

# Aspectos Fisiológicos de las Respuestas Inmunológicas Específicas e Inflamatorias Innatas

Dr. Helman Serrano y Dr. Nicolás E. Bianco

## INTRODUCCION

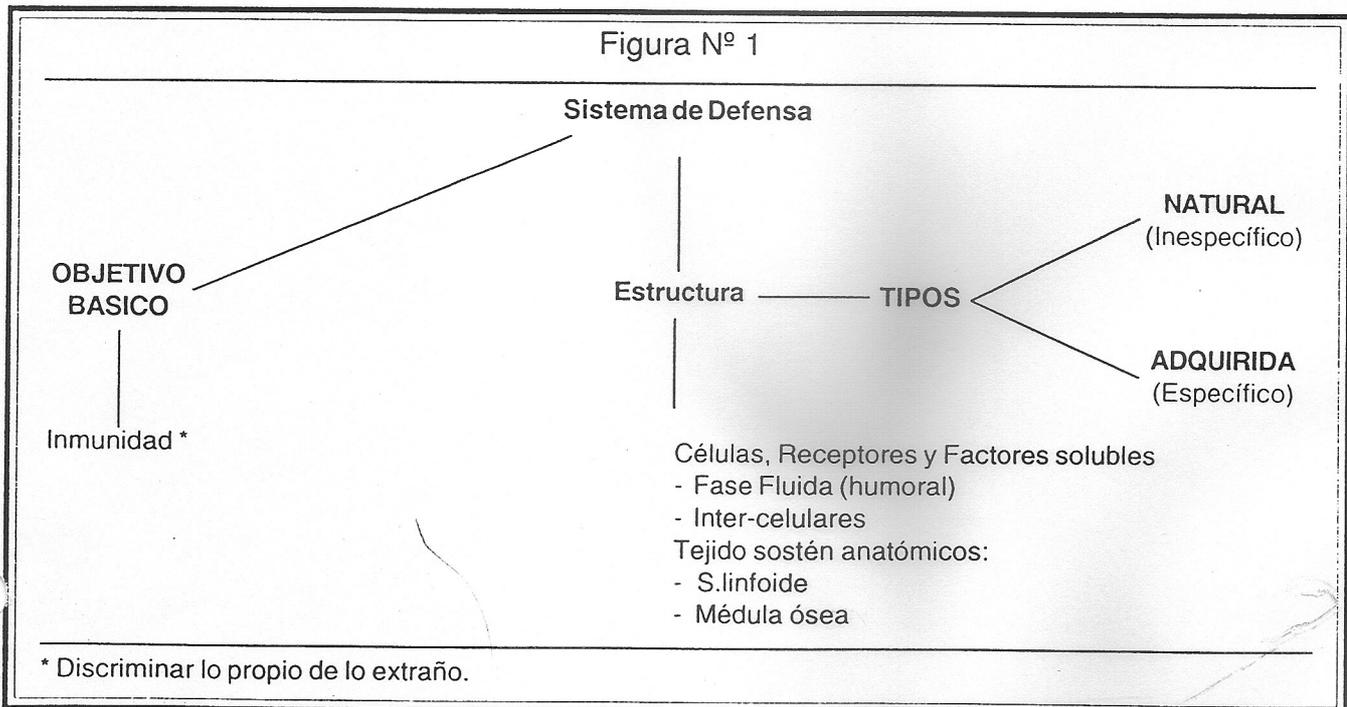
Las expresiones fisiológicas de los sistemas y mecanismos de defensa que emplean los seres vivientes superiores para subsistir se denominan: Respuesta Inmunológica Específica y Respuesta Inflamatoria Innata. En el hombre, ambas respuestas operan sistemáticamente y a menudo en forma simultánea desde el nacimiento y hasta avanzado el proceso de envejecimiento. Mientras que la respuesta inmunológica posee en la especificidad y en la instalación de la memoria por el antígeno incitante sus dos características esenciales, la respuesta inflamatoria innata dota al ser viviente de una extraordinaria capacidad de respuestas en la defensa inicial, entendida en término de "barreras inmunitarias de choque". Ambos tipos de respuestas co-participan con otros sistemas orgánicos, en espe-

cial con el sistema nervioso central y con el axis endocrino, en proveer y mantener la homeostásis.

