

Bases Moleculares del Reconocimiento de los Antígenos

Bruno Lomonte, MQC, PhD

Instituto Clodomiro Picado, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

Introducción

Aunque todos los organismos pertenecientes al reino animal poseen una serie de mecanismos inmunitarios que persiguen mantener su integridad y rechazar la invasión de material foráneo, solo los vertebrados cuentan con un sofisticado sistema de reconocimiento específico, capaz de discriminar entre las distintas formas que puede presentar dicho material, en especial los microorganismos [1,6].

El tipo celular que permitió el surgimiento de un sistema inmune específico es el linfocito, presente en todos los vertebrados, desde los peces más primitivos hasta los mamíferos superiores. Su característica principal es la capacidad de reconocimiento selectivo de los antígenos, a través de proteínas de superficie celular especializadas para tal fin.

Los linfocitos se organizaron, desde su aparición, en dos tipos principales: linfocitos T y linfocitos B. Dentro de cada una de estas estirpes celulares encontramos una diversificación importante en los animales superiores, incluyendo el ser humano. Tanto los linfocitos T como los B poseen subpoblaciones especializadas, cuyas características y organización funcional se comprenden cada vez mejor, gracias al intenso análisis científico a que están sometidas.

El conocimiento detallado sobre el reconocimiento de los antígenos por parte de los linfocitos T y B ha permitido una mejor comprensión de las respuestas inmunes específicas, con sus consecuentes aplicaciones médicas. Entre estas, se pueden destacar: (1) el desarrollo de nuevas generaciones de vacunas, centrado actualmente no solo en la clásica prevención de enfermedades infecciosas, sino también de enfermedades autoinmunes, degenerativas, o neoplásicas; y (2) el refinamiento u optimización cada vez mayor de los sistemas de diagnóstico de laboratorio.

El presente resumen tiene como objeto hacer un breve repaso y actualización del proceso de reconocimiento de los antígenos por el sistema inmune específico, en el desarrollo de sus distintas modalidades de respuesta. Estos principios generales son de utilidad para valorar mejor la evolución y las tendencias actuales del desarrollo de vacunas.

Los antígenos

La naturaleza química de las moléculas que pueden ser reconocidas como extrañas por el sistema inmune es muy amplia, abarcando primordialmente proteínas y carbohidratos, aunque también lípidos y ácidos nucleicos [4,5]. Las dos primeras categorías han sido las más estudiadas, ya que tienden a ser los componentes más inmunogénicos de

los microorganismos y parásitos. La posibilidad de manipular las proteínas mediante técnicas de laboratorio bien establecidas (tales como el clonaje y la expresión de sus genes respectivos, así como la síntesis química de péptidos de longitud considerable), han facilitado su estudio inmunológico [2,9,10]. Por otra parte, la mayor complejidad estructural de los carbohidratos, sumada a las dificultades inherentes a su síntesis artificial, plantean un reto mayor para su estudio.

Desde principios del siglo XX, se conocía que las sustancias de bajo peso molecular (menores a los 3000-5000 daltons) no inducen respuesta inmune por sí solas, comportándose como haptenos. La unión química de un hapteno a algún antígeno, el cual cumple una función de "transportador", hace posible el desarrollo de una respuesta específica contra el primero, tanto por parte de linfocitos T como B. Por otra parte, las moléculas de mayor tamaño se comportan usualmente como inmunógenos, siempre y cuando cumplan otros requisitos, tales como su carácter de "extraño" para el organismo y su degradabilidad [8].

¿Qué reconoce el sistema inmune específico en los antígenos? Los linfocitos T y B poseen receptores capaces de unirse en forma complementaria a porciones relativamente pequeñas de un antígeno, denominadas originalmente "determinantes antigénicos" o también, más recientemente, epitopos. Las dimensiones de los epitopos pueden variar según una serie de factores complejos, aún debatidos, pero una guía general considera de 6 a 12 aminoácidos (en las proteínas) o monosacáridos (en los polisacáridos). Interesantemente, los análisis estructurales de los epitopos reconocidos por los linfocitos T y B en los antígenos han mostrado algunas diferencias importantes, y sugieren algunas reglas generales sobre sus respectivas preferencias [9,10]. A la vez, es claro que aunque la totalidad de la extensión

de una molécula de antígeno es potencialmente inmunogénica, en la práctica un individuo solo reconoce algunos epitopos que dominan en su respuesta inmune.

