memoria expresan una de estas tres clases de moléculas en su superficie, mientras que las células B activadas, las segregan. Las moléculas de IgG, IgE e IgA reciben colectivamente el nombre de clases *secundarias* de anticuerpo debido a que se cree que únicamente se producen después de la estimulación por el antígeno y porque dominan en las respuestas secundarias de anticuerpos. Como hemos visto, cada una de estas diferentes clases de anticuerpos se especializan en el ataque contra microorganismos mediante diferentes procesos y en lugares distintos.

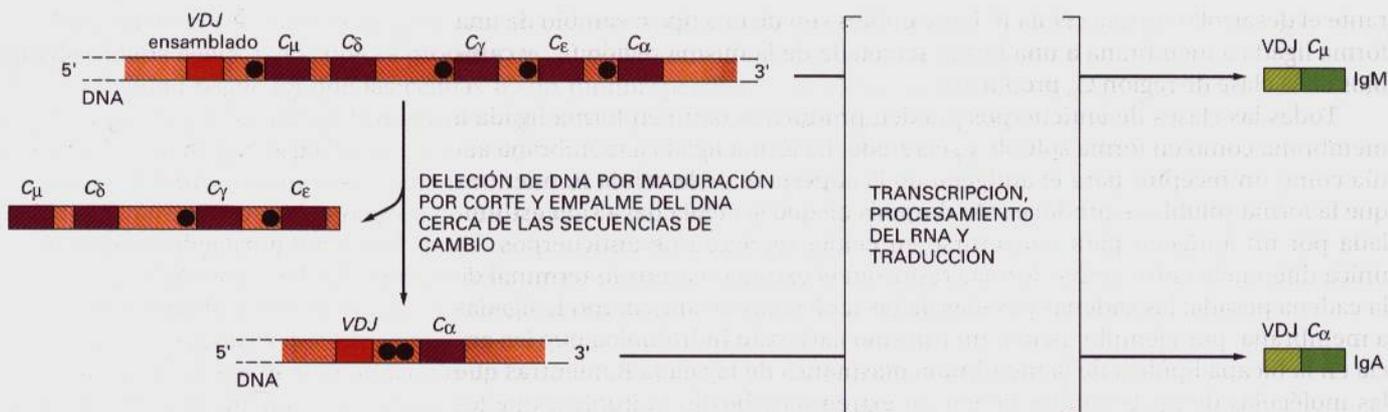
Como la clase de un anticuerpo viene determinada por la región constante de su cadena pesada, el hecho de que las células B puedan cambiar la clase de anticuerpo que producen sin alterar el lugar de unión al antígeno implica que una misma secuencia codificante de la región  $V_H$  (que especifica la zona de la cadena pesada que se une al antígeno) puede asociarse secuencialmente con diferentes segmentos génicos  $C_H$ . Ello supone importantes implicaciones funcionales. Significa que en un animal un lugar de unión al antígeno particular, seleccionado por antígenos ambientales, puede distribuirse entre las diferentes clases de inmunoglobulinas, adquiriendo de esta manera las propiedades biológicas propias de cada clase.

El cambio de clase sucede mediante dos mecanismos moleculares diferentes. Parece que cuando las células B vírgenes pasan de producir únicamente IgM ligada a membrana a producir simultáneamente IgM e IgD ligadas a membrana, el cambio es debido a un cambio en el procesamiento del RNA. Las células producen grandes transcritos primarios de RNA que contienen la secuencia codificante ensamblada de la región  $V_H$  junto con las secuencias  $C_\mu$  y  $C_\delta$ ; entonces se producen moléculas de IgM e IgD por maduración diferencial de estos transcritos de RNA (Figura 23-40).

Por el contrario, la maduración final a célula B activada que segrega una de las clases secundarias de anticuerpos está acompañada por un cambio irreversible



**Figura 23-40 Síntesis simultánea de IgM e IgD.** Las células B que producen simultáneamente moléculas de IgM y de IgD ligadas a la membrana plasmática, las cuales tienen los mismos lugares de unión al antígeno, producen transcritos largos que contienen las dos secuencias  $C_\mu$  y  $C_\delta$ . Estos transcritos maduran de dos maneras diferentes produciendo moléculas de mRNA que tienen la misma secuencia codificante de la región  $V_H$  ( $V3D4J4$ ) unida a una secuencia  $C_\mu$  o a una secuencia  $C_\delta$ .



ble a nivel de DNA –un proceso denominado *recombinación del cambio de clase* (*class switch recombination*). Ello supone la delección de todos los segmentos génicos  $C_H$  que se hallan en dirección 5' (si se considera la dirección sobre la hebra codificante) del segmento génico  $C_H$  particular que la célula está destinada a expresar (Figura 23-41). La evidencia de que esta etapa del cambio de clase implica la delección del DNA procede de experimentos realizados en células de mieloma: células de mieloma secretoras de IgG carecen del DNA codificante de las regiones  $C_\mu$  y  $C_\delta$ , mientras que las que secretan IgA carecen del DNA codificante de todas las demás clases de regiones C de la cadena pesada.

## Resumen

Los anticuerpos se producen a partir de tres acervos de segmentos génicos diferentes que codifican respectivamente las cadenas ligeras  $k$ , las cadenas ligeras  $\lambda$  y las cadenas pesadas. En cada acervo, los segmentos que codifican las distintas zonas de las regiones variables de las cadenas ligeras y pesadas se unen mediante recombinación específica de lugar durante la diferenciación de la célula B. Los acervos de la cadena ligera contienen uno o más segmentos génicos constantes (C) y grupos de segmentos variables (V) y de segmentos de unión (J). El acervo génico de las cadenas pesadas contiene un grupo de segmentos génicos C y grupos de segmentos V, de diversidad (D) y J. Para producir una molécula de anticuerpo, un segmento génico  $V_L$  se recombina con un segmento génico  $J_L$  produciendo una secuencia de DNA codificante de la región V de la cadena ligera; un segmento génico  $V_H$  se recombina con un segmento D y uno  $J_H$  produciendo una secuencia de DNA codificante de la región V de la cadena pesada. Cada uno de los segmentos génicos ensamblados se cotranscribe con la secuencia apropiada de la región C, dando lugar a una molécula de mRNA que codifica la cadena polipeptídica completa. Combinando de diversas maneras los segmentos génicos heredados que codifican las regiones  $V_L$  y  $V_H$ , los vertebrados puede producir miles de cadenas ligeras diferentes y miles de cadenas pesadas diferentes. Debido a que el lugar de unión al antígeno se forma donde se juntan  $V_L$  y  $V_H$  en el anticuerpo final, las cadenas ligeras y pesadas pueden asociarse formando anticuerpos con millones de lugares diferentes de unión al antígeno. Esta cifra se ve enormemente incrementada por la pérdida y la ganancia de nucleótidos en el lugar de unión de los segmentos génicos, así como por las mutaciones somáticas, que ocurren con una frecuencia muy elevada en el ensamblaje de secuencias codificantes de regiones V después de la estimulación por el antígeno.

Todas las células B producen inicialmente anticuerpos IgM. Algo más tarde pasan a producir anticuerpos de otras clases pero con el mismo lugar de unión al antígeno que tenían los anticuerpos IgM originales. Este cambio de clase permite que los mismos lugares de unión al antígeno se distribuyan entre anticuerpos con propiedades biológicas diferentes.

**Figura 23-41** Un ejemplo de la reordenación del DNA que sucede en la recombinación de cambio de clase.

Cuando una célula B que produce anticuerpos IgM a partir de una secuencia de DNA ensamblada VDJ es estimulada por el antígeno para madurar a una célula secretora de anticuerpos IgA, suprime el DNA entre la secuencia VDJ y el segmento génico  $C_\alpha$ . Las secuencias de DNA específicas (*secuencias de cambio*, que en la figura aparecen como *esferas negras*) se localizan en dirección 5' de cada segmento génico  $C_H$  (excepto  $C_\delta$ ), se recombinan entre sí suprimiendo el DNA intermedio. Se cree que el tipo de recombinación de cambio de clase está mediado por una *recombinasa de cambio*, que se dirige a las secuencias apropiadas de cambio cuando éstas se vuelven accesibles bajo la influencia de señales extracelulares (linfoquinas) segregadas por las células T colaboradoras, como veremos más adelante.

## Los receptores de las células T y sus subclases

Las diversas respuestas de las células T reciben el nombre colectivo de *reacciones inmunitarias mediadas por células*. Al igual que las respuestas por anticuerpos, son altamente específicas para el antígeno y son importantes para la defensa de los vertebrados contra la infección.

Sin embargo, las células T se diferencian de las células B en varios aspectos importantes. Primero, actúan únicamente en un radio limitado, interactuando directamente con otras células del cuerpo, a las que destruyen o señalan de algún modo (nos referiremos a dichas células como *células diana*); las células B, por el contrario segregan anticuerpos que pueden actuar a distancia. Segundo, las células T se especializan en el reconocimiento de un antígeno extraño únicamente cuando éste se localiza en la superficie de una célula diana. Por este motivo la forma de un antígeno reconocido por las células T es distinta del que reconocen las células B: mientras que las células B reconocen un antígeno intacto, las células T reconocen fragmentos peptídicos de proteínas antigénicas que han sido parcialmente degradadas en el interior de la célula diana y luego transportadas y expuestas sobre la superficie celular. De este modo las células T son capaces de detectar la presencia de microorganismos que proliferan en el interior de las células, así como de detectar antígenos extracelulares que han sido ingeridos por las células.

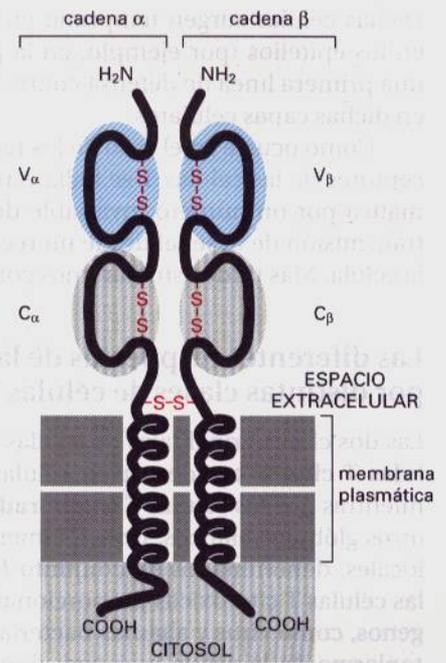
Existen dos clases principales de células T –células T citotóxicas y células T colaboradoras. Las *células T citotóxicas* destruyen directamente las células que han sido infectadas por un virus o algún otro microorganismo intracelular. Las *células T colaboradoras*, por el contrario, contribuyen a estimular las respuestas de otras células: por ejemplo, colaboran activando macrófagos y células B.

### Los receptores de la célula T son heterodímeros similares a los anticuerpos<sup>27</sup>

Debido a que las respuestas de las células T dependen del contacto directo con un célula diana, los receptores del antígeno producidos por las células T, a diferencia de los anticuerpos producidos por las células B, existen únicamente en la forma ligada a membrana y no son segregados. Por este motivo, resultó difícil aislar los receptores de las células T, y no fue hasta 1983 que se identificaron bioquímicamente por primera vez. Tanto en células T colaboradoras como en células T citotóxicas los receptores están compuestos por dos cadenas polipeptídicas (denominadas  $\alpha$  y  $\beta$ ) unidas entre sí por un enlace disulfuro, cada una de las cuales contiene dos dominios similares a Ig y comparte con los anticuerpos la propiedad característica de presentar una región amino terminal variable y una región carboxilo terminal constante (Figura 23-42).

Los conjuntos de genes codificantes de las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  se localizan en cromosomas diferentes y contienen, como los conjuntos génicos de los anticuerpos, segmentos génicos *V*, *D*, *J* y *C* separados, los cuales se juntan por recombinación específica de lugar durante el desarrollo de las células T en el timo. Con una sola excepción, todos los mecanismos utilizados por las células B para generar diversidad en sus receptores; en particular utilizan el mismo sistema de recombinación *V(D)J*, requiriéndose las proteínas codificadas por los genes *rag-1* y *rag-2* estudiados anteriormente. El mecanismo que al parecer no actúa en la génesis de diversidad de los receptores de la célula T es la hipermutación somática estimulada por el antígeno por lo que la afinidad de los receptores permanece baja ( $K_a \approx 10^4$  litros/mol) incluso en una respuesta inmunitaria avanzada. Más adelante estudiaremos cómo los mecanismos de adhesión intercelular no específicos del antígeno estrechan fuertemente la unión de una célula T a su célula diana, contribuyendo a compensar la baja afinidad de los receptores de la célula T.

Un número reducido de células T, en lugar de producir cadenas  $\alpha$  y  $\beta$ , producen un tipo de receptor heterodímero distinto, compuesto por cadenas  $\gamma$  y  $\delta$ .



**Figura 23-42 Un receptor heterodímero de una célula T.** El receptor está compuesto por una cadena polipeptídica  $\alpha$  y una  $\beta$ . Cada cadena tiene aproximadamente 280 residuos de aminoácido de longitud y posee una porción extracelular que está plegada en dos dominios con aspecto de Ig –uno variable (V) y el otro constante (C). Se cree que el sitio de unión al antígeno formado por un dominio  $V_\alpha$  y otro  $V_\beta$  (sombreados en azul) es similar en dimensiones y geometría globales al lugar de unión al antígeno de una molécula de anticuerpo. Sin embargo, a diferencia de los anticuerpos, que presentan dos lugares de unión al antígeno, los receptores de la célula T presentan uno sólo lugar de unión. El heterodímero  $\alpha/\beta$  mostrado está asociado de forma no covalente con un gran conjunto de proteínas invariables (no se muestran) que colaboran con la célula T activada cuando los receptores de la célula T se unen al antígeno. Una célula T típica tiene alrededor de 20 000 complejos receptores de este tipo en su superficie.

Dichas células surgen temprano en el desarrollo y se localizan principalmente en los epitelios (por ejemplo, en la piel y en el intestino), donde proporcionan una primera línea de defensa contra los microorganismos que intentan penetrar en dichas capas celulares.

Como ocurre en el caso de los receptores de antígeno en las células B, los receptores de las células T se halla estrechamente asociados a la membrana plasmática por un número invariable de proteínas, que se hallan implicadas en la transmisión de la señal desde un receptor activado por el antígeno al interior de la célula. Más tarde estudiaremos con más detalle estas proteínas.

## Las diferentes respuestas de las células T están mediadas por distintas clases de células T<sup>28</sup>

Las dos clases principales de células T poseen funciones muy diferentes. Las **células T citotóxicas** destruyen células que hospedan microorganismos nocivos, mientras que las **células T colaboradoras** contribuyen a activar las respuestas de otros glóbulos blancos, principalmente por la secreción de diversos mediadores locales, denominados en conjunto *linfoquinas*, *interleuquinas* o *citoquinas*. Así las células T citotóxicas proporcionan protección contra microorganismos patógenos, como virus y algunas bacterias intracelulares, que se multiplican en el citoplasma de la célula huésped, donde quedan resguardadas del ataque de los anticuerpos. La forma más eficiente de prevenir que tales microorganismos invadan dichas células es destruyendo las células infectadas antes de que puedan proliferar los microorganismos. Por el contrario, las células T colaboradoras son cruciales en la estimulación de respuestas frente a los microorganismos extracelulares y a sus productos tóxicos. Existen dos tipos de células T colaboradoras: las *células T<sub>H1</sub>*, que activan a los macrófagos para que destruyan los microorganismos que han ingerido, y las *células T<sub>H2</sub>*, que estimulan la proliferación y la secreción de anticuerpos de las células B.

Tanto las células T citotóxicas como las células T colaboradoras reconocen al antígeno en forma de fragmentos peptídicos que se generan a partir de la degradación de proteínas antigénicas extrañas en el interior de la célula diana, y ambos tipos, por tanto, dependen de la presencia de proteínas especiales de la célula diana que se unan a dichos fragmentos, transportándolos hasta la superficie celular, donde los presentan a las células T. Estas proteínas especiales se denominan *moléculas MHC* debido a que están codificadas por un complejo de genes denominado el *complejo principal de histocompatibilidad (MHC, de Major Histocompatibility Complex)*. Existen dos clases distintas de moléculas MHC que son estructural y funcionalmente distintas: las *moléculas MHC de clase I*, que presentan péptidos extraños a las células citotóxicas y las *moléculas MHC de clase II* que presentan péptidos extraños a las células colaboradoras. Antes de examinar los diferentes mecanismos con que se procesan las proteínas antigénicas para exhibirlas a los dos tipos de células T, debemos estudiar de forma más precisa las propias moléculas MHC, que juegan un papel muy importante en la inmunidad por células T.

## Resumen

**Existen por lo menos dos subclases funcionalmente distintas de células T: células T citotóxicas, que destruyen células infectadas, especialmente las que son infectadas por un virus, y células T colaboradoras, que contribuyen a activar tanto a las células B productoras de anticuerpos como a los macrófagos que ingieren y destruyen los microorganismos invasores. Ambos tipos de células T expresan receptores similares a los anticuerpos en su superficie celular, que están codificados por genes ensamblados a partir de segmentos génicos múltiples durante el desarrollo de la célula T en el timo. Estos receptores reconocen fragmentos de proteínas extrañas que se exhiben en la superficie de las células huésped asociadas con las moléculas MHC.**

## Las moléculas MHC y la presentación del antígeno a las células T<sup>29</sup>

Las moléculas MHC se reconocieron mucho antes de que se entendiese cuál era su función normal. Inicialmente se creyó que eran los antígenos diana principales en las **reacciones de trasplante**. Generalmente cuando se intercambian injertos de órganos entre individuos adultos de la misma especie (*aloinjertos*) o de especies diferentes (*xenoinjertos*), estos injertos son rechazados. En los años 1950, experimentos realizados con injertos de piel entre diferentes cepas de ratón demostraron que el *rechazo del injerto* es una respuesta inmunitaria frente a antígenos extraños de la superficie de las células injertadas. Más tarde se demostró que estas reacciones están mediadas principalmente por células T y que están dirigidas contra versiones genéticamente "extrañas" de las glucoproteínas de la superficie celular denominadas *moléculas de histocompatibilidad* ("histo" significa tejido). Con diferencia, las más importantes de estas moléculas son las de la familia de proteínas codificadas por el grupo de genes del **complejo principal de histocompatibilidad (MHC)**. Las moléculas MHC se expresan en todas las células de los vertebrados superiores. Su existencia se demostró por primera vez en ratones, recibiendo el nombre de *antígenos H-2* (antígenos de histocompatibilidad-2). En humanos, estas moléculas se denominan *antígenos HLA* (de Human-Leucocyte-Associated antigens) debido a que se describieron por primera vez en leucocitos.