Tanto una como la otra, establecen su operación en una compleja estructura constituida por células, estructuras de membrana, factores solubles de intercomunicación y tejidos anatómicos entre los cuales destacan: El sistema linfóide y la médula ósea (ver Figura N° 1).

Finalmente, toda respuesta inmunológica específica obedece a una codificación genética y a mecanismos inmunoregulatorios intrínsecos, ensamblando al final fases efectoras altamente destructivas del antígeno incitante. Las respuestas inflamatorias innatas se rigen por la situación estímulo/respuesta a través del reconocimiento de lo extraño, procesamiento por moléculas de fase fluida (humoral), y/o degradación de la partícula extraña, a través de poderosos sistemas enzimáticos (proteolíticos en su mayoría) que funcionan en el "milieu" intracelular.

Figura N° 1



## INMUNIDAD NATURAL

### 1.- Mecanismos de Respuestas Inflamatorias Innatas

Los mecanismos de inmunidad natural de cada individuo se clasifican en:

- 1.1. Mecanismos externos.
- 1.2. Mecanismos internos.

- 1.1. Los mecanismos externos están representados por las barreras mecánicas constituidas por la piel, las mucosas y las secreciones o productos naturales que son producidos a ese nivel.

La capa córnea de la piel es una barrera impenetrable por la mayoría de los microorganismos y sólo muy pocos pueden atravesarla, como por ejemplo, algunos hongos patógenos que lo hacen a través de las aberturas que proporcionan los folículos pilosos. Sin embargo, sobre la misma capa córnea se encuentra el producto de la glándula sebácea, rico en ácidos grasos saturados, los cuales dan a la piel una alta acidez, sirviendo este factor de elemento microbicida. Es por ello, que las infecciones de la piel producidas por hongos son más frecuentes en las áreas de la piel que carecen de glándulas sebáceas o son pobres en ellas, (región interdigital de los dedos de los pies).

Las mucosas, además de proporcionar una pared aislante del medio externo, cumplen otras funciones primordiales por intermedio de sus células, cilios y sus productos.

La mucosa que recubre el globo ocular y los párpados, es constantemente lavada por el efecto de las lágrimas que son producidas permanentemente por las glándulas lagrimales. El mismo efecto de lavado es proporcionado por la orina excretada por los riñones que, en condiciones normales es completamente estéril.

El mismo efecto microbicida proporcionado por los ácidos grasos de la piel lo proporciona el ácido láctico producido por lactobacilos y microorganismos anaerobios, que forman parte de la flora normal de la mucosa vaginal. La acidez que origina el ácido clorhídrico del jugo gástrico es tan baja que destruye la mayoría de los microorganismos que llegan al estómago por la vía oral.

Estos hechos explican porqué las infecciones vaginales por hongos del tipo *Candida Albicans* se desarrollan con más facilidad al modificarse el pH vaginal. También es fácil de entender cómo un paciente que ha sido sometido a una gastrectomía sea más susceptible a infecciones bacterianas de las vías digestivas inferiores (intestino grueso).

La flora microbiana normal presente en el intestino grueso y porciones finales del intestino delgado representan por sí sola un mecanismo de defensa natural que mantiene un balance ecológico interno, ya que su sola existencia compete con la sobrevivencia de gérmenes patógenos en esa región.

En ciertas áreas del organismo (piel, conjuntiva ocular, mucosa urogenital) se encuentra presente una enzima conocida como lisozima que tiene la propiedad de romper los enlaces entre los grupos químicos peptidoglicanos (acetil - glucosamino y acetil - murámico), que forman el esqueleto de soporte de la pared de muchas bacterias Gram positivas. La mucosa nasal también presenta esta enzima bactericida. La lisozima es secretada por macrófagos tisulares.

El aparato respiratorio presenta 4 elementos de defensa natural.

La mucosa misma, como barrera mecánica.