La predicción teórica de los epitopos de un antígeno a partir de su información estructural es de sumo interés, especialmente en el campo del desarrollo de vacunas. Sin embargo, a pesar de que esta línea de investigación progresa considerablemente, las reglas para la predicción aún no están completamente establecidas, y los resultados de los mejores algoritmos estudiados no alcanzan aún el grado de confiabilidad deseable. La complejidad de los sistemas biológicos de reconocimiento y respuesta no ha podido reducirse todavía a reglas estructurales sencillas.

Los epitopos pueden categorizarse en dos tipos principales, denominándose (1) continuos o secuenciales a aquellos formados por residuos adyacentes, y (2) discontinuos a los que están integrados por residuos o elementos distantes en la secuencia del antígeno, que son yuxtapuestos por los pliegues tridimensionales propios de su conformación nativa. Estos últimos han sido denominados también como epitopos conformacionales, pues se deduce que la desnaturalización o pérdida de la conformación nativa del antígeno resulta en la separación de los elementos que forman el epitopo, con la consiguiente desaparición de su capacidad de unión [9,10].

Los receptores para antígeno

Como se mencionó, los linfocitos utilizan proteínas de superficie especializadas para el reconocimiento de antígenos. Aunque estos receptores son distintos en los linfocitos T y B, ambos poseen un origen evolutivo común: la estructura básica denominada "dominio tipo inmunoglobulina". Este versátil bloque estructural evolucionó mediante procesos de duplicación y divergencia de un gen ancestral,

originando un amplio grupo de proteínas llamado en la actualidad "superfamilia de las inmunoglobulinas". La misma incluye no solo a los citados receptores, sino también moléculas accesorias muy relevantes como CD3, CD4, CD8, moléculas de histocompatibilidad clase I y clase II, moléculas de adhesión intercelular, y muchas otras.

Los linfocitos B utilizan inmunoglobulinas de membrana (mIg) como eje central del complejo proteico que funciona como su receptor para antígeno, produciendo posteriormente estas mismas proteínas en forma secretada -los anticuerpos- durante su etapa terminal de células plasmáticas. Las mIg se encuentran formando un complejo multimolecular con el heterodímero de membrana Ig- α /Ig- β , capaz de iniciar la activación del linfocito B ante el reconocimiento del antígeno.

Las inmunoglobulinas tienen la capacidad de reconocer o unirse a antígenos de cualquier naturaleza química, tanto en su estado nativo, como desnaturalizados. Los antígenos pueden encontrarse libres (solubles) o en las superficies de células y partículas. En términos generales, los epitopos reconocidos por los linfocitos B tienden a ser regiones altamente expuestas de los antígenos, de naturaleza hidrofílica, relativamente móviles, y frecuentemente conformacionales. Sin embargo, la amplia capacidad de reconocimiento de las inmunoglobulinas permite que se genere también una importante respuesta contra fragmentos desnaturalizados de los antígenos que surgen de los procesos degradativos, por lo que muchos epitopos B son secuenciales.

Por otra parte, los linfocitos T maduros se diferencian en dos subpoblaciones principales: los que expresan la proteína CD4, con funciones primordialmente reguladoras de la actividad de numerosos tipos celulares (linfocitos Th o cooperadores), y los que

expresan CD8, que al activarse adquieren un fenotipo citotóxico (Tc), con pocas excepciones. La mayoría de los linfocitos T maduros (95% en sangre y linfa) utilizan un receptor para antígeno denominado TCR $\alpha\beta$. Una población menor de linfocitos T, concentrados en ciertos sitios anatómicos, utiliza el TCR $\gamma\delta$, aún poco caracterizado. Por esta razón, la mayor parte de la información sobre el reconocimiento de antígenos por los linfocitos T se refiere al TCR tipo $\alpha\beta$.

A pesar de su homología con las inmunoglobulinas, el TCR se distingue de estas tanto a nivel estructural como funcional. Después de años de intenso estudio, se determinó que el TCR solo reconoce fragmentos peptídicos de los antígenos cuando se encuentran asociados a las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (CPH) en la superficie de otras células. Esto significa que el TCR no es capaz de interactuar eficazmente con formas solubles o libres del antígeno. Implica además que el antígeno debe ser de naturaleza proteica, y ser procesado o fragmentado en péptidos para dar inicio al reconocimiento y activación de los linfocitos T. En consecuencia, los epitopos T son secuenciales o continuos. De hecho, el análisis de los epitopos T en las proteínas muestra que son segmentos generalmente poco expuestos en la superficie, con al menos una porción hidrofóbica, con longitudes de 8-11 o de 12-25 aminoácidos, dependiendo de su asociación con moléculas del CPH clase I o clase II, respectivamente [3,4,7].