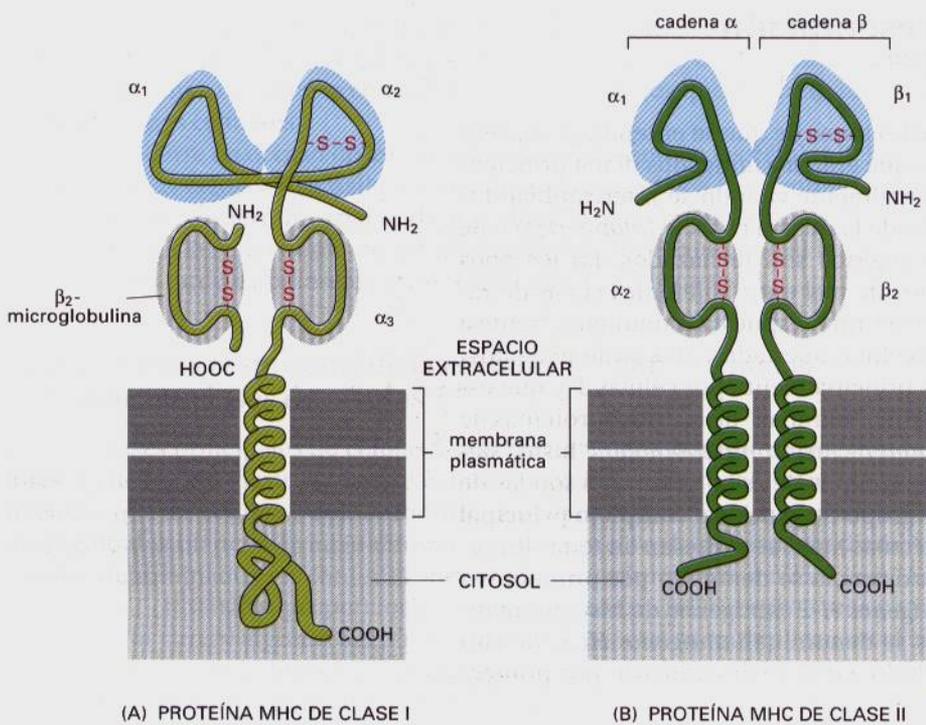
Tres propiedades notables de las moléculas MHC confundieron a los inmunólogos durante mucho tiempo. En primer lugar, las moléculas MHC son, con mucha diferencia, los antígenos diana preferidos de las reacciones de trasplante mediadas por células T. En segundo lugar, una fracción extraordinariamente grande de células T son capaces de reconocer las moléculas MHC extrañas: mientras que, por ejemplo, menos de un 0,001% de las células T de un individuo responden frente a un antígeno vírico típico, más del 0,1% de ellas responden frente a un antígeno MHC extraño. En tercer lugar, muchos de los loci que codifican las moléculas MHC son los más *polimórficos* que se conocen en vertebrados superiores; es decir, en una especie existe un número extraordinariamente grande de *alelos* (formas alternativas de un mismo gen) en cada locus (a menudo más de 100), cada uno de los cuales se presenta en una frecuencia relativamente alta en la población. Por esta razón, y debido a que cada individuo tiene cinco o más loci codificadores de moléculas MHC (véase más adelante), es raro que dos individuos posean conjuntos idénticos de proteínas MHC, lo cual hace muy difícil el emparejamiento de un donante y un receptor para el trasplante de órganos en humanos (excepto en el caso de gemelos genéticamente idénticos).

Un vertebrado no necesita protegerse de la invasión de células extrañas de vertebrados; por lo tanto, esta aparente obsesión de sus células T por las moléculas MHC extrañas y el acusado polimorfismo de estas moléculas constituía un gran rompecabezas para los inmunólogos. Este rompecabezas sólo se resolvió tras el descubrimiento de que las moléculas MHC actúan concentrando las células T sobre las células del huésped que presentan antígenos extraños en su superficie y que las células T responden a las moléculas MHC extrañas de la misma forma que a las moléculas MHC propias que poseen antígenos extraños unidos a ellas.

### Existen dos clases principales de moléculas MHC<sup>29</sup>

Las proteínas MHC de clase I y de clase II presentan estructuras muy similares. Ambas son heterodímeros transmembrana cuyos dominios extracelulares amino terminales se unen al antígeno para la presentación a las células T.

Cada **gen MHC de clase I** codifica una cadena polipeptídica transmembrana (denominada  $\alpha$ ), la mayor parte de la cual se pliega en tres dominios extracelulares globulares ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  y  $\alpha_3$ ). Todas las *cadena*  $\alpha$  están asociadas de forma no covalente a una pequeña proteína extracelular no glucosilada denominada  $\beta_2$ -mi-



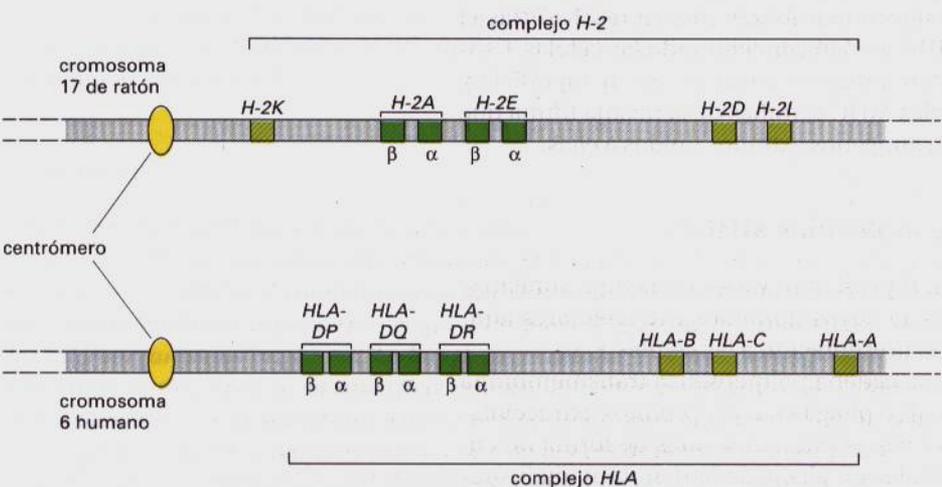
(A) PROTEÍNA MHC DE CLASE I

(B) PROTEÍNA MHC DE CLASE II

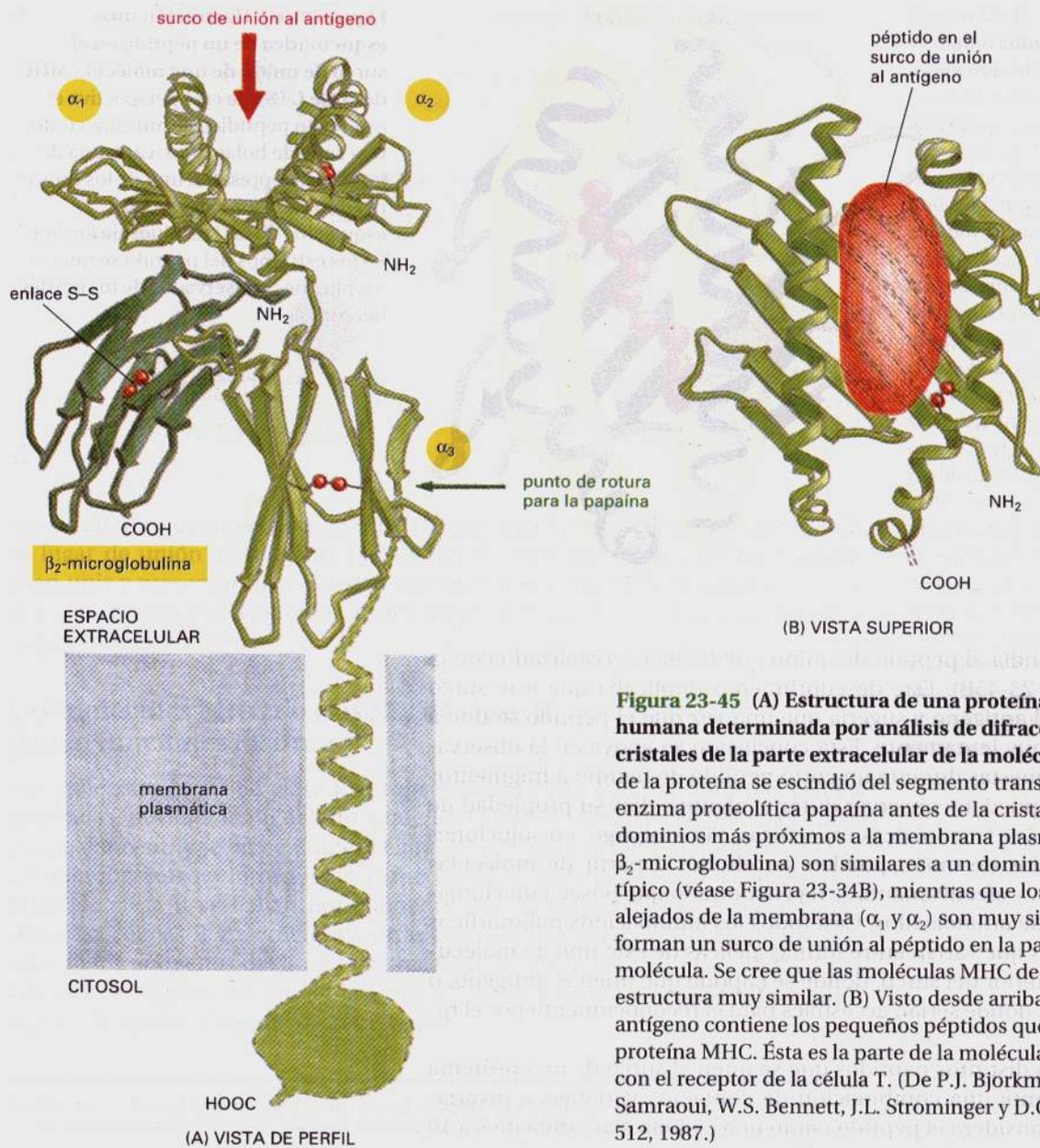
**Figura 23-43 Proteínas MHC de clase I y de clase II.** (A) La cadena  $\alpha$  de la molécula de clase I presenta tres dominios extracelulares  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  y  $\alpha_3$ , codificados por exones diferentes. Está asociada de forma no covalente con una cadena polipeptídica menor,  $\beta_2$ -microglobulina, que no está codificada por el MHC. El dominio  $\alpha_3$  y la  $\beta_2$ -microglobulina son similares a los de una inmunoglobulina. Mientras que la  $\beta_2$ -microglobulina es invariable, la cadena  $\alpha$  es extremadamente polimórfica, principalmente en sus dominios  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$ . (B) En las moléculas MHC de clase II, ambas cadenas son polimórficas (la  $\beta$  más que la  $\alpha$ ), principalmente en los dominios  $\alpha_1$  y  $\beta_1$ ; los dominios  $\alpha_2$  y  $\beta_2$  son similares a los de una inmunoglobulina. Así, existen notables similitudes entre las proteínas MHC de clase I y las de clase II. En ambas, los dos dominios más externos (sombreados en azul) interactúan entre sí formando un surco que une el antígeno extraño y lo presenta a las células T. Todas las cadenas están glucosiladas con excepción de la  $\beta_2$ -microglobulina (no se muestra en el esquema).

*croglobulina*, que no atraviesa la membrana y está codificada por un gen que no pertenece al grupo de genes MHC (Figura 23-43A). La  $\beta_2$ -microglobulina y el dominio  $\alpha_3$ , que son los más próximos a la membrana, son homólogos a un dominio de inmunoglobulina Ig. Los dos dominios amino terminales de la cadena  $\alpha$ , que son los más alejados de la membrana, se unen al antígeno y contienen los aminoácidos polimórficos (variables) que son reconocidos por las células T en las reacciones de trasplante.

Al igual que las moléculas MHC de clase I, las **moléculas MHC de clase II** son heterodímeros con dos dominios conservados, similares a Ig, que se hallan próximos a la membrana. Sin embargo, en estas moléculas ambas cadenas ( $\alpha$  y  $\beta$ ) están codificadas por MHC, y ambas atraviesan la membrana (Figura 23-43B). La presencia de dominios parecidos a las Ig en las proteínas de clase I y de clase II sugiere que las moléculas MHC y los anticuerpos poseen una historia evolutiva común. En la Figura 23-44 se muestran las localizaciones de los genes que codifican las proteínas MHC de clase I y de clase II en ratones y en el hombre.



**Figura 23-44 Los complejos genéticos H-2 y HLA.** Este dibujo esquemático muestra la localización de los loci que codifican las subunidades transmembrana de las proteínas MHC de clase I (*en verde claro*) y de clase II (*en verde oscuro*). Existen tres tipos de proteínas de clase I (H-2K, H-2D y H-2L en el ratón y HLA-A, HLA-B y HLA-C en humanos). En el ratón existen dos tipos de loci MHC de clase II (H-2A y H-2E) y más de tres tipos en humanos de los que sólo se muestran tres (HLA-DP, HLA-DQ y HLA-DR). Cada locus de clase II codifica al menos una cadena  $\alpha$  y al menos una cadena  $\beta$ , pero algunos codifican más de una cadena  $\alpha$  o  $\beta$  (no se muestra en la figura).

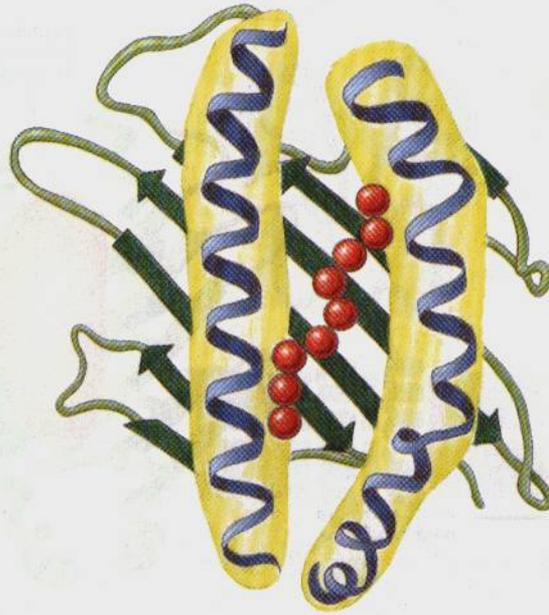


**Figura 23-45** (A) Estructura de una proteína MHC de clase I humana determinada por análisis de difracción de rayos X de cristales de la parte extracelular de la molécula. La parte extracelular de la proteína se escindió del segmento transmembrana con la enzima proteolítica papaína antes de la cristalización. Los dos dominios más próximos a la membrana plasmática ( $\alpha_3$  y  $\beta_2$ -microglobulina) son similares a un dominio de inmunoglobulina típico (véase Figura 23-34B), mientras que los dos dominios más alejados de la membrana ( $\alpha_1$  y  $\alpha_2$ ) son muy similares entre sí, y juntos forman un surco de unión al péptido en la parte superior de la molécula. Se cree que las moléculas MHC de clase II tienen una estructura muy similar. (B) Visto desde arriba, el surco de unión al antígeno contiene los pequeños péptidos que copurificaban con la proteína MHC. Ésta es la parte de la molécula MHC que interacciona con el receptor de la célula T. (De P.J. Bjorkman, M.A. Saper, B. Samraoui, W.S. Bennett, J.L. Strominger y D.C. Wiley, *Nature* 329:506-512, 1987.)

### Estudios por difracción de rayos X revelan el lugar de unión al antígeno de las proteínas MHC así como el péptido de unión<sup>30</sup>

Cualquier individuo posee únicamente un reducido número de tipos de moléculas MHC, que han de ser capaces conjuntamente de presentar a las células T fragmentos de péptidos de prácticamente cualquier proteína extraña. Así cada molécula MHC tiene la capacidad de unirse a un gran número de péptidos diferentes. La base estructural de dicha versatilidad surge de los análisis por cristalografía de rayos X de moléculas MHC.

Como se muestra en la Figura 23-45A, una proteína MHC de clase I presenta un único lugar de unión al péptido, localizado en un extremo de la molécula. Este lugar consiste en un profundo surco entre dos largas hélices  $\alpha$  derivadas de los dominios  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$ , casi idénticos entre sí; la base del surco está formada por ocho hebras  $\beta$  derivadas de los mismos dominios. El surco es suficientemente grande como para alojar un péptido de unos 10 residuos de aminoácidos. En realidad, cuando se analizó una proteína MHC de clase I mediante cristalografía por rayos X, se encontró que este surco contenía una zona de baja densidad, que

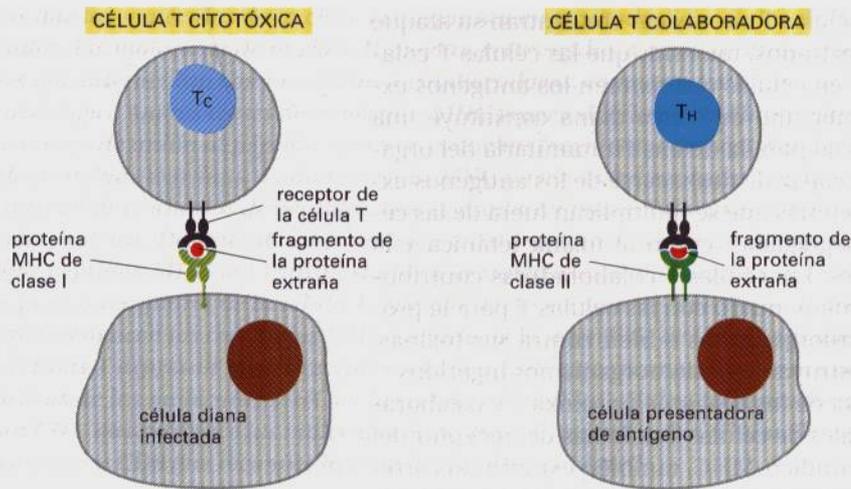


**Figura 23-46 Ilustración muy esquemática de un péptido en el surco de unión de una molécula MHC de clase I.** Desde esta perspectiva el esqueleto peptídico se muestra como una serie de bolas rojas, cada una de las cuales representa uno de los nueve residuos de aminoácido. Los esqueletos de los “residuos de anclaje” en los extremos del péptido se unen a los pliegues conservados de los bordes del surco.

posiblemente correspondía al péptido de unión que había cocrystalizado con la proteína MHC (Figura 23-45B). Este descubrimiento implicaba que este surco era el lugar de unión al antígeno y sugería que una vez que el péptido se une a este lugar, se disocia muy lentamente. Esta conclusión se apoya en la observación de que células expuestas durante un corto período de tiempo a fragmentos de una proteína vírica pueden conservar durante algunos días su propiedad de ser dianas para las células T citotóxicas específicas. Sin embargo, en soluciones acidificadas, los péptidos de unión pueden ser eluidos a partir de moléculas MHC de clase I aisladas, y efectivamente se ha encontrado que poseen una longitud de 8 a 10 residuos de aminoácidos. Casi todos los aminoácidos polimórficos de la proteína MHC (los que varían entre formas alélicas de este tipo de molécula) se localizan en el interior del surco, donde se supone que unen el antígeno, o en los bordes del surco, donde serían accesibles para el reconocimiento por el receptor de la célula T.

Se han encontrado distintos péptidos que se unen al surco de una proteína MHC de clase I mediante una combinación de contactos variables e invariables. En cada caso se considera el péptido como una cadena extendida de 8 a 10 aminoácidos, con el eje peptídico invariable de aminoácidos terminales en cada extremo del surco (Figura 23-46). Otras regiones del péptido se unen a “bolsas específicas” formadas por porciones polimórficas de la proteína MHC, mientras que las cadenas laterales de algunos residuos se dirigen al exterior, en una posición que sea reconocida por los receptores de las células T citotóxicas. Debido a que las bolsas conservadas en los extremos del surco de unión reconocen características del esqueleto peptídico que son comunes a muchos péptidos pero no a las cadenas laterales de los aminoácidos, que varían, una única proteína MHC de clase I puede unirse a una amplia variedad de péptidos de secuencias diferentes. A su vez la distinta especificidad de las bolsas a lo largo del surco asegura que cada forma alélica de molécula MHC se una y presente su propio y característico conjunto de péptidos. Así, los numerosos tipos de moléculas MHC de clase I de un individuo pueden presentar un amplio rango de proteínas extrañas a las células T citotóxicas, pero en cada individuo lo hacen de maneras muy parecidas.