Los cilios de la mucosa, con su movimiento vibratorio hacia el exterior, que no sólo son capaces de atrapar sino de expulsar las partículas provenientes del medio ambiente exterior.

El moco, cuya naturaleza misma lo convierte en un pegamento viscoso que atrapa y retiene las partículas que se ponen en contacto con él, evitando así su progresión hacia las vías respiratorias inferiores o internas.

Los macrófagos que por su situación dentro de los alvéolos suelen ser considerados entre las líneas de defensa interna.

- 1.2 Los mecanismos internos involucran:

a) **Células:**

- 1.- Fagocitos.
- 2.- Células Citotóxicas Naturales o células NK ("Natural Killers de la literatura inglesa").

b) **Factores solubles:**

- 1.- Interferón (INF)
- 2.- Factor de Necrosis Tumoral ("FNT").

Tabla N° 1

**Sistema Mononuclear Fagocitario**

Médula Osea	Sangre Periférica	Organos y Tejidos
Precursores: "STEM CELL"	Células Maduras:	1.- S.N.C.: Microglia
Monoblasto		2.- Pulmón: Macrófago alveolar
Promonocito	Monocito	3.- Hígado: Células de Kupffer
Mieloblasto		4.- Bazo: Macrófago de sinusoides
Promielocito		5.- Med. Osea: Células Reticulares
Mielocito	Granulocito	6.- Riñón: Macrófago mesangial
		7.- Serosas: Macrófago peritoneal y pleural. Células A sinoviales
		8.- Piel: Células de Langerhans
		9.- Tejido Conectivo: Macrófago. Histiocito
		10.- Ganglio linfático: Macrófagos Residentes y Recirculantes
		11.- Timo: Células Reticulares
		12.- Hueso: Osteoclastos

**c) Proceso fisiológico de inflamación.**

**d) Proceso fisiológico de Fagocitosis.**

**a.1.- Fagocitos**

Estas células tienen la capacidad de atrapar partículas, introducirlas a su interior citoplasmático y luego destruirlas por medio de procesos metabólicos oxidativos y enzimáticos muy variados y complejos.

Todas ellas tienen un mismo origen: la célula pluripotente de la médula ósea o "STEM CELL", que en la etapa embrionaria se origina en el hígado fetal. Los fagocitos, según su derivación ontogénica y morfología de célula madura, pueden ser mononucleares o polinucleares.

Según su ubicación anatómica, los fagocitos mononucleares circulan en la corriente sanguínea como monocitos y al salir de la sangre para penetrar en los tejidos se transforman morfológicamente en una célula algo diferente al monocito sanguíneo, denominado histiocito o macrófago. La Tabla N° 1 muestra la clasificación de las células del sistema fagocitario según su ubicación.

Los macrófagos derivados de los monocitos presentan en sus membranas no solo marcadores moleculares de serie celular particular (1e. CD14) sino receptores para el fragmento Fc de las inmunoglobulinas y para el tercer componente del sistema de complemento (CD3).

Además del papel que desempeñan los mecanismos de defensa natural contra microorganismos, los macrófagos actúan como "recolectores de basura" para eliminar toda la materia inorgánica que haya sido metabolizada, así como también para eliminar células muertas o dañadas.

El macrófago es capaz de fagocitar microbios, destruyéndolos intracelularmente y también ejerce un efecto lítico (extracelular o intracelular) y citostático contra numerosas células tumorales.

Pero otra función, tanto o más importante que las anteriores, es su intervención en la respuesta inmune específica, como célula procesadora de antígenos, para presentárselos a los linfocitos T y B.

Los macrófagos, además son capaces de sintetizar y liberar sus-

tancias biológicamente activas que intervienen tanto en la respuesta inmunológica específica, como lo es la interleuquina 1 (IL-1), o que actúan en la respuesta de inflamación, a saber, componentes del sistema del complemento, leucotrienos, prostaglandinas, factores quimiotácticos y enzimas proteolíticas e hidrolíticas.