Los linfocitos Th reconocen péptidos asociados a moléculas del CPH clase II. Estos péptidos provienen de la internalización de antígenos exógenos por parte de células presentadoras o accesorias, y posterior degradación en vacuolas endocíticas, asociación con CPH clase II y exposición final en la superficie celular. Entre las principales células que poseen moléculas CPH clase II para poder presentar péptidos a

los linfocitos Th se encuentran distintos tipos de macrófagos, células dendríticas y linfocitos B.

Por otra parte, los linfocitos Tc reconocen péptidos asociados a moléculas del CPH clase I, las cuales se encuentran en prácticamente todas las células nucleadas del organismo. Estos péptidos corresponden a fragmentos de proteínas endógenas, sintetizadas por las células, que se ubican en su citoplasma, y que son procesadas por sus rutas metabólicas normales de recambio proteico.

El descubrimiento de estas dos rutas de procesamiento y presentación de antígenos a los linfocitos T, y de la manera en que se lleva a cabo su reconocimiento sobre las distintas clases de moléculas del CPH, ha tenido importantes implicaciones en la comprensión de las respuestas hacia los agentes infecciosos y otros antígenos. A la vez, ha permitido idear estrategias más racionales para la manipulación de las respuestas inmunes, a través del desarrollo de sistemas de administración de antígenos dirigidas hacia una u otra ruta celular de procesamiento. Por ejemplo, actualmente se sabe que la administración de un virus inactivado, o de componentes aislados de un virus, no logra generar una respuesta eficiente de linfocitos T citotóxicos contra el mismo, dado que para esto se requiere de un proceso de replicación activa del virus dentro de las células. En dicho ejemplo, los antígenos virales pasarían a la ruta de procesamiento de material exógeno, con lo cual se podría generar una respuesta de anticuerpos, pero no de linfocitos Tc, ya que no se va a tener la presencia de proteínas virales en el citoplasma. Sin embargo, la administración de material viral inactivado dentro de vesículas artificiales como los liposomas, capaces de fusionarse con las membranas celulares y liberar su contenido al citoplasma, puede llevar a la inducción de una respuesta de linfocitos Tc considerable. Se han ideado varios otros sistemas para llevar antígenos al compartimento citoplasmático y manipular de esta manera su acceso a la ruta endógena de procesamiento.

Este campo de estudio básico ha demostrado ser fundamental para la búsqueda de nuevas y mejores formas de vacunación contra las principales enfermedades infecciosas que afectan al hombre y a los animales.

Referencias

- [1] Abbas, A.K., Lichtman, A.H. & Pober, J.S. (1994) *Cellular and Molecular Immunology*. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- [2] Calderón, L. & Lomonte, B. (1999) Inhibition of the myotoxic action of *Bothrops asper* myotoxin II in mice by immunization with its synthetic peptide 115-129. *Toxicon* **37**, 683-687.
- [3] Davis, M.M. & Chien, Y. (1995) Issues concerning the nature of antigen recognition by $\alpha\beta$ and $\gamma\delta$ T-cell receptors. *Immunol. Today* **16**, 316-318
- [4] Greenspan, N. & Cooper, L. (1995) Complementarity, specificity and the nature of epitopes and paratopes in multivalent interactions. *Immunol. Today* **16**, 226-230.
- [5] Janeway, C.A. & Travers, P. (1996) *Immunobiology: the Immune System in Health and Disease*. Garland Publishing Inc., New York.
- [6] Kuby, J. (1997) *Immunology*. W.H. Freeman and Company, New York.
- [7] Lechler, R. & Pla, M. (1995) The credentials of a T-cell epitope. *Immunol. Today* **16**, 561-563.
- [8] Lomonte, B. (1998) *Nociones de Inmunología*. Editorial Lara, Segura & Asociados, San José.
- [9] Van Regenmortel, M.H.V. (1988) *Synthetic Peptides as Antigens*. Elsevier, Amsterdam.
- [10] Van Regenmortel, M.H.V. (1998) Synthetic peptides help in diagnosing viral infections. *ASM News* **64**, 332-338.