Las moléculas MHC de clase II poseen una estructura tridimensional muy parecida a la de las moléculas de clase I, pero su surco de unión al antígeno aloja péptidos mucho más largos y heterogéneos, alcanzando un tamaño de 15 a 24 residuos de aminoácidos. Así, aunque un individuo produce probablemente me-



**Figura 23-47** Las células T citotóxicas y colaboradoras reconocen distintas moléculas MHC. Las células T citotóxicas reconocen los antígenos víricos extraños en asociación con las proteínas MHC de clase I en la superficie de cualquier célula del huésped, mientras que las células T colaboradoras reconocen a los antígenos extraños en asociación con las proteínas de clase II en la superficie de una célula presentadora de antígeno, como un macrófago o una célula B. El antígeno extraño unido a una molécula MHC de clase I se sintetiza en la célula diana, mientras que el antígeno extraño unido a una molécula MHC de clase II se ha captado por endocitosis y se ha procesado antes de ser presentado en la superficie celular (no se muestra en la figura). En las reacciones de trasplante, las células colaboradoras también reaccionan contra las glucoproteínas de clase II extrañas, y las células citotóxicas reaccionan contra las glucoproteínas de clase I extrañas.

nos de 20 tipos de moléculas de clase II, cada una de las cuales presenta un único lugar de unión al antígeno, parece que en conjunto estas moléculas consiguen unir y presentar una variedad aparentemente ilimitada de péptidos extraños a las células T colaboradoras, que juegan un papel crucial en casi todas las respuestas inmunitarias.

### Las moléculas MHC de clase I y de clase II tienen funciones distintas<sup>29</sup>

Las moléculas MHC de clase I se expresan prácticamente en todas las células nucleadas, posiblemente debido a que las células T citotóxicas deben ser capaces de concentrarse en cualquier célula del cuerpo que haya sido infectada por un microorganismo intracelular, como un virus. Por el contrario, las moléculas MHC de clase II se hallan normalmente restringidas a células especializadas, como las células B, macrófagos y otras células presentadoras de antígenos, que extraen los antígenos del líquido extracelular e interactúan con las células T colaboradoras (Figura 23-47). En la Tabla 23-2 se resumen las características principales de las dos clases de proteínas MHC.

**Tabla 23-2** Propiedades de las moléculas MHC de clase I y II

	Clase I	Clase II
<b>Loci genéticos</b>	<i>H-2K, H-2D, H-2L</i> en el ratón; <i>HLA-A, HLA-B, HLA-C</i> en el hombre	agrupaciones <i>H-2A</i> y <i>H-2E</i> en el ratón; <i>DP, DQ, DR</i> y algunas otras en el hombre
<b>Estructura de la cadena</b>	cadena $\alpha + \beta_2$ -microglobulina	cadena $\alpha +$ cadena $\beta$
<b>Distribución celular</b>	la mayoría de células nucleadas	células presentadoras de antígeno (incluyendo células B), células epiteliales del timo y algunas otras
<b>Intervienen en la presentación del antígeno a</b>	células T citotóxicas	células T colaboradoras
<b>Origen de los fragmentos peptídicos</b>	proteínas producidas en el citosol	proteínas extracelulares y de membrana plasmática, endocitadas
<b>Dominios polimórficos</b>	$\alpha + \alpha_2$	$\alpha_1 + \beta_1$

Un aspecto importante es que las células T citotóxicas concentran su ataque en las células que *producen* antígenos extraños, mientras que las células T colaboradoras concentran su colaboración en células que extraen los antígenos extraños del líquido extracelular. El primer tipo de célula diana constituye una amenaza, pero el segundo tipo es esencial para la defensa inmunitaria del organismo. El sistema inmunitario debe ser capaz de deshacerse de los antígenos extraños extracelulares, de numerosas bacterias que se multiplican fuera de las células, y de algunas toxinas proteicas segregadas, como la toxina tetánica y la toxina botulínica, que pueden ser letales. Las células T colaboradoras contribuyen a eliminar estos patógenos ya sea colaborando con las células T para la producción de anticuerpos contra los microorganismos o bien contra sus toxinas, activando a los macrófagos para que destruyan los microorganismos ingeridos.

Para garantizar la dirección correcta de las funciones citotóxica y colaboradora, cada uno de los dos tipos principales de células T, además del receptor del antígeno que reconoce un complejo peptídico-MHC, también expresa un *correceptor* que reconoce una parte no polimórfica de la clase apropiada de molécula MHC, tal como veremos a continuación.

### Las proteínas CD4 y CD8 actúan como correceptores de unión a MHC en las células T colaboradoras y citotóxicas, respectivamente<sup>31</sup>

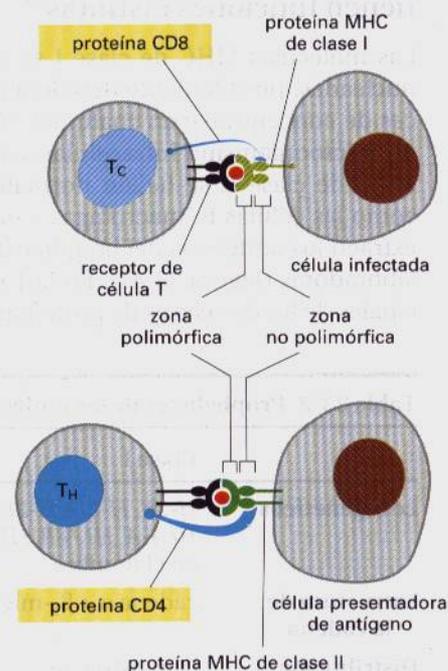
Generalmente la afinidad de los receptores de la célula T para los complejos peptídicos MHC de la célula diana es demasiado baja para inducir una interacción funcional entre las dos células. Son necesarios los *receptores accesorios* para contribuir a estabilizar dicha interacción aumentando la fuerza total de la adhesión intercelular; cuando estos receptores también ejercen un papel directo en la activación de la célula T generando sus propias señales intracelulares, se denominan *correceptores*. A diferencia de los receptores de la célula T o de las moléculas MHC, los receptores accesorios no se unen al antígeno y son invariables y no polimórficos.

Los más importantes y mejor conocidos de los correceptores de las células T son las proteínas CD4 y CD8, que son proteínas transmembrana de paso único con dominios extracelulares similares a las Ig. Al igual que los receptores de la célula T, reconocen a las proteínas MHC, pero, a diferencia de los receptores de células T, se unen a las zonas no variables de la proteína, lejos del surco de unión al péptido. **CD4** se expresa en las células T colaboradoras y se une a las moléculas MHC de clase II, mientras que **CD8** se expresa en las células T citotóxicas y se une a las moléculas MHC de clase I (Figura 23-48). Así CD4 y CD8 contribuyen al reconocimiento de la célula T, contribuyendo a que la célula se concentre en un tipo concreto de moléculas MHC, y en un tipo concreto de células diana. La cola citoplasmática de estas proteínas transmembrana se halla asociada con un miembro de la familia de proteínas quinasa Src específicas de tirosina, denominada proteína *Lck*, la cual fosforila varias proteínas celulares en los residuos de tirosina y de este modo participa en la activación de la célula T.

Las proteínas CD4 y CD8 no sólo se requieren para aumentar la fuerza de adhesión intercelular y para contribuir a activar la célula T, sino que también son necesarias para el desarrollo de la célula T: si se inactivan los genes que codifican CD4 o CD8 en ratón mediante recombinación genética vectorial, no se desarrollan ni las células T colaboradoras ni las células T citotóxicas. Irónicamente, CD4 también funciona como receptor para el virus del SIDA (HIV), permitiendo que el virus infecte a las células T colaboradoras.

### Resumen

**Las moléculas MHC de clase I y de clase II son las proteínas más polimórficas que se conocen –es decir, muestran una gran variabilidad genética de un individuo a otro– y juegan un papel crucial en la presentación de proteínas antigénicas extrañas a las células T citotóxicas y a las células T colaboradoras, respectivamente.**



**Figura 23-48 Los correceptores CD4 y CD8 de la superficie de las células T.** Obsérvese que estas proteínas se unen a la región invariable de la molécula MHC que ha unido la célula T receptora, de forma que se mantienen adosados a los receptores de la célula T durante el proceso de activación celular. Los anticuerpos contra CD4 y CD8 son ampliamente utilizados para distinguir entre células T colaboradoras y células T citotóxicas.

Mientras que las moléculas de la clase I se expresan en casi todas las células de los vertebrados, las moléculas de la clase II quedan restringidas a unos cuantos tipos celulares que interactúan con las células T colaboradoras, como son los linfocitos B y los macrófagos. Ambas clases de moléculas MHC poseen dominios similares a Ig y un único surco de unión al péptido, que une pequeños fragmentos de péptidos derivados de proteínas extrañas. Cada molécula MHC puede unir una característica y gran cantidad de conjuntos de péptidos, que se producen intracelularmente por degradación proteica. Después de su formación en el interior de la célula diana, los complejos péptidos-MHC son transportados a la superficie celular donde son reconocidos por los receptores de la célula T. Además de sus receptores específicos de antígeno que reconocen los complejos MHC-péptido de la superficie de las células diana, las células T expresan los correceptores CD4 o CD8, que reconocen regiones no polimórficas de las moléculas MHC en las células diana: las células colaboradoras expresan CD4, que reconoce las moléculas MHC clase II, mientras las células T citotóxicas expresan CD8 que reconoce las moléculas MHC de clase I.

## Las células T citotóxicas

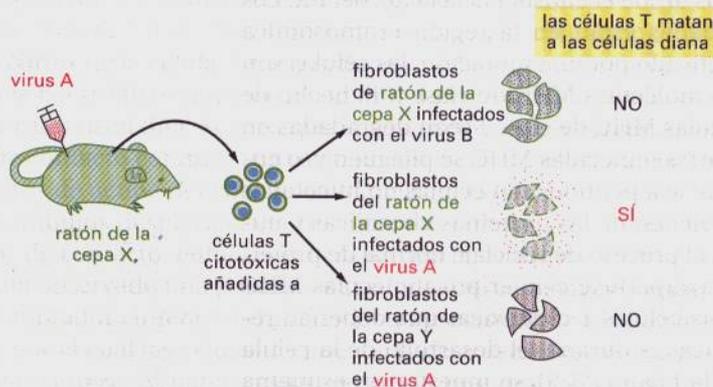
Como estudiamos anteriormente, las células T citotóxicas nos defienden contra microorganismos como los virus que crecen en el interior de las células, lejos del alcance de los anticuerpos. Las células T citotóxicas, a diferencia de los anticuerpos, pueden reconocer estas células infectadas debido a que las moléculas MHC de clase I envían continuamente fragmentos de las proteínas microbianas a la superficie celular, donde pueden ser detectadas por las células T. En esta sección estudiaremos cómo se generan dichos fragmentos y se reparten entre las moléculas MHC de clase I, y consideraremos cómo las células T citotóxicas destruyen las células diana infectadas.

### Las células T citotóxicas reconocen fragmentos de proteínas víricas en la superficie de células infectadas por virus<sup>32</sup>

La primera prueba clara de que las moléculas MHC presentan los antígenos extraños a las células T surgió de un experimento con células T citotóxicas realizado en 1974, que demostró que las células T citotóxicas de ratón infectadas por un virus podrían destruir células cultivadas infectadas con el mismo virus, sólo si dichas células expresaban alguna de las moléculas MHC de la misma clase I de ratón infectado (Figura 23-49). Este experimento demostró que las células T de cualquier individuo sólo reconocerá un antígeno determinado cuando dicho antígeno se halle asociado a las formas alélicas de moléculas MHC expresadas por ese mismo individuo, un fenómeno conocido como *restricción MHC*. Sin embargo, no fue hasta 10 años después, que se descubrió la naturaleza química de los antígenos víricos reconocidos por las células T citotóxicas. En los experimentos

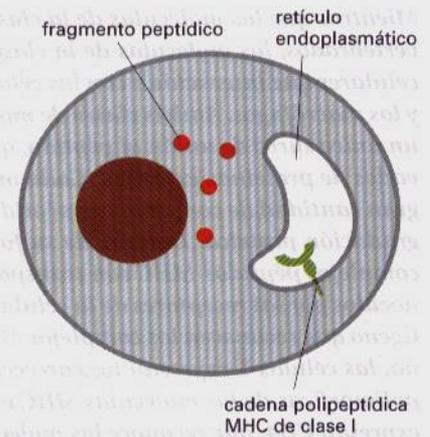
**Figura 23-49 El experimento clásico que demuestra que las células T citotóxicas reconocen el antígeno vírico y algún aspecto de la superficie de la célula diana huésped.** Ratones de la cepa X se infectan con el virus A. Al cabo de siete días, los bazo de estos ratones contienen células T citotóxicas capaces de destruir fibroblastos en cultivo de la cepa X infectados por el virus. Tal como se esperaba, estas células T citotóxicas únicamente destruyen los fibroblastos infectados por el virus A, pero no por otro virus B; así pues, las células T citotóxicas son específicas del virus. Sin embargo estas mismas células son incapaces de destruir fibroblastos de ratones de la cepa Y infectados con el mismo virus A, lo cual indica que las células T citotóxicas no solamente reconocen los virus sino también alguna diferencia genética entre ambos tipos de fibroblastos.

Gracias a la utilización de cepas especiales de ratones (conocidas como *cepas congénitas*) que o bien son genéticamente idénticas excepto para los alelos de sus loci MHC de clase I o son genéticamente diferentes excepto para dichos alelos se encontró que la destrucción de células diana infectadas requiere que dichas células expresen al menos uno de los alelos MHC de la misma clase expresados por el ratón infectado inicialmente. Esto indicaba que las proteínas MHC de clase I son necesarias para presentar los antígenos víricos unidos a superficie a las células T citotóxicas.



con células infectadas por el virus de la gripe se encontró de forma inesperada que algunas células T citotóxicas reconocían específicamente proteínas internas del virus que en la partícula del virus intacta no debían ser accesibles. La prueba siguiente sugería que las células T estaban reconociendo fragmentos degradados de las proteínas internas del virus. Debido a que la célula T puede reconocer minúsculas cantidades de antígeno (sólo unos cuantos centenares de moléculas), únicamente una pequeña fracción de los fragmentos generados a partir de las proteínas víricas llegan a alcanzar la superficie celular, donde atraen y son atacadas por las células T citotóxicas. Sin embargo, el misterio no ha sido desvelado todavía.

Se sabe que casi todas las proteínas de una célula se degradan continuamente (Capítulo 5), por lo que no resulta difícil comprender que en una célula infectada se producen fragmentos peptídicos de proteínas víricas internas. Al igual que otras proteínas celulares, las proteínas víricas son sintetizadas por los ribosomas citosólicos y, como se explicó en el Capítulo 12, se requieren mecanismos especiales para que estas proteínas dejen el citosol, atravesando una membrana, hacia el interior de algún otro compartimiento. Generalmente las proteínas destinadas a la superficie celular empiezan su trayecto pasando desde el citosol hacia la luz del retículo endoplasmático (ER) (Figura 23-50). El rompecabezas de cómo los fragmentos de las proteínas víricas alcanzan la superficie celular se solucionó con el descubrimiento de un sistema de transporte remarkable que poseen las células de los vertebrados para transportar dichos péptidos desde el citosol hasta la luz del ER. Una vez en el interior del retículo, los péptidos pueden unirse a las moléculas MHC que se encuentran allí y de este modo pueden ser transportados con ellas hacia la superficie celular.

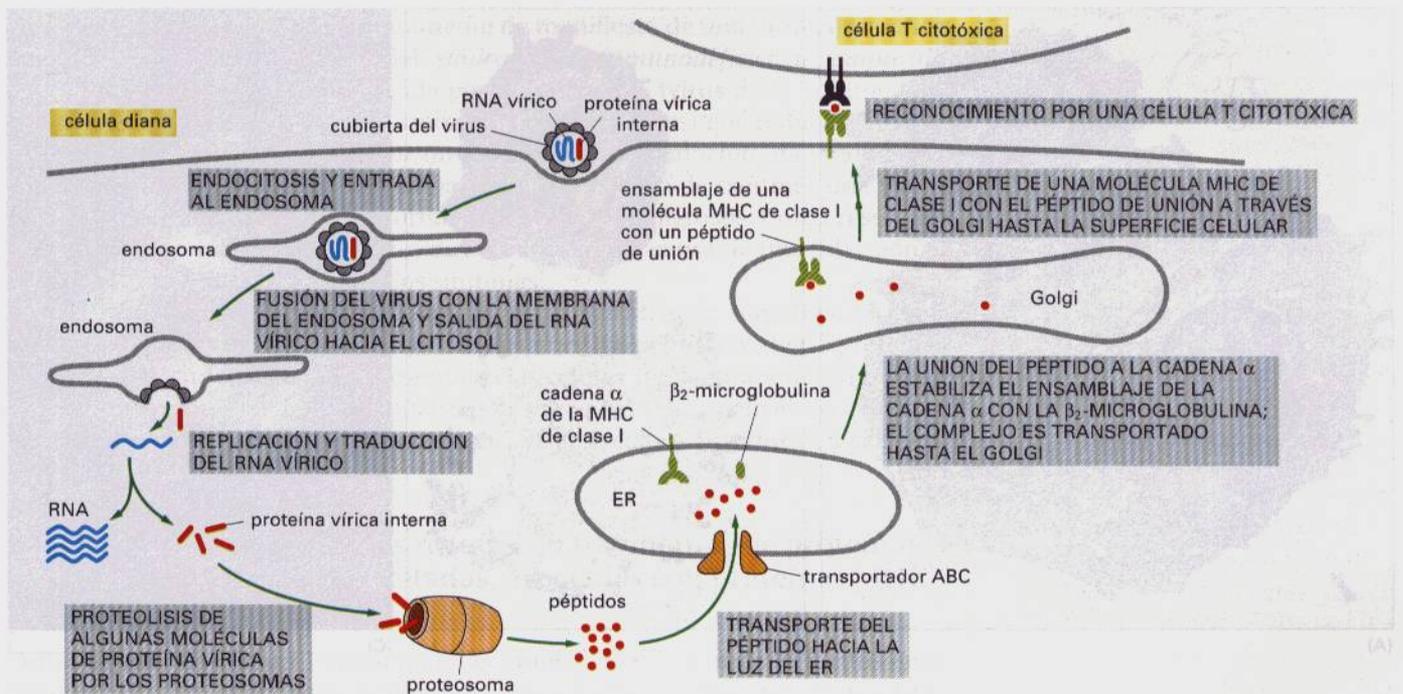


**Figura 23-50 El problema del péptido transportador.** ¿Cómo pasan los fragmentos peptídicos fabricados en el citosol hacia la luz del ER, donde se fabrican las moléculas MHC de clase I? Se requiere un proceso especial de transporte.