Tabla Nº 2  
**Funciones de las Células Fagocíticas  
Mononucleares**

- 1.- Fagocitosis y destrucción de microorganismos
- 2.- Recolección de desechos (detrito celular)
- 3.- Procesamiento de antígeno
- 4.- Cooperación en la respuesta inmunológica específica
- 5.- Producción de factores solubles que contribuyen con el proceso de inflamación

Tabla Nº 3  
**Otras características de las  
Células NK**

- Se originan en Médula Osea, no en el Timo.
- No recirculan de sangre o ganglios linfáticos.
- El receptor de reconocimiento en la membrana es desconocido y diferente del receptor Antígeno de la Célula T (TCR).
- Posee receptores Igs.Fc-3R (identificado como antígeno CD16); carece de receptores de complemento.
- No presenta inmunoglobulinas en su superficie.
- Su actividad destructora es incrementada por el interferón gamma (INF).
- No se ha descubierto un antígeno único o exclusivo de la célula NK.
- Comparte con la serie mielomonocítica el antígeno CD11.
- Comparte con la serie T los marcadores CD2 y CD8.
- Puede distinguirse de otras células con anticuerpos para los antígenos NKH1, CD3 y CD16; su fenotipo es: CD2+, CD3-, CD16+, CD56+ (fenotipaje por anticuerpos monoclonales).

La Tabla Nº 2 muestra en forma resumida las principales funciones desempeñadas por los macrófagos.

**a.2.- Células NK**

Estas células, conocidas como **células citotóxicas naturales**, son morfológicamente linfocitos grandes, con numerosos gránulos densos azurófilos en su abundante citoplasma, con núcleo "arriñonado"; morfológicamente forman parte de una población de células conocidas como linfocitos grandes y granulares o L.G.G. (Large Granular Lymphocytes de la literatura inglesa). Esta es una población heterogénea de células de las cuales, las NK representan del 10% - 13% de los linfocitos circulantes en sangre periférica.

Las células Citotóxicas Naturales son capaces de reconocer cambios estructurales en las membranas de células infectadas por virus y células tumorales y adhiriéndose a la superficie de esas células las pueden lisar; por ello el término asignado de citotóxicas.

Estas células, a pesar de ser morfológicamente similares a un linfocito, se consideran fuera de la línea familiar de linfocitos T; aunque podrían originarse de una célula precursora común para células NK o también podrían originarse de una línea precursora mielomonocítica, ya que existen indicios de ambas posibilidades.

Las células NK pueden lisar células tumorales o células no tumorales infectadas por virus, sin necesidad de estar sensibilizadas previamente contra ellas, y sin requerir que las células "blanco" presenten antígenos del Complejo Mayor de Histocompatibilidad.

Así mismo, estas células intervienen en la regulación de las síntesis de inmunoglobulinas. Su capacidad es incrementada por factores solubles conocidos como interferón alfa e interleukina 2 (IL-2), para los cuales poseen receptores en su membrana. La IL-2 es capaz de promover la proli-

feración de células NK y de activar su capacidad citolítica.

Este tipo de citólisis se conoce como función de célula LAK ("célula asesina" activada por linfoquina) característica compartida por células de la línea T.

La Tabla Nº 3 muestra otras propiedades de las células NK.

Finalmente las células NK pueden destruir (capacidad citotóxica) por dos mecanismos conocidos hasta ahora:

- a) Un mecanismo inespecífico, que es probablemente llevado a cabo a través de la producción y liberación de una proteína formadora de poros (PFP), a la cual se le ha denominado también "Perforina" o "Citolisina". Esta proteína es liberada de los gránulos citoplasmáticos cuando la célula NK se adhiere a la célula blanco. La proteína pasa al espacio intracelular en forma de un monómero que en presencia de calcio extracelular sufre cambios en la conformación que le permite adherirse a la membrana de la célula blanco donde se va acomodando e insertando en la bicapa lipídica de la membrana; la molécula se polimeriza originando duplicados de sí misma, los cuales se van adosando una a la otra a la manera de los tabloncillos de un barril de madera, dejando entre ellas un espacio de separación, y a través de este poro entra sodio y agua al interior de la célula blanco haciéndola estallar. El PFP presenta homología estructural significativa con el componente C9 del complemento.
- b) **Factores solubles.** El segundo mecanismo a través del cual las células NK pueden destruir, es uno específico que se vale de anticuerpos que intervienen en el mecanismo conocido como Citotoxicidad Celular dependiente de Anticuerpos (CCDA). Se ha demostrado que más del 90% de las células NK presentan el antígeno CD16, el cual es el