### Los transportadores ABC codificados por MHC transfieren fragmentos peptídicos desde el citosol hasta la luz del ER<sup>33</sup>

Como se señaló en el Capítulo 5, en el citosol la degradación proteolítica se lleva a cabo principalmente por un mecanismo dependiente de ATP y de ubiquitina que actúa en los *proteosomas*, los cuales constituyen grandes complejos de enzimas proteolíticas construidas a partir de subunidades proteicas muy distintas. Aunque probablemente todos los proteosomas se encuentran capacitados para generar fragmentos peptídicos que se unirán a las moléculas MHC de clase I, se cree que algunos de ellos están especializados en este objetivo debido a que contienen dos subunidades que están codificadas por genes localizados en la región cromosómica MHC.

El mecanismo mediante el cual los péptidos se transportan desde el citosol hasta la luz del ER se descubrió a través de observaciones en células mutantes en las que las moléculas MHC de clase I no se expresan en la superficie celular sino que se degradan en el interior del ER. Los genes mutantes de dichas células proporcionaron las subunidades para codificar una proteína perteneciente a la familia de los *transportadores ABC*, que estudiamos en el Capítulo 11. Esta proteína transportadora se localiza en la membrana del ER y utiliza la energía de hidrólisis del ATP para bombear péptidos desde el citosol hacia la luz del ER. Los genes que codifican estas dos subunidades están en la región cromosómica MHC, y si alguno de estos genes es inactivado por una mutación, las células son incapaces de suministrar péptidos a las moléculas MHC de clase I. El hecho de que en estas células mutantes las moléculas MHC de clase I sean degradadas en el ER sugiere que normalmente para que las moléculas MHC se plieguen y/o ensamblen de forma apropiada, han de unirse a péptidos. En células no infectadas por virus los fragmentos peptídicos provienen de las proteínas citosólicas y nucleares normales que son degradadas en el proceso de reciclaje normal de proteínas; dichos péptidos se transportan a la superficie celular por moléculas MHC pero no son antigénicos debido a que las células T citotóxicas que deberían reconocerlos han sido eliminadas o inactivadas durante el desarrollo de la célula T, tal como veremos más adelante. En la Figura 23-51 se muestra un esquema



general de cómo se procesan las proteínas víricas para su presentación a las células T citotóxicas.

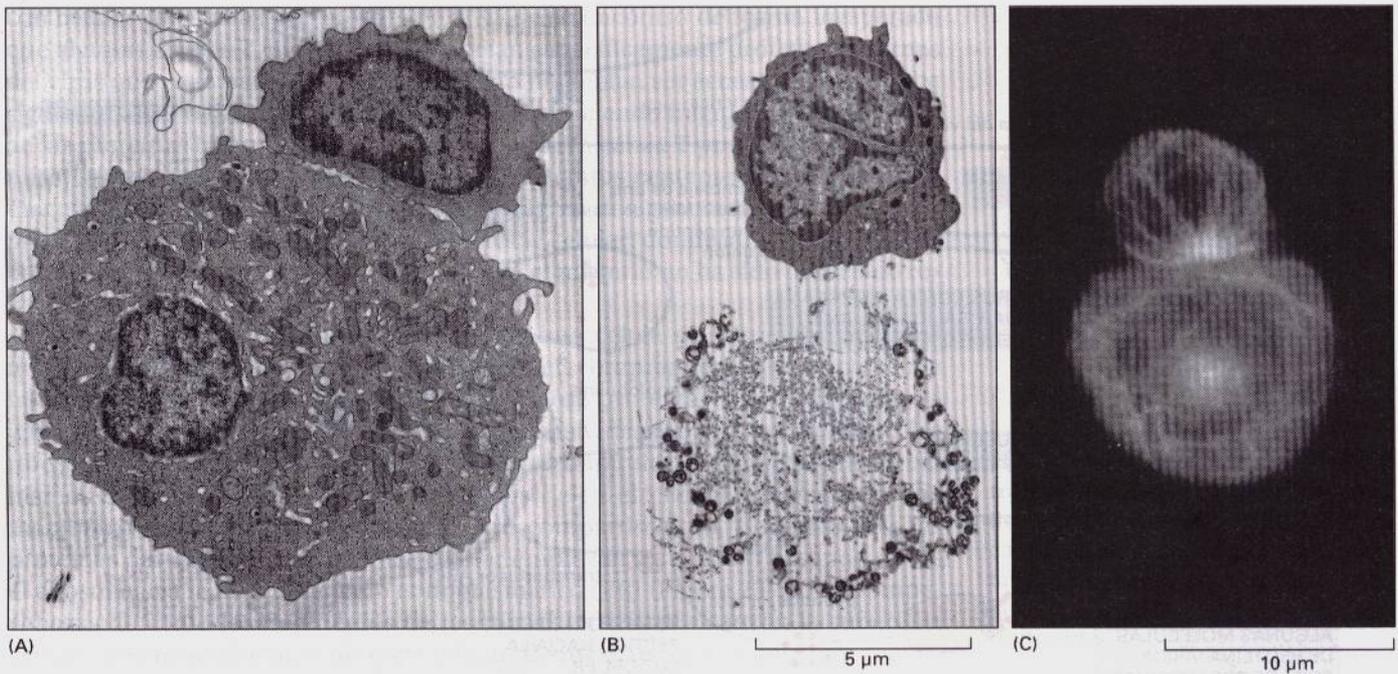
Cuando se activan las células T por un antígeno, segregan varias moléculas señalizadoras, incluido el **interferón- $\gamma$** , que intensifica notablemente las respuestas antivíricas. El interferón- $\gamma$  induce la expresión de muchos genes de la región cromosómica MHC, incluyendo los que codifican las proteínas MHC de clase I (y de clase II), las dos subunidades de los proteosomas, y las dos subunidades de la bomba peptídica localizada en el ER. Así, toda la maquinaria que se requiere para la presentación del antígeno vírico a las células T citotóxicas entra en acción de forma coordinada mediante el interferón- $\gamma$ , creando una retroalimentación positiva que amplifica la respuesta inmunitaria y culmina con la muerte de la célula infectada.

### Las células T citotóxicas inducen a las células diana infectadas a destruirse a sí mismas<sup>34</sup>

Cuando una célula citotóxica ha reconocido un péptido vírico unido a una molécula MHC de clase I en la superficie de una célula diana, su trabajo consiste en destruir a la célula antes de que el virus que da lugar al péptido pueda producir nuevas partículas víricas que puedan salir de la célula infectada. Si se marca una célula T citotóxica con anticuerpos anti-tubulina, en el momento de destruir su célula diana, se observa que su centrosoma se orienta hacia el punto de contacto con la célula diana (Figura 23-52). Por otro lado, el marcaje con anticuerpos muestra que en el córtex de la célula T en el lugar de contacto se concentra talina, una proteína que contribuye a unir los receptores de la superficie celular con los filamentos corticales de actina. Se cree que la agregación de receptores de la célula en el lugar de contacto conduce a una alteración local, dependiente de talina, de los filamentos de actina del córtex celular; entonces, un mecanismo dependiente de microtúbulos desplaza el centrosoma y el complejo de Golgi asociado hacia el lugar de contacto, enfocando la maquinaria de destrucción sobre la célula diana. Se ha observado una polarización similar del citoesqueleto cuando una célula T colaboradora interactúa funcionalmente con una célula diana.

El mecanismo por el cual las células T citotóxicas destruyen sus células diana no se conoce con certeza. Al parecer, utilizan como mínimo dos estrategias,

**Figura 23-51 Procesamiento de una proteína vírica para presentarla a las células T citotóxicas.** Una célula T citotóxica destruirá a una célula infectada por un virus cuando reconozca fragmentos de una proteína extraña unida a moléculas MHC de clase I en la superficie de la célula infectada. Aunque no todos los virus entran en la célula por la vía que utiliza este virus de RNA recubierto, los fragmentos de las proteínas víricas internas siempre siguen la vía representada en la figura. Únicamente se degrada una pequeña proporción de proteínas víricas sintetizadas en el citosol, pero es una cantidad suficiente para atraer y sufrir el ataque de una célula T citotóxica.



que al parecer actúan induciendo a la célula diana a llevar a cabo *la muerte celular programada* (también denominada *apoptosis*, véase pág. 1257). En una de estas estrategias, la unión a una célula diana estimula en dichas células T citotóxicas la liberación de una proteína formadora de poros denominada **perforina** que es homóloga al componente C9 del complemento y polimeriza en la célula diana de la membrana plasmática formando cadenas transmembrana. La perforina se almacena en vesículas secretoras y se libera por exocitosis en el punto de contacto con la célula diana. Las vesículas secretoras también contienen serina proteasas y otras proteínas, que se cree que juegan algún papel en la destrucción de la célula diana, quizás entrando a la célula diana por los canales de perforina y induciendo la muerte celular programada. Por el contrario, la segunda estrategia implica la activación de un receptor de la célula T citotóxica en la superficie de la célula diana, lo cual señala a la célula diana para llevar a cabo la muerte celular programada.

## Resumen

*Las células T citotóxicas destruyen directamente las células diana infectadas que exponen fragmentos de proteínas microbianas en su superficie. Algunas de las proteínas microbianas que se sintetizan en el citosol de la célula diana son degradadas por los proteosomas, y algunos de los fragmentos peptídicos resultantes son bombeados por un transportador ABC hacia el lumen del ER, donde se unen a las moléculas MHC de clase I. A continuación, los complejos peptídicos-MHC son transportados a la superficie de la célula diana, donde son reconocidos por células T citotóxicas. Se cree que dichas células destruyen las células diana infectadas induciéndolas a llevar a cabo la muerte celular programada.*

## Células T colaboradoras y activación de las células T<sup>35</sup>

A diferencia de las células T citotóxicas, las **células T colaboradoras** no actúan directamente destruyendo células infectadas o eliminando microorganismos, sino estimulando a los macrófagos para que resulten más efectivos en la destrucción de los patógenos, y colaborando con otros tipos de linfocitos en su respuesta frente al antígeno. La importancia decisiva de las células T colaboradoras

**Figura 23-52 Células T citotóxicas durante el proceso de destrucción de células diana en cultivo.** Las células se observan por microscopía electrónica en (A) y (B) y por microscopía de inmunofluorescencia tras la tinción con anticuerpos anti-tubulina en (C). Las células T citotóxicas se obtuvieron de ratones inmunizados con las células diana, que son células tumorales extrañas. En (A) y (C) se muestran células T uniéndose a la célula diana y en (B) después de haber destruido la célula diana. Al contrario de lo que ocurre en una placa de cultivo, en un animal la célula diana destruida debería ser fagocitada por las células vecinas en lugar de desintegrarse de la forma que aquí se indica. Obsérvese que en la célula T, el centrosoma y los microtúbulos que irradian de él están orientados hacia el punto de contacto con la célula diana (C). (A y B, de D. Zagury, J. Bernard, N. Thierness, M. Feldman y G. Berke, *Eur. J. Immunol.* 5:818-822, 1975; C, reproducido de B. Geiger, D. Rosen y G. Berke, *J. Cell. Biol.* 95:137-143, 1982, con permiso de copyright de The Rockefeller University Press.)

en la inmunidad se ha puesto claramente de manifiesto de una forma dramática por la devastadora epidemia del *síndrome de inmunodeficiencia adquirida* (SIDA). La enfermedad está causada por un retrovirus (virus de la inmunodeficiencia humana, HIV, de Human Immunodeficiency Virus) que reduce el número de células T colaboradoras por un mecanismo desconocido, dañando así el sistema inmunitario y haciendo al paciente susceptible de contraer una infección por microorganismos que normalmente no son peligrosos. Como resultado de ello, la mayoría de los pacientes de SIDA mueren a causa de una infección al cabo de varios años del inicio de los síntomas.

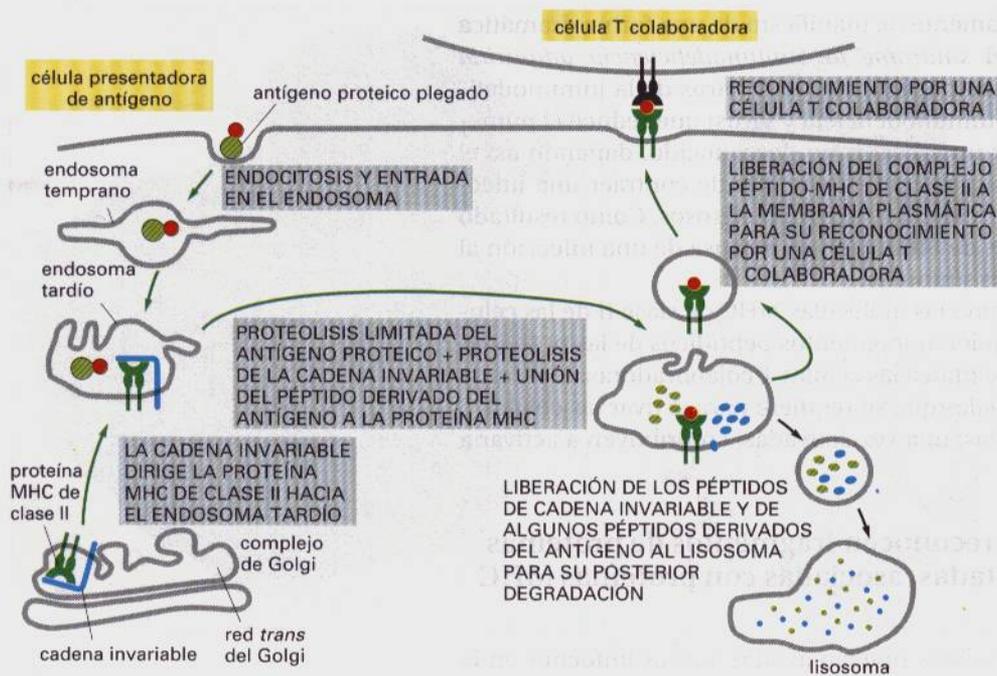
En esta sección estudiamos cómo las moléculas MHC de clase II de las células presentadoras de antígeno adquieren fragmentos peptídicos de las proteínas captadas por endocitosis y los presentan a las células T colaboradoras. Más tarde discutimos la multiplicidad de señales que se requiere para activar las células T colaboradoras y cómo dichas células, una vez activadas, contribuyen a activar a las células B y a los macrófagos.

### Las células T colaboradoras reconocen fragmentos de proteínas antigénicas extrañas endocitadas, asociadas con proteínas MHC de clase II<sup>36</sup>

Antes de que las células T colaboradoras puedan ayudar a otros linfocitos en la respuesta contra el antígeno, primero han de activarse a sí mismas. Esta activación tiene lugar cuando las células T colaboradoras reconocen un antígeno unido a proteínas MHC de clase II en la superficie de *células presentadoras de antígeno* especializadas, que se encuentran en muchos tejidos. Estudiaremos estas células con detalle más adelante.

Como en el caso de los antígenos víricos presentados a las células T citotóxicas, los antígenos presentados a las células T colaboradoras por las células presentadoras de antígeno son fragmentos de degradación de la proteína extraña, que se unen a las moléculas MHC de clase II exactamente de la misma manera que los péptidos derivados de virus se unen a las moléculas MHC de clase I. Pero tanto el origen de los fragmentos peptídicos presentados como la vía que siguen para encontrar las moléculas MHC, son diferentes de lo que sucede con los fragmentos peptídicos presentados por las moléculas MHC de clase I a las células T citotóxicas. En lugar de obtenerse a partir de proteínas extrañas sintetizadas en el interior de la célula diana, los péptidos presentados a las células T colaboradoras se obtienen a partir de microorganismos extracelulares o de sus productos, que han sido ingeridos por las células presentadoras de antígeno y degradados en el entorno ácido de los endosomas. Estos péptidos no tienen que ser bombeados a través de la membrana porque no se originan en el citosol; se han generado en un compartimiento que es topológicamente equivalente al espacio extracelular. Nunca penetran en la luz del ER, donde se sintetizan y ensamblan las moléculas MHC de clase II, sino que se unen a los heterodímeros de clase II pre-ensamblados en un compartimiento endosómico tardío. Una vez se ha unido el péptido, la molécula MHC de clase II altera su conformación atrapando al péptido en el surco de unión para su presentación a la superficie de las células T colaboradoras.

Para que la presentación de péptidos derivados de las proteínas extrañas extracelulares sea efectiva, las moléculas MHC de clase II recién sintetizadas no han de unirse prematuramente con péptidos derivados de proteínas sintetizadas de forma endógena en el lumen del ER. Para que no se produzca esta unión prematura, un polipéptido no polimórfico, denominado la **cadena invariable**, actúa por lo menos de dos formas. Primero se asocia con heterodímeros MHC de clase II recién sintetizados en el ER de tal forma que impide que se unan a otros péptidos en la luz del ER. Segundo, dirige a las moléculas MHC de clase II desde la red *trans* del Golgi al compartimiento endosomal, donde la cadena invariable se libera por proteólisis, permitiendo a las moléculas MHC de clase II unirse a los fragmentos peptídicos derivados de las proteínas captadas por endocitosis (Figura 23-53). De este modo las diferencias funcionales entre las moléculas MHC



**Figura 23-53** Procesamiento de un antígeno proteico extracelular para su presentación a una célula T colaboradora. Una visión actual de cómo se forman los complejos péptido-MHC de clase II en los endosomas y se liberan a la superficie de una célula presentadora de antígeno.

de clase I y de clase II se mantienen: las primeras presentan moléculas que proceden del citosol, las segundas presentan moléculas que proceden del espacio extracelular.

Muchas de las moléculas MHC de clase I y de clase II de la superficie celular de una célula diana poseen péptidos derivados de las propias proteínas en el surco de unión —para las moléculas de clase I, fragmentos de proteínas citosólicas y nucleares degradadas y para las moléculas de clase II, fragmentos degradados de membrana y proteínas séricas que pasan a través del sistema endosoma-lisosoma. Sólo una pequeña fracción de las moléculas MHC de clase II de la superficie de una célula presentadora de antígeno estarán unidas a péptidos. Sin embargo, esto es suficiente para iniciar una respuesta inmunitaria, debido a que sólo unos cuantos centenares de dichas moléculas son suficientes para activar una célula T colaboradora, como unos cuantos centenares de complejos peptídicos MHC de clase I de una célula diana son suficientes para activar de una célula T citotóxica.

### Las células T colaboradoras se activan por las células presentadoras de antígeno<sup>37</sup>

Al igual que para que una célula B pueda proliferar y diferenciarse en una célula secretora de anticuerpo y pueda funcionar, primero ha de ser activada, una célula T ha de ser activada para proliferar y diferenciarse antes de que pueda destruir a una célula diana infectada o colaborar con un macrófago o con una célula B. Generalmente la activación inicial de una célula T tiene lugar cuando reconoce a un péptido extraño unido a una molécula MHC de la superficie celular de una célula diana apropiada. Para una célula T colaboradora la diana adecuada es una **célula presentadora de antígeno**.

Las células presentadoras de antígeno derivan de la médula ósea y comprenden un grupo heterogéneo de células, en el que se incluyen *células dendríticas con interdigitaciones* en los órganos linfoides, *células de Langerhans* en la piel, así como las células B y los macrófagos que a continuación serán la diana de la colaboración de las células T. Junto con las células epiteliales del timo, que tienen un papel especial en el desarrollo de la célula T (se estudiará más adelante), y las células activadas de algunos mamíferos, estas células presentadoras de antígeno especializadas son los únicos tipos celulares que normalmente expresan las moléculas MHC de clase II (véase Tabla 23-2). Además de las moléculas MHC

de clase II, las células presentadoras de antígeno también expresan una segunda molécula de superficie celular, llamada B7, que juega un papel crucial participando en la activación de las células T, tal como veremos más adelante.

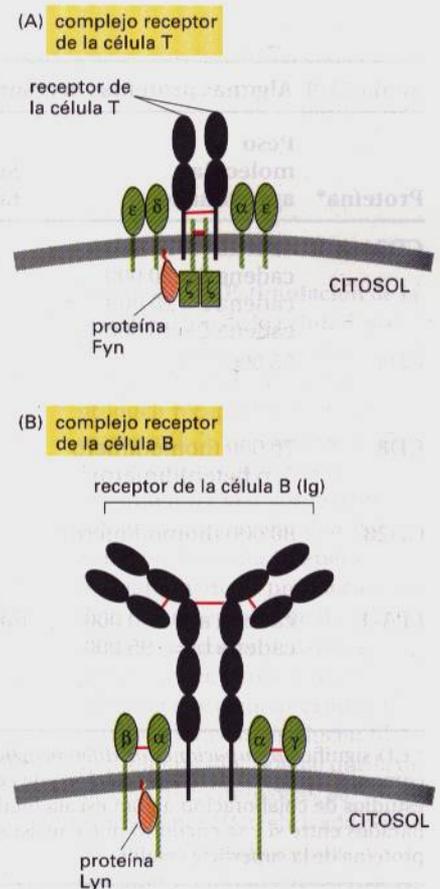
### El receptor de una célula T forma parte de un gran complejo de señalización en la membrana plasmática<sup>38</sup>

La activación de una célula T citotóxica o colaboradora constituye un complicado proceso que todavía no se comprende del todo. El heterodímero receptor de la célula T reconoce péptidos extraños unidos a moléculas MHC de la superficie de la célula diana. Como en el caso de las células B, el receptor se encuentra asociado a un conjunto de cadenas polipeptídicas transmembrana invariables (denominado el **complejo CD3**) que transduce el proceso de unión extracelular a señales de activación intracelular. Se cree que el complejo CD3 activa uno o más miembros de la familia Src tirosina quinasa, incluyendo la proteína *Fyn*, que fosforilan varias proteínas celulares, incluidos los componentes del propio CD3 y la enzima fosfolipasa C- $\gamma$ , la cual activa la vía de señalización de fosfolípidos de inositol descrita en el Capítulo 15. En la Figura 23-54 se comparan los receptores de las células T y B y sus cadenas polipeptídicas asociadas.

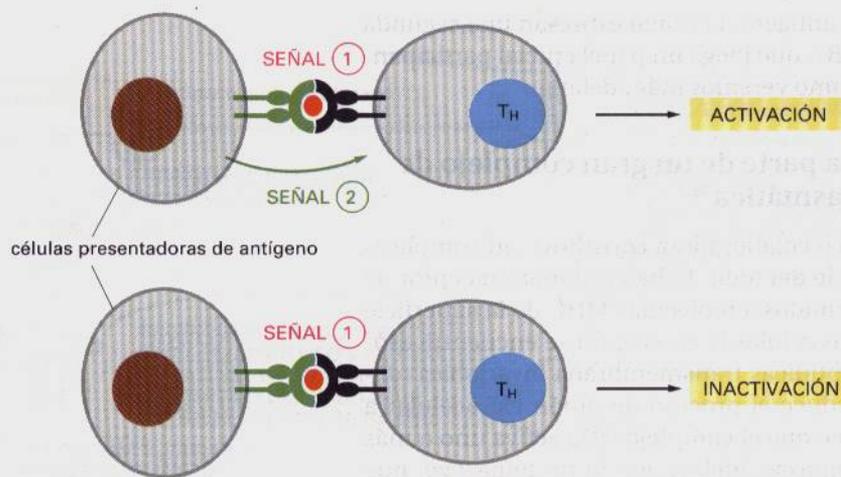
La activación de las células T no se produce únicamente por la acción de los receptores de la células T y el complejo CD3. También juegan papeles importantes una diversidad de correceptores. Ya hemos visto los correceptores CD4 y CD8 y también se han definido sus asociados Lck quinasa y algunos otros. En el proceso de activación de la célula T parece que dichos receptores y correceptores, así como sus asociados, las tirosina quinasa similares a Src, se ensamblan formando un gran complejo de señalización en la membrana plasmática de la célula T. Sin embargo, incluso este gran complejo de señalización es insuficiente para activar por sí mismo a la célula T colaboradora: se requiere otra vía de señalización independiente.

### Para activar la célula T colaboradora se requieren dos señales simultáneas<sup>39</sup>

Para activar la célula T colaboradora, una célula presentadora de antígeno ha de proporcionar como mínimo dos señales. Ya hemos visto la *señal 1*: la suministra un péptido extraño unido a una molécula MHC de clase II de la superficie de la célula presentadora, que activa el complejo receptor de la célula T ilustrado en la Figura 23-54A. Dependiendo del tipo de célula T colaboradora (como veremos más adelante), la *señal 2* la suministra tanto una señal química segregada, como la *interleuquina-1 (IL-1)*, o bien la molécula señalizadora **B7** unida a la membrana plasmática de la superficie de la célula presentadora de antígeno. B7 es reconocida por una proteína correceptora denominada **CD28**, que se encuentra en la superficie de la célula T colaboradora y es miembro de la superfamilia de Ig. Si las células T colaboradoras reciben ambos tipos de señales, se activan para proliferar y segregar una gran variedad de *interleuquinas*. Por el contrario, si reciben la señal 1 sin la señal 2, se alteran de tal forma que ya no pueden ser activadas aunque reciban ambas se-



**Figura 23-54 Comparación entre los receptores del antígeno de células T y los de células B.** En ambos casos los receptores (*negro*) se asocian con cadenas polipeptídicas transmembrana invariables (*verde*) que actúan como transductores de señal. Las cadenas invariables asociadas con el receptor de la célula T forman el complejo CD3, mientras que los que se asocian con el receptor de la célula B se denominan Ig- $\alpha$ , Ig- $\beta$  e Ig- $\gamma$ . En ambos casos por lo menos una de las cadenas invariables se une a una tirosina quinasa similar a Src (*rojo*). Todas las cadenas que se muestran, excepto las cadenas CD3- $\zeta$  y las quinasa similares a Src, presentan dominios extracelulares similares a Ig, por tanto, son miembros de la superfamilia Ig.



**Figura 23-55 Se requieren dos señales para la activación de la célula T colaboradora.** La señal 2 puede ser proporcionada tanto por una señal segregada, como la interleuquina-1 (IL-1) o por una proteína unida a membrana de la superficie de la célula presentadora de antígeno, como la proteína B7. La señal 1 sin la señal 2 puede inactivar la célula T. Las proteínas accesorias asociadas con el receptor de la célula T (ilustrado en la Figura 23-54A) que se requieren para generar dicha señal 1 no se muestran en la figura.

ñales (Figura 23-55). Se ha sugerido que éste puede ser el mecanismo por el que las células T se vuelven *tolerantes*, tal como estudiaremos más tarde.

Cuando una célula T colaboradora o citotóxica ha sido estimulada por un antígeno, son necesarias otras proteínas accesorias de su superficie para aumentar la fuerza de unión de la célula T a la célula diana. Por ejemplo, en el Capítulo 19 vimos que la estimulación de una célula T activa a la proteína *LFA-1 asociada a la función linfocitaria*, un miembro de la familia de las proteínas de adhesión celular de las integrinas, de forma que LFA-1 puede unirse a su ligando de la célula diana; el ligando se denomina *molécula 1 de adhesión intercelular (ICAM-1*, de Intercellular Adhesion Molecule) y constituye un miembro de la superfamilia de las Ig.

En la Tabla 23-3 se resumen algunos de los correceptores y otras proteínas accesorias de la superficie de las células T.

**Tabla 23-3 Algunas proteínas accesorias de la superficie de las células T**

Proteína*	Peso molecular aproximado	Superfamilia	Se expresa en	Ligando en la célula diana	Funciones
CD3	cadena $\gamma$ = 25 000 cadena $\delta$ = 20 000 cadena $\epsilon$ = 20 000 cadena $\zeta$ = 16 000	Ig Ig Ig -	todas las células T	-	ayuda a transmitir la señal entre el complejo MHC-antígeno unido a los receptores de la célula T
CD4	55 000	Ig	células T colaboradoras	MHC de clase II	estimula la unión entre las células presentadoras de antígeno y las células B; señala las células T
CD8	70 000 (homodímero o heterodímero)	Ig	células T citotóxicas	MHC de clase I	favorece la adhesión entre las células diana infectadas; señala las células T
CD28	80 000 (homodímero)	Ig	muchas células T citotóxicas y colaboradoras	B7	proporciona la señal 2 a algunas células T
LFA-1	cadena $a_1$ = 190 000 cadena $b_2$ = 95 000	integrina	la mayoría de leucocitos, incluyendo las células T	ICAM-1	estimula la adhesión célula-célula

\* CD significa *agrupaciones de diferenciación* (de *cluster of differentiation*), ya que cada una de las proteínas CD fue definida originalmente como un "antígeno de diferenciación" de célula T reconocida por múltiples anticuerpos monoclonales. Su identificación fue posible gracias a estudios de colaboración a gran escala mediante los cuales se generaron, en muchos laboratorios, cientos de estos anticuerpos, fueron comparados entre sí y se encontró que consistían en relativamente pocos grupos (o "agrupaciones"), cada uno de los cuales reconocía una única proteína de la superficie celular.

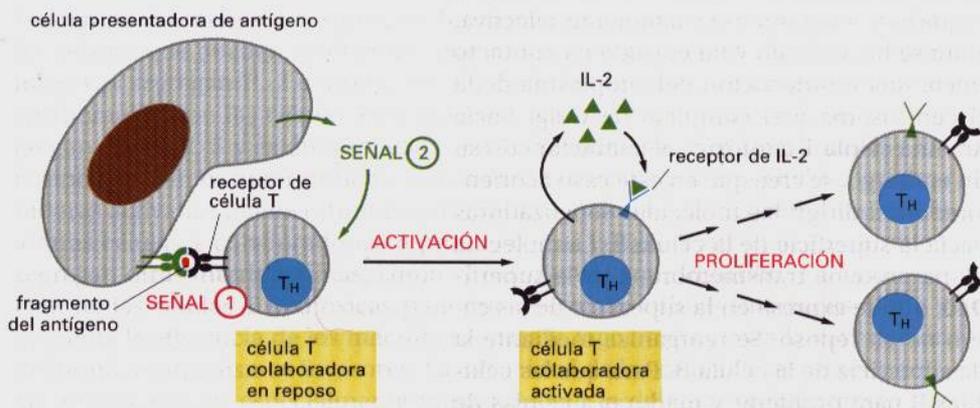
## Las células T colaboradoras, una vez activadas, se estimulan a sí mismas y a otras células T para proliferar mediante la secreción de interleuquina-2<sup>40</sup>

La acción combinada de las señales 1 y 2 provoca la proliferación de las células T colaboradoras mediante un curioso mecanismo indirecto. Dicho mecanismo provoca en las células T la estimulación de su propia proliferación por secreción simultánea de un factor de crecimiento denominado **interleuquina-2 (IL-2)** y la síntesis de receptores de superficie celular que se unen a él. La unión de IL-2 a estos receptores estimula la proliferación de la célula T. Mediante este *mecanismo autocrino*, las células T colaboradoras pueden continuar proliferando tras haber dejado la superficie de la célula presentadora de antígeno (Figura 23-56). La célula T colaboradora también puede estimular la proliferación de cualquier otra célula T, incluyendo las células T citotóxicas, que primero haya sido inducida a expresar receptores de IL-2. Sin embargo, debido a que la expresión de receptores de IL-2 es estrictamente dependiente de la estimulación por antígeno, IL-2 sólo provoca la proliferación de aquellas células T que han reaccionado con su antígeno específico.

Cuando se descubrieron los requerimientos necesarios para la proliferación de las células T, fue posible producir *líneas de células T* específicas de antígeno que proliferan indefinidamente en cultivo, mediante la administración de IL-2 y la estimulación periódica con antígeno para mantener la expresión de receptores de IL-2. Entonces se pueden aislar células de estos cultivos y generar **clones de células T**. Estos clones han tenido una importancia crítica en el estudio de las células T. Junto con los *hibridomas de células T* (que son análogos a los hibridomas de células B secretoras de anticuerpos monoclonales mencionados anteriormente y que se producen por fusión de células T específicas de un antígeno con una célula T de una línea tumoral), los clones de células T posibilitan el aislamiento de los receptores de células T y de sus genes. También han sido ampliamente utilizados para estudiar los mecanismos de activación de las células T y del papel de las células T colaboradoras en la estimulación de las respuestas de otras células, como las células B y los macrófagos.

## Para responder ante un antígeno, la mayoría de las células B necesitan la participación de las células T colaboradoras<sup>41</sup>

El papel de las células T colaboradoras en las respuestas de anticuerpos de las células B se descubrió por primera vez a mediados de los años 1960, a partir de experimentos en los que a ratones irradiados se les inyectaban células del timo o de la médula ósea con un antígeno. Los ratones que habían recibido sólo células de médula ósea o células de timo eran incapaces de producir anticuerpos; pero si se inyectaba una mezcla de células de timo y de médula ósea, producían grandes cantidades de anticuerpos. Más tarde se mostró que el timo suministra célu-



**Figura 23-56 Estimulación de la proliferación de la célula T por IL-2.** Las señales 1 y 2 activan a la célula T colaboradora para producir receptores de IL-2 y segregar IL-2. La unión de IL-2 a sus receptores estimula el crecimiento y la división de la célula. Cuando se elimina el antígeno, la célula T detiene temporalmente la producción de IL-2 y de receptores de IL-2, de tal manera que se detiene su proliferación. Veremos más adelante que algunas células T colaboradoras no producen IL-2; su proliferación, al igual que la de las células T citotóxicas, se estimula por IL-2 fabricada por las células T colaboradoras cercanas.

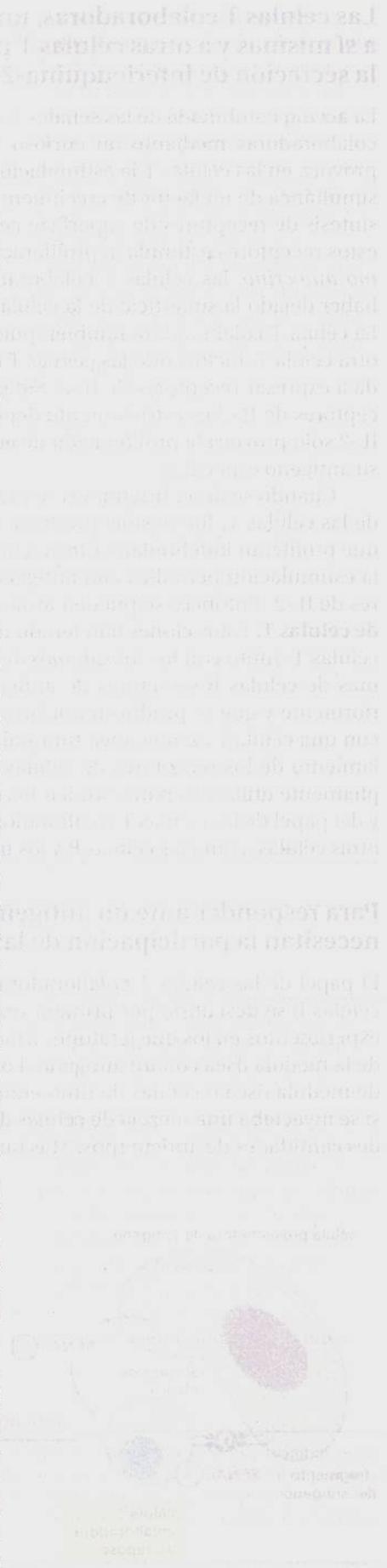
las T, mientras que la médula ósea suministra células B. El uso de un marcador específico para distinguir entre las células T y las células B inyectadas mostró que las células secretoras de anticuerpos eran sólo las células B, lo cual llevó a la conclusión de que las células T debían colaborar con las células B en la respuesta frente al antígeno.

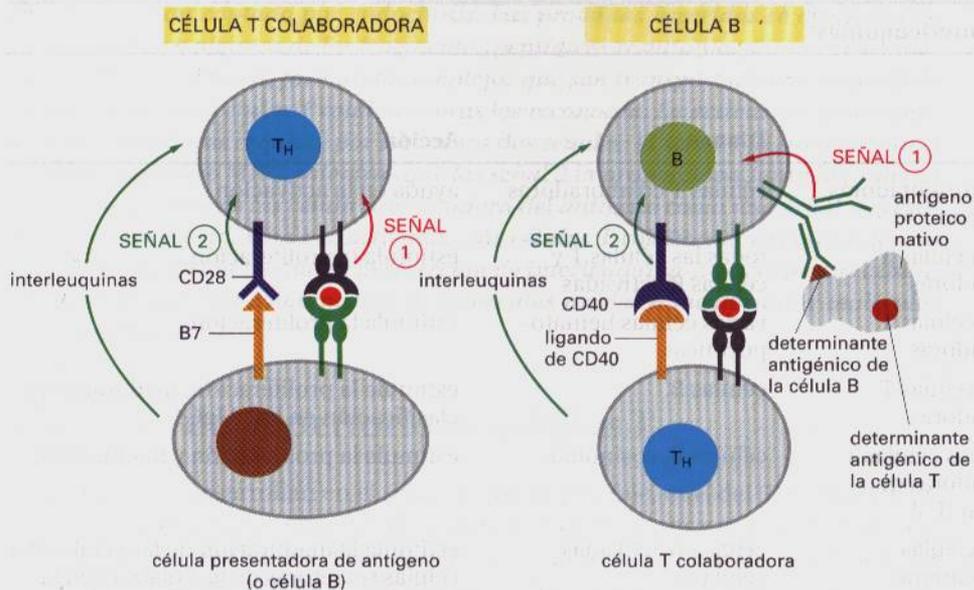
Sin embargo, existen algunos antígenos, entre los que se cuentan muchos polisacáridos bacterianos, que pueden estimular la proliferación y diferenciación en células secretoras de anticuerpos sin la ayuda de las células T. Con frecuencia estos *antígenos independientes de células T* son grandes polímeros con determinantes antigénicos idénticos repetidos (véase Figura 23-25B); su unión a múltiples puntos de las moléculas de anticuerpo unidas a la membrana, que en las células B actúan como receptores para los antígenos, puede generar una señal suficientemente intensa para activar directamente las células B; sin embargo, sólo algunas células B pueden activarse de esta forma. Debido a que estos antígenos no activan a las células T colaboradoras, tampoco inducen las células B de memoria ni provocan el cambio de clase de los anticuerpos (ambos procesos requieren la colaboración de las células T), por lo que provocan principalmente la producción de anticuerpos IgM de baja afinidad.

### La activación de las células B por células T colaboradoras se produce tanto por señales unidas a la membrana como por señales segregadas<sup>42</sup>

Mientras que las células presentadoras de antígeno, como las células dendríticas y los macrófagos, son omnívoras e ingieren y presentan antígenos inespecíficamente, generalmente una célula B sólo presenta un antígeno, que reconoce específicamente. En una respuesta primaria de anticuerpos las células T colaboradoras normalmente se activan por unión a un antígeno extraño ligado a una proteína MHC de clase II de la superficie de una célula presentadora de antígeno de tipo omnívoro —como la célula dendrítica con interdigitaciones en un órgano linfóide secundario. Una vez activada, la célula T colaboradora puede colaborar en la activación de una célula B que expone específicamente en su superficie el mismo complejo de antígeno extraño y proteínas MHC de clase II. La exposición del antígeno en la superficie de la célula B refleja la selectividad con que capta las moléculas extrañas del líquido extracelular. Dichas moléculas se seleccionan por su unión a los anticuerpos ligados a membrana específicos (receptores antigénicos) de la superficie de la célula B y se ingieren por endocitosis mediada por receptores; más tarde son degradados y reciclados hacia la superficie celular en forma de péptidos unidos a proteínas MHC de clase II. Así, la célula T colaboradora activa las células que producen anticuerpos ligados a membrana que reconocen específicamente al antígeno que ha activado inicialmente a la célula T. En las respuestas secundarias de anticuerpos, las propias células B de memoria pueden actuar como células presentadoras de antígeno y activar a las células T colaboradoras, de forma que sigan siendo las siguientes dianas de las células T colaboradoras. Las acciones mutuas de refuerzo entre las células T y las células B provocan una respuesta inmunitaria que es a la vez intensa y altamente selectiva.

Cuando una célula T colaboradora se ha activado y ha entrado en contacto con una célula B, dicho contacto inicia una reordenación del citoplasma de la célula colaboradora que orienta el centrosoma y el complejo de Golgi hacia la célula B, tal como se describió para una célula T citotóxica al contactar con su célula diana (véase Figura 23-52). Sin embargo, se cree que en este caso la orientación capacita a la célula T colaboradora a dirigir las moléculas señalizadoras unidas a membrana y segregadas hacia la superficie de la célula B. La molécula señalizadora unida a membrana es una proteína transmembrana de la superficie celular denominada **ligando CD40**, que se expresa en la superficie de las células T colaboradoras activadas, pero no en reposo. Se reorganiza mediante la proteína transmembrana **CD40** de la superficie de la célula B. Para que las células T colaboradoras activen las células B para proliferar y madurar a células de





**Figura 23-57 Comparación entre las señales requeridas para activar la célula B y la célula T colaboradora.** Obsérvese que la señal 2 puede proporcionarla tanto una molécula señalizadora segregada (una interleuquina) como una interacción en forma de contacto intercelular.

memoria y secretoras de anticuerpos se requiere la interacción entre el ligando CD40 y CD40. Esta interacción es crítica para la colaboración de la célula T: aquellos individuos que pierden el ligando CD40 debido a una mutación en el gen que codifica la proteína, únicamente pueden producir anticuerpos IgM y son inmunodeficientes agudos: son susceptibles de contraer las mismas infecciones que afectan a los pacientes de SIDA, en los que las células T colaboradoras han sido destruidas.

Las señales segregadas por las células T proporcionan una colaboración adicional activando a las células B para proliferar y madurar y, en algunos casos, cambiando la clase de anticuerpo que producen. La **interleuquina-4 (IL-4)** constituye este tipo de señal. Estimula la proliferación y la maduración de las células B y estimula el cambio a la producción de anticuerpos IgE e IgG1: si en un ratón se inactiva el gen *IL-4* mediante recombinación genética vectorial, el ratón es incapaz de producir IgE y fabrica muy poca IgG1.

Así, la mayoría de células B, al igual que las células T, requieren múltiples señales de activación, una de ellas proporcionada por la unión del antígeno a las moléculas Ig unidas a membrana y las otras proporcionadas por las células T colaboradoras; como ocurre en el caso de las células T, si una célula B recibe solamente la primera señal, puede ser inactivada funcionalmente. En la Figura 23-57 se comparan las señales que se requieren para la activación de las células T colaboradoras y las células B.

### Algunas células T colaboradoras activan las células T citotóxicas y los macrófagos mediante la secreción de interleuquinas<sup>43</sup>

Existen por lo menos dos subclases funcionalmente distintas de células T colaboradoras, que pueden distinguirse por las interleuquinas que segregan. Las **células T<sub>H</sub>1** segregan IL-2 e interferón- $\gamma$ , y están implicadas principalmente en la colaboración con las células T citotóxicas y los macrófagos. Las **células T<sub>H</sub>2** segregan IL-4 e IL-5 y están implicadas en la colaboración con las células B y los eosinófilos. Vimos anteriormente que la IL-2 segregada por las células T colaboradoras activadas puede estimular a las células T citotóxicas activadas (así como a otras células T colaboradoras) a proliferar. Las células T estimuladas también segregan otras interleuquinas, como el *interferón- $\gamma$* , que contribuye a la activación de las células T citotóxicas para que destruyan células infectadas diana y aumenta la eficiencia de los macrófagos para la fagocitosis y para la destrucción de los microorganismos invasores. La capacidad de las células T de atraer y activar macrófagos es especialmente importante en la defensa de infecciones por

**Tabla 23-4 Propiedades de algunas interleuquinas\***

Interleuquina (IL)	Peso molecular aproximado	Fuente	Diana	Acción
IL-1	15 000	células presentadoras de antígeno	células T colaboradoras	ayuda en la activación
IL-2	15 000	algunas células T colaboradoras	todas las células T y células B activadas	estimula la proliferación
IL-3	25 000	algunas células T colaboradoras	varias células hematopoyéticas	estimula la proliferación
IL-4	20 000	algunas células T colaboradoras	células B	estimula la proliferación, maduración y clasificación en IgE e IgG1
IL-5	20 000	las mismas células T colaboradoras que producen IL-4	células B, eosinófilos	estimula la proliferación y maduración
IL-6	25 000	algunas células T colaboradoras y macrófagos	células B activadas, células T	estimula la maduración de las células B a células secretoras de Ig; colabora en la activación de las células T
interferón- $\gamma$	25 000 (dímero)	las mismas células T colaboradoras que producen IL-2	células B, macrófagos, células endoteliales	activa diversos genes MHC y macrófagos

\* Las *interleuquinas* son péptidos y proteínas secretados que principalmente median interacciones locales entre células blancas de la sangre (leucocitos) pero que no unen antígeno; las que son secretadas por linfocitos también se denominan *linfoquinas*. Se conoce la secuencia de aminoácidos de todas las proteínas listadas. Las fuentes, células diana y las funciones listadas son las más relevantes para el sistema inmunitario, pero la mayoría de las interleuquinas tienen muchas más fuentes, dianas y acciones de las que se muestran aquí. Éste es el caso de IL-1 e IL-6, que también son producidas por células no sanguíneas y actúan sobre muchos tipos de células diana diferentes de las células sanguíneas; por consiguiente se denominan con más exactitud, *citoquinas*.

microorganismos que pueden sobrevivir a la simple fagocitosis por macrófagos no activados. La tuberculosis es una de estas infecciones.

La secreción de interleuquinas desencadenada por el antígeno es el fundamento de la conocida prueba epidérmica de la tuberculina. Si se inyecta tuberculina (un extracto de la bacteria causante de la tuberculosis) en la piel de individuos que han sido inmunizados contra la tuberculosis o han sufrido la enfermedad, (y por consiguiente poseen las células T de memoria apropiadas) se produce en la piel una respuesta inmunitaria característica. Se inicia en el sitio de la inyección por la secreción de interleuquinas por las células T colaboradoras de memoria, que reaccionan a la tuberculina. Las interleuquinas atraen a los macrófagos (y a los linfocitos) hacia el lugar de la administración, causando de este modo la hinchazón característica de una reacción positiva a la tuberculina.

Otro importante efecto del interferón- $\gamma$  es la inducción de la expresión de las glucoproteínas MHC de clase II en la superficie de algunas células (como las células endoteliales) que normalmente no las expresan. Esto capacita a estas células para la presentación del antígeno a las células T colaboradoras. Tal como se vio anteriormente, el interferón- $\gamma$  también incrementa la eficiencia con que las células diana presentan el péptido vírico asociado con moléculas MHC de clase I para que sean reconocidas por las células T citotóxicas.

En la Tabla 23-4 aparecen algunas de las interleuquinas segregadas por las células T colaboradoras, o por las células presentadoras de antígeno.

## Resumen

**Las células T colaboradoras activan a las células B y a los macrófagos. Dichas células son activadas a su vez cuando reconocen fragmentos peptídicos derivados de proteínas extrañas extracelulares que las células especializadas presentadoras**

de antígeno han captado por endocitosis. Las proteínas ingeridas se degradan en los endosomas y algunos de los fragmentos peptídicos resultantes se unen a las moléculas MHC de clase II, formando complejos que son transportados a la superficie celular, donde las células T colaboradoras los reconocen. La activación de las células T colaboradoras requiere por los menos dos señales: la señal 1 la suministran el complejo peptídico MHC, mientras que la señal 2 la proporciona tanto la proteína B7 de la superficie de la célula presentadora del antígeno como una señal segregada por dicha célula. Una vez activadas, las células T colaboradoras estimulan su propia proliferación mediante la secreción de interleuquina-2 y activan sus células diana mediante una combinación de moléculas unidas a membrana y moléculas señal segregadas.

## Selección del repertorio de células T

Las células T se desarrollan en el timo. De forma notable, más del 95% de las células que se fabrican mueren antes de ser capaces de madurar y migrar hacia los órganos linfoides periféricos. Este excedente es debido sobre todo a los estrictos procesos de selección que actúan durante el desarrollo de las células T asegurando que únicamente sobrevivan aquellas células que tengan receptores potencialmente funcionales. En esta sección vamos a estudiar los procesos de selección positiva y negativa que colaboran en la configuración del repertorio de las células T. Ello nos conducirá a considerar por qué los individuos difieren genéticamente en su respuesta inmunitaria y por qué las moléculas MHC que presenta el antígeno a las células T presentan una variabilidad genética tan acusada.

### Las células T que reconocen péptidos asociados a las moléculas MHC propias son seleccionadas positivamente durante su desarrollo en el timo<sup>44</sup>

Hemos visto anteriormente que las células T reconocen el antígeno en asociación con las propias moléculas MHC pero no asociadas con moléculas MHC extrañas, es decir, que presentan la *restricción MHC*. Dicha restricción refleja un proceso de **selección positiva** durante el desarrollo del timo, por lo cual las células inmaduras que sean capaces del reconocimiento de péptidos extraños presentados por las moléculas MHC propias son seleccionadas para sobrevivir, mientras que las restantes, que no podrían ser utilizadas por el organismo, mueren. Esta restricción MHC es una propiedad adquirida del sistema inmunitario que se pone de manifiesto cuando las células T se desarrollan en el timo.

Por ejemplo, si un timo de la cepa Y es transplantado a un ratón de la cepa X que ha sido irradiado para eliminar todas sus células T maduras y al que después se le ha transplantado médula ósea fresca para proveerlo de células nuevas, estas células T de la cepa X se desarrollan en el timo de la cepa Y. En la mayoría de experimentos de este tipo, las células T maduras de la cepa X producidas reconocen antígenos extraños asociados con glucoproteínas MHC de la cepa Y pero no con proteínas MHC de la cepa X, lo que sugiere que el timo dicta la especificidad de la restricción MHC. Dado que las células T se desarrollan en el timo, se seleccionan las que puedan reconocer antígenos en asociación con los tipos de moléculas MHC expresadas, y sobreviven y proliferan. Experimentos similares demuestran que las células epitelioides del timo son las responsables del proceso de selección positiva.

La vía más directa para el estudio del proceso de selección es el seguimiento del destino de un conjunto de células T de especificidad conocida. Esto puede realizarse utilizando ratones transgénicos que expresan un par específico de genes de receptores de célula T,  $\alpha$  y  $\beta$ , derivados de un clon de células T de especificidades MHC y antigénica conocidas. Como en el caso de los genes para inmunoglobulinas en las células B, la expresión de transgenes de receptores de células T reordenados inhibe la reordenación de genes de receptores de células

T endógenos, asegurando la exclusión alélica, de forma que en estos ratones transgénicos una gran proporción de las células T expresa únicamente el receptor transgénico. Así, puede ser fácilmente controlado el destino de las células T con una especificidad conocida. Este tipo de experimentos demuestran que las células T transgénicas maduran y se reparten en los tejidos linfoides periféricos tan sólo si el ratón transgénico también expresa la misma forma alélica de la molécula MHC tal como es reconocida por el receptor de la células T transgénica; si el ratón no expresa la molécula MHC apropiada, las células T transgénicas mueren en el timo. Así, tal como sugieren los experimentos de transplante de timo, la supervivencia y maduración de una célula T depende de la pugna entre su receptor y las moléculas MHC expresadas en el timo. Formando parte de este proceso de selección positivo, las células T citotóxicas se seleccionan en función del reconocimiento de moléculas MHC de clase I mientras que las células T colaboradoras se seleccionan en función del reconocimiento de las moléculas MHC de clase II. De esta forma, ratones obtenidos por ingeniería genética que carecen de moléculas MHC de clase I de la superficie celular pierden específicamente células T citotóxicas, mientras que ratones que carecen de moléculas MHC de clase II carecen específicamente de células T colaboradoras.

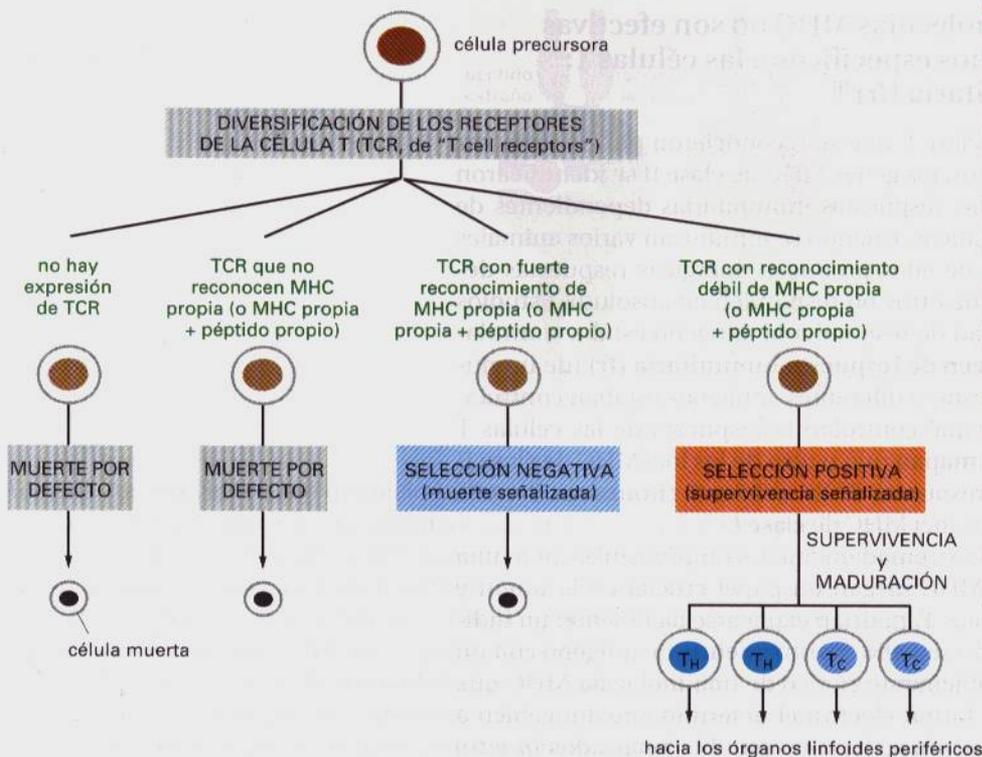
La selección positiva deja todavía por resolver un gran problema. Si las células T en desarrollo con receptores que reconocen péptidos propios asociados con moléculas MHC propias maduraran en el timo y migraran hacia los tejidos linfoides periféricos, deberían causar estragos. Para evitar este desastre se requiere un segundo proceso de *selección negativa* en el timo.

### **Las células T en desarrollo que reaccionan fuertemente con los péptidos propios unidos a moléculas MHC propias son eliminadas en el timo<sup>44, 45</sup>**

Tal como vimos previamente, una característica fundamental del sistema inmunitario es que puede distinguir lo "propio" de lo "no propio" y normalmente no reacciona contra moléculas propias. Dicho estado de *autotolerancia inmunológica* se adquiere principalmente durante el desarrollo de las células T. Aunque algunas células B autorreactivas se inactivan o eliminan durante su desarrollo, parece que el principal mecanismo para la autotolerancia es la deleción en el timo del desarrollo de las células T autorreactivas —es decir, células T cuyos receptores se unen fuertemente al complejo de un péptido propio unido a una molécula MHC propia. Debido a que la mayoría de células B requieren células T colaboradoras para responder frente al antígeno, la eliminación de células T colaboradoras autorreactivas también asegura que las células B autorreactivas sean inocuas.

Por consiguiente, no es suficiente para el timo seleccionar *a favor de* las células T que reconocen moléculas MHC propias; debe también seleccionar *contra* aquellas células T que reconocen moléculas MHC propias que forman complejos con péptidos propios —en otras palabras, para sobrevivir debe escoger sólo aquellas células T que sean capaces de reconocer moléculas MHC propias que forman complejos con péptidos extraños, aún cuando estos péptidos no se hallen presentes en el timo en desarrollo. Se cree que tales células T se unen débilmente en el timo a moléculas MHC propias que son transportadas por péptidos propios emparejados a los receptores de la célula T. Así puede alcanzarse el objetivo propuesto (1) asegurando que mueran las células T que se unan *fuertemente* a los complejos MHC-péptidos en el timo al tiempo que (2) se facilita la supervivencia de las células que se unan débilmente y (3) se permite la muerte de aquellas células T que no se unan en absoluto. El proceso 2 es la selección positiva que ya hemos visto. El proceso 1 se denomina **selección negativa** (Figura 23-58).

La prueba más convincente de la selección negativa proviene una vez más de experimentos con ratones transgénicos. Después de la introducción de transgenes de receptores de célula T que codifican un receptor que reconoce, por ejemplo, un antígeno peptídico específico masculino, en el timo y en órganos



**Figura 23-58 Selección positiva y negativa en el timo.** Sólo se seleccionan para sobrevivir, madurar y migrar hacia los órganos linfoides periféricos aquellas células que tienen receptores que reconocen péptidos extraños asociados a moléculas MHC propias; todas las células restantes experimentan la muerte celular programada. En el transcurso del proceso de la selección positiva, las células T colaboradoras ( $T_H$ ) y las células T citotóxicas ( $T_c$ ) divergen por un mecanismo desconocido, de tal forma que las células colaboradoras expresan el correceptor CD4 pero no el CD8 y reconocen péptidos extraños asociados a moléculas MHC de clase II, mientras que las células T citotóxicas expresan CD8 pero no CD4 y reconocen péptidos extraños asociados a moléculas MC de clase I (no se muestran en la figura).

linfoides periféricos de ratones hembra se encuentran grandes cantidades de células T maduras que expresan el receptor transgénico, pero se encuentran muy pocas en los ratones macho, en los que las células mueren en el timo antes de tener oportunidad de madurar. Al igual que la selección positiva, la selección negativa requiere la interacción de un receptor de célula T y un correceptor CD4 o CD8 con una molécula MHC apropiada. Sin embargo, a diferencia de la selección positiva que tiene lugar principalmente en la superficie de las células epiteliales del timo, la selección negativa se produce principalmente en la superficie de otras células, como las células dendríticas o los macrófagos, que se forman en la médula ósea y migran hacia el timo. Al igual que las células epiteliales, poseen en su superficie tanto moléculas MHC de clase I como de clase II.

Los mecanismos responsables de la selección positiva y negativa de las células T en el timo se desconocen, pero en ambos casos se cree que se halla implicada la muerte celular programada (estudiada en los Capítulos 21 y 22). Parece que durante la selección positiva las células epiteliales del timo proporcionan señales de supervivencia para unirse débilmente a las células T, evitando la autodestrucción de las células T. En la selección negativa, por el contrario, las células derivadas de las células derivadas de la médula ósea señalizan la unión fuerte de las células T para destruirse a sí mismas (Figura 23-58).

La supresión en el timo de células T autorreactivas no puede eliminar todas las células T potencialmente autorreactivas, ya que algunas moléculas propias no se hallan presentes en el timo. Probablemente algunas de las células T con receptores que reconocen este tipo de moléculas propias son eliminadas después de abandonar el timo, pero las otras pueden ser funcionalmente inactivadas mediante un proceso denominado *anergia clonal* (para distinguirlo de la *delección clonal*, en el que mueren las células autorreactivas; véase pág. 1290). Aunque el mecanismo molecular de anergia clonal es incierto, se ha postulado que las células T reconocen péptidos propios unidos a moléculas MHC de la superficie de células de tejidos que son incapaces de proporcionar la señal 2; como se verá más adelante, la señal 1 sin la señal 2 puede inactivar una célula T sin destruirla.

## Algunas formas alélicas de moléculas MHC no son efectivas en la presentación de antígenos específicos a las células T: genes de la respuesta inmunitaria (*Ir*)<sup>46</sup>

A diferencia de los genes MHC de clase I, que se reconocieron por primera vez por su efecto en el rechazo de injertos, los genes MHC de clase II se identificaron por primera vez por su efecto en las respuestas inmunitarias dependientes de células T a antígenos solubles específicos. Cuando se inmunizan varios animales con un antígeno sencillo, algunos de ellos producen energéticas respuestas dependientes de células T mientras que otros no responden en absoluto. Estudios genéticos indicaron que la capacidad de responder al antígeno estaba controlada por un único gen, denominado **gen de respuesta inmunitaria (*Ir*)** (de Immune Response); a menudo, las respuestas a diferentes antígenos estaban controladas por *Ir* diferentes. Los genes *Ir* que controlan la respuesta de las células T colaboradoras frente a un antígeno mapan uno u otro de los loci MHC de clase II mientras que los que controlan la respuesta de las células T citotóxicas frente a un antígeno mapan uno u otro de los loci MHC de clase I.

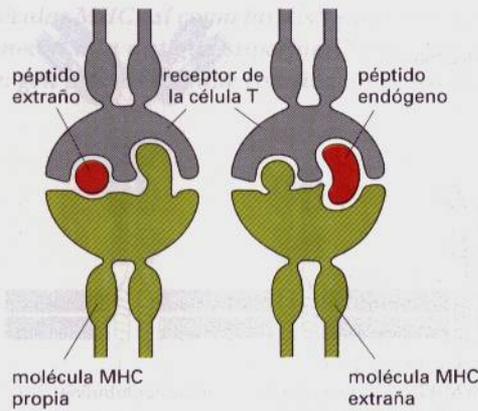
Estas observaciones resultaban extremadamente incomprensibles, pero una vez reconocido que las proteínas MHC juegan un papel crucial en la unión y presentación del antígeno a las células T, podrían explicarse fácilmente: un individuo que no responde a un antígeno sencillo (normalmente un antígeno con un solo determinante antigénico) posiblemente carece de una molécula MHC que pueda unirse a él, presentando de forma efectiva el determinante antigénico a una célula T apropiada. Esta explicación se basa en estudios realizados *in vitro* que mostraron que las moléculas MHC de clase II purificadas procedentes de un animal *que responde inmunológicamente al antígeno* pueden unir el péptido relacionado, mientras que las procedentes de un animal *que no responde*, no pueden hacerlo.

Sin embargo, en algunos casos parece que el responsable de la falta de respuesta genética a antígenos específicos es otro mecanismo. Es probable que algunas combinaciones de moléculas MHC propias con péptidos extraños se parezcan a algunas combinaciones de moléculas MHC y péptidos propios. Debido a que las células T colaboradoras que reaccionan frente a estas combinaciones son eliminadas por selección negativa durante su desarrollo en el timo, un animal puede ser genéticamente incapaz de responder a estos péptidos extraños.

## El papel de las proteínas MHC en la presentación del antígeno a las células T proporciona una explicación de las reacciones de trasplante y del polimorfismo MHC<sup>47</sup>

El papel de las proteínas MHC en la unión y presentación de antígenos extraños a las células T proporciona una explicación de por qué muchas células T responden frente a moléculas MHC extrañas, rechazando por consiguiente injertos de órganos extraños. Posiblemente, proteínas MHC extrañas con un péptido endógeno en su surco de unión al péptido constituyen complejos que pueden parecerse a moléculas MHC propias que forman complejos con péptidos extraños. Por ejemplo, algunos clones de células T citotóxicas que reaccionan frente a un antígeno vírico en asociación con una molécula MHC de clase I propia, también reaccionan frente a una molécula MHC de clase I extraña en ausencia del antígeno vírico (Figura 23-59).

La función de las proteínas MHC presentadoras de antígeno puede explicar también el amplio polimorfismo de estas moléculas. En la lucha evolutiva entre los microorganismos patógenos y el sistema inmunitario de los vertebrados, los microorganismos tenderán a cambiar sus antígenos para evitar la asociación a las moléculas MHC. Cuando uno de ellos lo logre, será capaz de extenderse por una población como una epidemia. En estas circunstancias, el escaso número de individuos que produzcan una molécula MHC nueva que pueda asociarse con un antígeno del microorganismo alterado tendrá una gran ventaja selectiva.



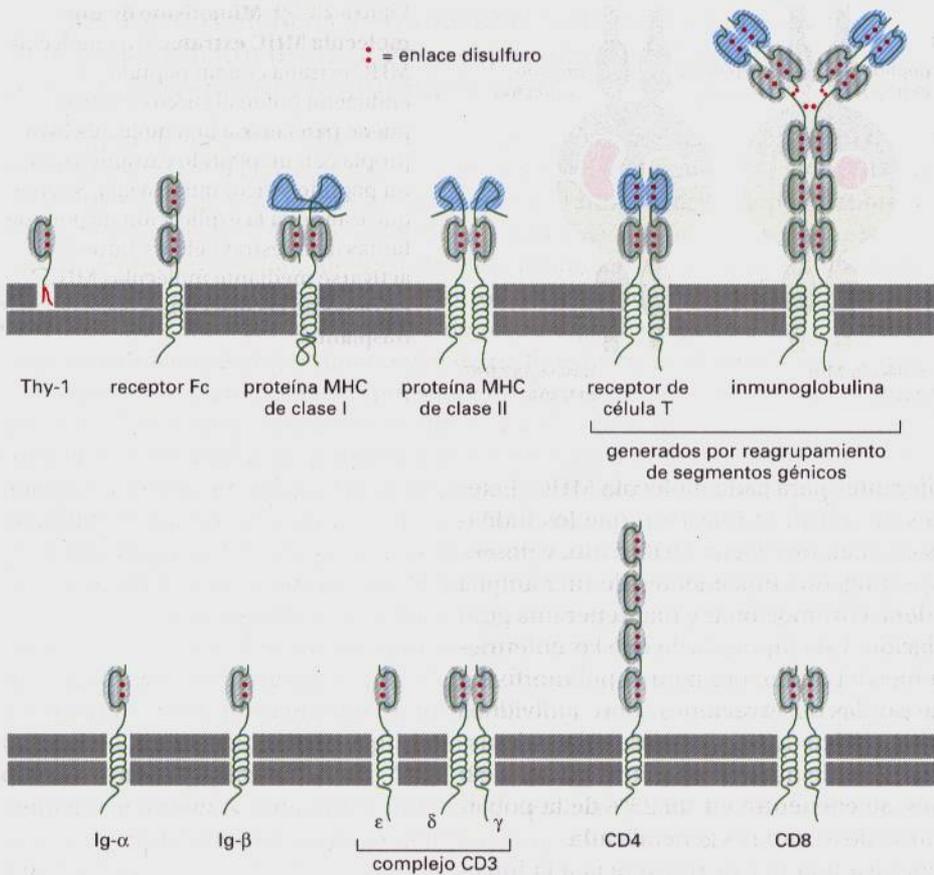
**Figura 23-59 Mimetismo de una molécula MHC extraña.** Una molécula MHC extraña con un péptido endógeno unido al surco de unión puede parecerse a una molécula MHC propia con un péptido extraño (como un péptido vírico) unido a ella. Se cree que ésta sería la explicación de por qué tantas de nuestras células T pueden activarse mediante moléculas MHC extrañas en las reacciones de trasplante.

Además, los individuos con dos alelos diferentes para cada molécula MHC (heterocigotos) tendrán mayores posibilidades de resistir la infección que los individuos que tengan los dos alelos idénticos en cualquier locus MHC dado, y poseerán una mayor capacidad para presentar antígenos procedentes de una amplia gama de patógenos. Así, la selección tenderá a promocionar y mantener una gran diversidad de moléculas MHC en la población. Esta hipótesis de que las enfermedades infecciosas han proporcionado la fuerza conductora para el polimorfismo MHC ha sido consolidada recientemente por las observaciones sobre individuos de África occidental que poseen un alelo específico de MHC y presentan una susceptibilidad reducida frente a una forma severa de malaria; mientras que el alelo raramente se encuentra en otras regiones, se encuentra en un 25% de la población de África occidental, donde dicha forma de malaria es generalizada.

Si una mayor diversidad de MHC significa una mayor resistencia a la infección, ¿por qué poseemos tan pocos loci que codifican estas moléculas, y por qué no hemos desarrollado estrategias para incrementar su diversidad —mediante maduración alternativa de RNA, por ejemplo, o mediante mecanismos de recombinación genética encaminados a diversificar los anticuerpos? Posiblemente, sea debido a que cada vez que una nueva molécula MHC se añade al repertorio, las células T que reconocen péptidos propios asociados con una nueva molécula de MHC deben eliminarse para mantener la autotolerancia. La eliminación de dichas células T debería contrarrestar la ventaja de añadir la nueva molécula MHC. Así, el número de moléculas MHC que expresamos puede representar un equilibrio entre las ventajas de presentar una gran diversidad de péptidos extraños a las células T y las desventajas de restringir el conjunto de células T.

### Las moléculas de reconocimiento inmunitario pertenecen a una antigua superfamilia<sup>48</sup>

La mayoría de las proteínas que median el reconocimiento célula-célula o el reconocimiento de antígenos en el sistema inmunitario contienen elementos estructurales relacionados, lo cual sugiere que los genes que las codifican poseen una historia evolutiva común. Incluidos en esta **superfamilia Ig** se encuentran los *anticuerpos*, los *receptores de las células T*, las *proteínas MHC*, los correceptores *CD4*, *CD8* y *CD28*, la mayoría de las cadenas polipeptídicas invariables asociadas con los receptores de células B y T, y los varios *receptores Fc* de linfocitos y de otros glóbulos blancos —todos ellos contienen uno o más dominios de inmunoglobulina o con aspecto de inmunoglobulina (*unidades de homología Ig*). En realidad, un 40% de los aproximadamente 150 polipéptidos que han sido caracterizados de la superficie de los glóbulos blancos pertenecen a esta superfamilia. Cada uno de estos dominios con aspecto de inmunoglobulina consta de unos 70-110 aminoácidos de longitud y parece que se pliega según una estructura característica con aspecto de “bocadillo” formada por dos láminas  $\beta$  antiparalelas, estabilizadas normalmente por un enlace disulfuro conservado. Muchas de estas



**Figura 23-60** Algunas de las proteínas de membrana pertenecientes a la superfamilia de las inmunoglobulinas. Los dominios de la inmunoglobulina se muestran en color *gris* y los dominios de unión al antígeno en *azul*. La superfamilia de las inmunoglobulinas también incluye muchas proteínas de superficie celular implicadas en las interacciones célula-célula fuera del sistema inmunitario, tales como la molécula de adhesión celular neural (N-CAM) estudiada en el Capítulo 19 y los receptores para diferentes factores de crecimiento estudiados en los Capítulos 15 y 17 (no se muestran en la figura).

moléculas son dímeros u oligómeros mayores en los cuales los dominios con aspecto de inmunoglobulina de una cadena interactúan con las de la otra (Figura 23-60).

Normalmente, la mayoría de los aminoácidos de cada dominio con aspecto de inmunoglobulina están codificados por un exón, y parece probable que la familia supergénica entera evolucionara a partir de un gen codificante de un único dominio con aspecto de inmunoglobulina –similar al que codifica la  $\beta_2$ -microglobulina (véase Figura 23-45A) o la proteína Thy-1 (véase Figura 23-60)– que pueden haber participado en la mediación de las interacciones célula-célula. Existen evidencias que demuestran que este gen primordial surgió antes de que los vertebrados divergieran de sus antepasados invertebrados, hace unos 400 millones de años. Probablemente los miembros de la nueva familia surgieron por duplicación de genes y de exones; sucesos de duplicación similares a éstos dieron lugar probablemente a los segmentos génicos múltiples codificantes de los anticuerpos y de los receptores de las células T.

## Resumen

*El conjunto de células T se mantienen principalmente por una combinación de procesos de selección positiva y negativa que actúan en el timo durante el desarrollo de las células T. Dichos procesos aseguran que sólo sobrevivan y maduren las células T con receptores potencialmente útiles mientras que las otras sufren la muerte celular programada: las células T que sean capaces de reconocer péptidos extraños que forman complejos con moléculas MHC propias son seleccionadas positivamente, mientras que las células T que reaccionan fuertemente con péptidos propios que forman complejos con moléculas MHC propias son eliminadas.*

*La mayoría de las proteínas implicadas en el reconocimiento intercelular y en el reconocimiento antigénico en el sistema inmunitario, incluyendo los anticuer-*

pos, los receptores de células T y las moléculas MHC así como los distintos correceptores estudiados en este capítulo, pertenecen a la antigua superfamilia Ig, que se cree que ha evolucionado a partir de un gen primordial que codifica un único dominio con aspecto de inmunoglobulina.

## Bibliografía

### General

- Abbas, A.K.; Lichtman, A.H.; Pober, J.S. Cellular and Molecular Immunology. Philadelphia: Saunders, 1991.
- Golub, E.S.; Green, D.R. Immunology: A Synthesis, 2nd ed. Sunderland, MA: Sinauer, 1991.
- Janeway, C.; Travers, P. Immunobiology: London and New York: Current Science and Garland, 1994.
- Kuby, J. Immunology. New York: W.H. Freeman, 1992.
- Paul, W.E., ed. Fundamental Immunology. New York: Raven Press, 1984.

### Citas

1. Gowans, J.L.; McGregor, D.D. The immunological activities of lymphocytes. *Progr. Allergy* 9:1-78, 1965.
2. Greaves, M.F.; Owen, J.J.T.; Raff, M.C. T and B Lymphocytes: Origins, Properties and Roles in Immune Responses. Amsterdam: Excerpta Medica, 1973.
3. Cooper, M.; Lawton, A. The development of the immune system. *Sci. Am.* 231(5):59-72, 1974.
- Ikuta, K.; Uchida, N.; Friedman, J.; Weissman, I.L. Lymphocyte development from stem cells. *Annu. Rev. Immunol.* 10:759-784, 1992.
- Owen, J.J.T. Ontogenesis of lymphocytes. In B and T Cells in Immune Recognition (F. Loo, G.E. Roelants, eds.), pp. 21-34. New York: Wiley, 1977.
4. Barclay, A.N., et al. The Leucocyte Antigens Facts Book. San Diego, CA: Academic Press, 1993.
- Möller, G., ed. Functional T Cell Subsets Defined by Monoclonal Antibodies. *Immunol. Rev.* 74, 1983.
- Raff, M.C. Cell-surface immunology. *Sci. Am.* 234(5):30-39, 1976.
- Reinherz, E.L.; Schlossman, S.F. The differentiation and function of human T lymphocytes. *Cell* 19:821-827, 1980.
5. Ada, G.L. Antigen binding cells in tolerance and immunity. *Transplant. Rev.* 5:105-129, 1970.
- Ada, G.L.; Nossal, G. The clonal selection theory. *Sci. Am.* 257(2):62-69, 1987.
- Burnet, F.M. The Clonal Selection Theory of Acquired Immunity. Nashville, TN: Vanderbilt University Press, 1959.
- Jerne, N.K. The immune system. *Sci. Am.* 229(1):52-60, 1973.
- Wigzell, H. Specific fractionation of immunocompetent cells. *Transplant. Rev.* 5:76-104, 1970.
6. Laver, W.G.; Air, G.M.; Webster, R.G.; Smith-Gill, S.J. Epitopes on protein antigens: misconceptions and realities. *Cell* 61:553-556, 1990.
- Pink, J.R.L.; Askonas, B.A. Diversity of antibodies to cross-reacting nitrophenyl haptens in inbred mice. *Eur. J. Immunol.* 4:426-429, 1974.

7. Bevilacqua, M.P. Endothelial-leukocyte adhesion molecules. *Annu. Rev. Immunol.* 11:767-804, 1993.
- Gowans, J.L.; Knight, E.J. The route of re-circulation of lymphocytes in the rat. *Proc. R. Soc. Lond. (Biol.)* 159:257-282, 1964.
- Mackay, C.R. Homing of naïve, memory and effector lymphocytes. *Curr. Opin. Immunol.* 5:423-427, 1993.
- Picker, L.J.; Butcher, E.C. Physiological and molecular mechanisms of lymphocyte homing. *Annu. Rev. Immunol.* 10:561-591, 1992.
- Springer, T.A. Adhesion receptors of the immune system. *Nature* 346:425-434, 1990.
8. Gray, D. Immunological memory. *Annu. Rev. Immunol.* 11:49-77, 1993.
- Mackay, C.R. Immunological memory. *Adv. Immunol.* 53:217-265, 1993.
- Sprent, J. Lifespans of naïve, memory and effector lymphocytes. *Curr. Opin. Immunol.* 5:433-438, 1993.
- Vitetta, E.S., et al. Memory B and T cells. *Annu. Rev. Immunol.* 9:193-217, 1991.
9. Billingham, R.E.; Brent, L.; Medawar, P.B. Quantitative studies on tissue transplantation immunity. III. Actively acquired tolerance. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. (Biol.)* 239:357-414, 1956.
- Harris, D.E.; Cairns, L.; Rosen, F.S.; Borel, Y. A natural model of immunologic tolerance. Tolerance to murine C5 is mediated by T cells and antigen is required to maintain unresponsiveness. *J. Exp. Med.* 156:567-584, 1982.
- Lindstrom, J. Immunobiology of myasthenia gravis, experimental autoimmune myasthenia gravis and Lambert-Eaton syndrome. *Annu. Rev. Immunol.* 3:109-132, 1985.
- Nossal, G.J.V. Cellular and molecular mechanisms of B lymphocyte tolerance. *Adv. Immunol.* 52:283-331, 1992.
- Owen, R.D. Immunogenetic consequence of vascular anastomoses between bovine twins. *Science* 102:400-401, 1945.
- Schwartz, R.H. Acquisition of immunologic self-tolerance. *Cell* 57:1073-1081, 1989.
10. Davies, D.R.; Metzger, H. Structural basis of antibody function. *Annu. Rev. Immunol.* 1:87-118, 1983.
- Kabat, E.A. Structural Concepts in Immunology and Immunochemistry, 2nd ed. New York: Holt, Rinehart and Winston, 1976.
- Nisonoff, A.; Hopper, J.E.; Spring, S.B. The Antibody Molecule. New York: Academic Press, 1975.
11. DeFranco, A.L. Structure and function of the B cell antigen receptor. *Annu. Rev. Cell Biol.* 9:377-410, 1993.
- Möller, G., ed. Lymphocyte Immunoglobulin: Synthesis and Surface Representation. *Transplant. Rev.* 14, 1973.
- Reth, M. Antigen receptors on B lymphocytes. *Annu. Rev. Immunol.* 10:97-122, 1992.

12. Dutton, R.W.; Mishell, R.I. Cellular events in the immune response. The *in vitro* response of normal spleen cells to erythrocyte antigens. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 32:407-414, 1967.
- Jerne, N.K., et al. Plaque forming cells: methodology and theory. *Transplant. Rev.* 18:130-191, 1974.
13. Edelman, G.M. The structure and function of antibodies. *Sci. Am.* 223(2):34-42, 1970.
- Porter, R.R. Structural studies of immunoglobulins. *Science* 180:713-716, 1973.
14. Burton, D.R.; Woof, J.M. Human antibody effector function. *Adv. Immunol.* 51:1-84, 1992.
- Ishizaka, T.; Ishizaka, K. Biology of immunoglobulin E. *Progr. Allergy* 19:60-121, 1975.
- Koshland, M.E. The coming of age of the immunoglobulin J chain. *Annu. Rev. Immunol.* 3:425-454, 1985.
- Kraehenbuhl, J.-P.; Neutra, M.R. Transepithelial transport and mucosal defense II: secretion of IgA. *Trends Cell Biol.* 2:170-174, 1992.
- Metzger, H. The receptor with high affinity for IgE. *Immunol. Rev.* 125:37-48, 1992.
- Morgan, E.L.; Weigle, W.O. Biological activities residing in the Fc region of immunoglobulin. *Adv. Immunol.* 40:61-134, 1987.
- Ravetch, J.V.; Kinet, J.-P. Fc receptors. *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492, 1991.
15. Berzofsky, J.A.; Berkover, I.J. Antigen-antibody interactions. In *Fundamental Immunology* (W.E. Paul, ed.), pp. 595-644. New York: Raven Press, 1984.
- Davies, D.R.; Sheriff, S.; Padlan, E.A. Antibody-antigen complexes. *J. Biol. Chem.* 263:10541-10544, 1988.
16. Müller-Eberhard, H.J. Molecular organization and function of the complement system. *Annu. Rev. Biochem.* 57:321-348, 1988.
- Reid, K.B. Activation and control of the complement system. *Essays Biochem.* 22:27-68, 1986.
- Reid, K.B.M.; Day, A.J. Structure-function relationships of the complement components. *Immunol. Today* 10:177-180, 1989.
- Tomlinson, S. Complement defense mechanisms. *Curr. Opin. Immunol.* 5:83-89, 1993.
17. Capra, J.D.; Edmundson, A.B. The antibody combining site. *Sci. Am.* 236(1):50-59, 1977.
- Wu, T.T.; Kabat, E.A. An analysis of the sequences of the variable regions of Bence Jones proteins and myeloma light chains and their implications for antibody complementarity. *J. Exp. Med.* 132:211-250, 1970.
18. Sakano, H., et al. Domains and the hinge region of an immunoglobulin heavy chain are encoded in separate DNA segments. *Nature* 277:627-633, 1979.
19. Alzari, P.M.; Lascombe, M.-B.; Poljak, R.J. Three-dimensional structure of antibodies. *Annu. Rev. Immunol.* 6:555-580, 1988.
- Davies, D.R.; Padlan, E.A.; Sheriff, S. Antibody-antigen complexes. *Annu. Rev. Biochem.* 59:439-473, 1991.
- Standfield, R.L.; Fieser, T.M.; Lerner, R.A.; Wilson, I.A. Crystal structures of antibody to a peptide and its complex with peptide antigen at 2.8 Å. *Science* 248:712-719, 1990.
20. Hozumi, N.; Tonegawa, S. Evidence for somatic rearrangement of immunoglobulin genes coding for variable and constant regions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 73:3628-3632, 1976.
21. Alt, F.W.; Blackwell, T.K.; Vancopoulos, G.D. Development of the primary antibody repertoire. *Science* 238:1079-1087, 1987.
- Leder, P. The genetics of antibody diversity. *Sci. Am.* 246(5):72-83, 1982.
- Lieber, M.R. The mechanism of V(D)J recombination: a balance of diversity, specificity and stability. *Cell* 70:873-876, 1992.
- Schatz, D.G.; Oettinger, M.A.; Schlissel, M.S. V(D)J recombination: molecular biology and regulation. *Annu. Rev. Immunol.* 10:359-383, 1992.
- Tonegawa, S. Somatic generation of antibody diversity. *Nature* 302:575-581, 1983.
22. Oettinger, M.A.; Schatz, D.G.; Gorka, C.; Baltimore, D. RAG-1 and RAG-2, adjacent genes that synergistically activate V(D)J recombination. *Science* 248:1517-1523, 1990.
- Thompson, C.B. RAG knockouts deliver a one/two punch. *Curr. Biol.* 2:180-182, 1992.
23. Berek, C. Somatic mutation and memory. *Curr. Opin. Immunol.* 5:218-222, 1993.
- French, D.L.; Laskov, R.; Scharff, M.D. The role of somatic hypermutation in the generation of antibody diversity. *Science* 244:1152-1157, 1989.
- Kocks, C.; Rajewsky, K. Stable expression and somatic hypermutation of antibody V regions in B-cell developmental pathways. *Annu. Rev. Immunol.* 7:537-559, 1989.
- Liu, Y.-J.; Johnson, G.D.; Gordon, J.; MacLennan, I.C.M. Germinal centres in T-cell-dependent antibody responses. *Immunol. Today* 13:17-21, 1992.
- Nossal, G.J.V. The molecular and cellular basis of affinity maturation in the antibody response. *Cell* 68:1-2, 1992.
24. Chen, J.; Alt, F.W. Gene rearrangement and B-cell development. *Curr. Opin. Immunol.* 5:194-200, 1993.
- Rolink, A.; Melchers, F. Molecular and cellular origins of B lymphocyte diversity. *Cell* 66:1081-1094, 1991.
25. Early, P., et al. Two mRNAs can be produced from a single immunoglobulin  $\mu$  gene by alternative RNA processing pathways. *Cell* 20:313-319, 1980.
26. Esser, C.; Radbruch, A. Immunoglobulin class switching: molecular and cellular analysis. *Annu. Rev. Immunol.* 8:717-735, 1990.
- Finkelman, F.D., et al. Lymphokine control of *in vivo* immunoglobulin isotype selection. *Annu. Rev. Immunol.* 8:303-333, 1990.
- Harriman, W.H.; Völk, H.; Defranoux, N.; Wabl, M. Immunoglobulin class switch recombinations. *Annu. Rev. Immunol.* 11:361-384, 1993.
- Snapper, C.M.; Mond, J.J. Towards a comprehensive view of immunoglobulin class switching. *Immunol. Today* 14:15-17, 1993.
27. Allison, J.P.; Lanier, L.L. The structure, function and serology of the T cell antigen receptor complex. *Annu. Rev. Immunol.* 5:503-540, 1987.
- Chan, A.C.; Irving, B.A.; Weiss, A. New insights into T-cell antigen receptor structure and signal transduction. *Curr. Opin. Immunol.* 4:246-251, 1992.
- Davis, M.M. T cell receptor gene diversity and selection. *Annu. Rev. Biochem.* 59:475-496, 1990.
- Haas, W.; Pereira, P.; Tonegawa, S. Gamma/delta cells. *Annu. Rev. Immunol.* 11:637-685, 1993.

- Marrack, P.; Kappler, J. The T cell receptor. *Science* 238:1073-1079, 1987.
28. Kupfer, A.; Singer, S.J. Cell biology of cytotoxic and helper T-cell function. *Annu. Rev. Immunol.* 7:309-337, 1989.
- Rammensee, H.-G., Falk, K.; Rotzschke, O. MHC molecules as peptide receptors. *Curr. Opin. Immunol.* 5:35-44, 1993.
- Swain, S.L., et al. Helper T-cell subsets: phenotype, function and the role of lymphokines in regulating their development. *Immunol. Rev.* 123:115-144, 1991.
29. Aufray, C.; Strominger, J.L. Molecular genetics of the human histocompatibility complex. *Adv. Human Genet.* 15:197-247, 1987.
- Bach, F.H.; Sacks, D.H. Transplantation immunology. *N. Engl. J. Med.* 317:489-492, 1987.
- Hood, L.; Steinmetz, M.; Malissen, B. Genes of the major histocompatibility complex of the mouse. *Annu. Rev. Immunol.* 1:529-568, 1983.
- Möller, G., ed. Molecular Genetics of Class I and II MHC Antigens. *Immunol. Rev.* 84 and 85, 1985.
30. Bjorkman, P.J.; Parham, P. Structure, function and diversity of class I major histocompatibility complex molecules. *Annu. Rev. Biochem.* 59:253-288, 1990.
- Brown, J.H., et al. Three-dimensional structure of the human class II histocompatibility antigen HLA-DR1. *Nature* 364:33-39, 1993.
- Matsumura, M.; Fremont, D.H.; Peterson, P.A.; Wilson, I.A. Emerging principles for the recognition of peptide antigens by MHC class I molecules. *Science* 257:927-934, 1992.
- Silver, M.L.; Guo, H.-C.; Storminger, J.L.; Wiley, D.C. Atomic structure of a human MHC molecule presenting an influenza virus peptide. *Nature* 360:367-369, 1992.
- Zhang, W., et al. Crystal structure of the major histocompatibility complex class I H-2K<sup>b</sup> molecule containing a single viral peptide: implications for peptide binding and T-cell receptor recognition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:8403-8407, 1992.
31. Janeway, C.A., Jr. The T cell receptor as a multicomponent signalling machine: CD4/CD8 coreceptors and CD45 in T cell activation. *Annu. Rev. Immunol.* 10:645-674, 1992.
- Ledbetter, J.A., et al. CD4, CD8 and the role of CD45 in T cell activation. *Curr. Opin. Immunol.* 5:334-340, 1993.
- Miceli, M.C.; Parnes, J.R. Role of CD4 and CD8 in T cell activation and differentiation. *Adv. Immunol.* 53:59-122, 1993.
32. Townsend, A.R. Recognition of influenza virus proteins by cytotoxic T lymphocytes. *Immunol. Res.* 6:80-100, 1987.
- Yewdell, J.W.; Bennink, J.R. Cell biology of antigen processing and presentation to major histocompatibility complex class I molecule-restricted T lymphocytes. *Adv. Immunol.* 52:1-123, 1992.
- Zinkernagel, R.M.; Doherty, P.C. MHC-restricted cytotoxic T cells: studies on the biological role of polymorphic major transplantation antigens determining T-cell restriction-specificity, function and responsiveness. *Adv. Immunol.* 27:51-177, 1979.
33. Bijlmakers, M.-J.; Ploegh, H.L. Putting together an MHC class I molecule. *Curr. Opin. Immunol.* 5:21-26, 1993.
- De Maeyer, E.; De Maeyer-Guignard, J. Interferon- $\gamma$ . *Curr. Opin. Immunol.* 4:321-326, 1992.
- Driscoll, J.; Finley, D. A controlled breakdown: antigen processing and the turnover of viral proteins. *Cell* 68:823-825, 1993.
- Goldberg, A.L.; Rock, K.L. Proteolysis, proteasomes and antigen presentation. *Nature* 357:375-379, 1992.
- Rammensee, H.-G., Falk, K.; Rötzschke, O. Peptides naturally presented by MHC I molecules. *Annu. Rev. Immunol.* 11:213-244, 1992.
34. Schaerer, E.; Tschopp, J. Cytotoxic T cells keep their secrets. *Curr. Biol.* 3:167-169, 1993.
- Taylor, M.K.; Cohen, J.J. Cell-mediated cytotoxicity. *Curr. Opin. Immunol.* 4:338-343, 1992.
- Yagita, H., et al. Role of perforin in lymphocyte-mediated cytolysis. *Adv. Immunol.* 51:215-242, 1992.
35. Noelle, R.; Snow, E.C. T helper cells. *Curr. Opin. Immunol.* 4:333-337, 1992.
- Pantaleo, G.; Graziosi, C.; Fauci, A.S. The immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *N. Engl. J. Med.* 328:327-335, 1993.
36. Cresswell, P. Chemistry and functional role of the invariant chain. *Curr. Opin. Immunol.* 4:87-92, 1992.
- Germain, R.N.; Margulies, D.H. The biochemistry and cell biology of antigen processing and presentation. *Annu. Rev. Immunol.* 11:403-450, 1993.
- Unanue, E.R. Cellular studies on antigen presentation by class II MHC molecules. *Curr. Opin. Immunol.* 4:63-69, 1992.
37. Knight, S.C.; Stagg, A.J. Antigen-presenting cell types. *Curr. Opin. Immunol.* 5:374-382, 1993.
- Steinman, R.M. The dendritic cell system and its role in immunogenicity. *Annu. Rev. Immunol.* 9:271-296, 1991.
38. Cambier, J.C. Signal transduction by T- and B-cell antigen receptors: converging structures and concepts. *Curr. Opin. Immunol.* 4:257-264, 1992.
- Izquierdo, M.; Cantrell, D.A. T-cell activation. *Trends Cell Biol.* 2:268-271, 1992.
- Klausner, R.D.; Samelson, L.E. T cell antigen receptor activation pathways: the tyrosine kinase connection. *Cell* 64:875-878, 1991.
- Malissen, B.; Schmitt-Verhulst, A.-M. Transmembrane signalling through the T-cell-receptor-CD3 complex. *Curr. Opin. Immunol.* 5:324-333, 1993.
- Weiss, A. T cell antigen receptor signal transduction: a tale of tails and cytoplasmic protein-tyrosine kinases. *Cell* 73:209-212, 1993.
39. Dinarello, C.A. Interleukin-1 and its biologically related cytokines. *Adv. Immunol.* 44:153-205, 1989.
- Hogg, N.; Landis, R.C. Adhesion molecules in cell interactions. *Curr. Opin. Immunol.* 5:383-390, 1993.
- Jenkins, M.K.; Johnson, J.G. Molecules involved in T-cell costimulation. *Curr. Opin. Immunol.* 5:361-367, 1993.
- Linsley, P.S.; Ledbetter, J.A. The role of the CD28 receptor during T cell responses to antigen. *Annu. Rev. Immunol.* 11:191-212, 1993.
- Schwartz, R.H. Costimulation of T lymphocytes: the role of CD28, CTLA-4, and B7/BB1 in interleukin-2 production and immunotherapy. *Cell* 71:1065-1068, 1992.
- Schwartz, R.H. T cell energy. *Sci. Am.* 269(2):62-71, 1993.
40. Fathman, C.G.; Frelinger, J.G. T-lymphocyte clones. *Annu. Rev. Immunol.* 1:633-656, 1983.

- Manami, Y.; Kono, T.; Miyazaki, T.; Taniguchi, T. The IL-2 receptor complex: its structure, function and target genes. *Annu. Rev. Immunol.* 11:245-267, 1993.
- Smith, K.A. Interleukin-2. *Curr. Opin. Immunol.* 4:271-276, 1992.
- Taniguchi, T.; Minami, Y. The IL-2/IL-2 receptor system: a current overview. *Cell* 73:5-8, 1993.
41. Claman, H.N.; Chaperon, E.A. Immunologic complementation between thymus and marrow cells—a model for the two-cell theory of immunocompetence. *Transplant. Rev.* 1:92-113, 1969.
- Davies, A.J.S. The thymus and the cellular basis of immunity. *Transplant. Rev.* 1:43-91, 1969.
42. Chesnut, R.W.; Grey, H.M. Antigen presentation by B cells and its significance in T-B interactions. *Adv. Immunol.* 39:51-94, 1986.
- Lederman, S., et al. Non-antigen signals for B-cell growth and differentiation to antibody secretion. *Curr. Opin. Immunol.* 5:439-444, 1993.
- Möller, G., ed. IL-4 and IL-5: Biology and Genetics. *Immunol. Rev.* 102, 1988.
- Noelle, R.J.; Ledbetter, J.A.; Aruffo, A. CD40 and its ligand, an essential ligand-receptor pair for thymus-dependent B-cell activation. *Immunol. Today* 13:431-433, 1992.
- Parker, D.C. T cell-dependent B cell activation. *Annu. Rev. Immunol.* 11:331-360, 1993.
43. Arai, K., et al. Cytokines: coordinators of immune and inflammatory responses. *Annu. Rev. Biochem.* 59:783-836, 1990.
- Dawson, M.M. Lymphokines and Interleukins. Chichester, UK: Open University Press, 1991.
- Mosmann, T.R.; Coffman, R.L. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu. Rev. Immunol.* 7:145-174, 1989.
- Mosmann, T.R., et al. Diversity of cytokine synthesis and function of mouse CD4<sup>+</sup> T cells. *Immunol. Rev.* 123:209-229, 1991.
- Stout, R.D. Macrophage activation by T cells: cognate and non-cognate signals. *Curr. Opin. Immunol.* 5:398-403, 1993.
44. Benoist, C.; Mathis, D. Generation of the  $\alpha\beta$  T-cell repertoire. *Curr. Opin. Immunol.* 4:156-161, 1992.
- Kruisbeek, A.M. Development of  $\alpha\beta$  T cells. *Curr. Opin. Immunol.* 5:227-332, 1993.
- Rothenberg, E.V. The development of functionally responsive T cells. *Adv. Immunol.* 51:85-214, 1992.
- von Boehmer, H. Thymic selection: a matter of life and death. *Immunol. Today* 13:454-458, 1992.
- von Boehmer, H.; Kisielow, P. How the immune system learns about self. *Sci. Am.* 265(4):74-81, 1991.
45. Miller, J.F.A.P.; Morahan, G. Peripheral T cell tolerance. *Annu. Rev. Immunol.* 10:51-69, 1992.
46. Mingle-Gaw, L.; McDevitt, H.O. Genetics and expression of murine I<sub>A</sub> antigens. *Annu. Rev. Immunol.* 3:367-396, 1985.
- Schwartz, R.H. Immune response (Ir) genes in the murine major histocompatibility complex. *Adv. Immunol.* 39:31-201, 1986.
47. Benoist, C.; Mathis, D. Demystification of the alloresponse. *Curr. Biol.* 1:143-144, 1991.
- Hill, A.V.S., et al. Common West African HLA antigens are associated with protection from severe malaria. *Nature* 352:595-600, 1991.
48. Hunkapiller, T.; Hood, L. Diversity of the immunoglobulin gene superfamily. *Adv. Immunol.* 44:1-63, 1989.
- Williams, A.F.; Barclay, A.N. The immunoglobulin superfamily—domains for cell surface recognition. *Annu. Rev. Immunol.* 6:381-406, 1988.