receptor para el fragmento Fc del anticuerpo del tipo de inmunoglobulina IgG. De esta manera, cuando una célula está cubierta por la inmunoglobulina IgG, permite que la célula NK se adhiera a la misma a través de la IgG, con la cual se une por su extremidad posterior o porción Fc. Una vez adherida a la célula blanco inicia su proceso de destrucción, el cual podría ser liberando moléculas de "perforina" u otras moléculas como el factor denominado "leucocolexina" capaz de producir fragmentación del ADN de la célula blanco. Esta sustancia fue aislada ya de linfocitos T citolíticos, pero todavía no se ha comprobado su producción por la célula NK.

Esta Citotoxicidad Dependiente de Anticuerpos (ADCC en la literatura inglesa) es un mecanismo de lisis específica, ya que solamente se destruyen las células que poseen el antígeno específico para la molécula de IgG y, por lo tanto, no forma parte de los mecanismos de Inmunidad Innata propiamente.

#### b.1.- Interferón (INF)

Los interferones (INF) son proteínas producidas y secretadas por distintas células del organismo cuando son estimuladas por virus, bacterias, células extrañas, células tumorales propias, ácidos nucleicos y macromoléculas extrañas.

Originalmente fue descrita la existencia de un péptido con propiedades antivirales inespecíficas; Isaacs y Lindermann descubrieron que las células expuestas a un virus liberaban una sustancia, que a renglón seguido, protegía otras células del cuerpo a ser infectadas por el mismo virus o por otros virus diferentes (de allí la inespecificidad del fenómeno). Este hallazgo fue reportado en 1.957, pero desde los años treinta se había observado que la infección por virus de un cultivo de células animales o de un animal de laboratorio "interfería" con la infección por otro virus durante algún

tiempo. A esto se le conoció como fenómeno de interferencia viral, de allí que Isaacs y Lindermann denominaron INTERFERON la sustancia que lograron aislar capaz de reproducir el fenómeno de interferencia viral.

La producción del interferón constituye una respuesta primaria a la infección viral y se desarrolla en las primeras 12-48 horas de infección, mucho antes de que se produzcan anticuerpos contra el virus. Los interferones antivirales son específicos de la especie de huésped infectado, pero la actividad antiviral del interferón es inespecífica para un virus dado, ya que puede inhibir la replicación de una gran variedad de virus.

El interferón no actúa directamente sobre el virus sino que induce en la célula receptora de IFN la producción de una proteína inhibitoria de la replicación viral (PAV, proteína antiviral). Al parecer, son responsables 3 posibles vías enzimáticas en este efecto bloqueador:

- a) degradación del ARN por endoribonucleasas activadas por la enzima sintetasa (PAV).
- b) inducción de la producción de una proteína cinasa que fosforila el factor de elongación indispensable en la síntesis de proteínas virales.
- c) introducción de una fosfodiesterasa que segmenta las secuencias del ARNt y evita así la unión de aminoácidos al ARNt.

Hoy se sabe que los interferones poseen otras actividades biológicas importantes diferentes a su acción antiviral, a saber, acción antiproliferativa de células tumorales, inmunorreguladoras de células T y B, activadora de células NK, y mitogénica de células NK, y actividades proinflamatoria y/o anti-inflamatoria.

Los mecanismos de acción del efecto antiproliferativo del IFN, se cree, residen en que produce reducción de la síntesis de dos enzimas descar-

boxilasa, paraornitina y parametionina, encargadas de la síntesis de poliaminas.

Actualmente se han identificado 3 clases de interferones según las diferencias antigénicas en su estructura molecular y que se han denominado IFN/alfa, IFN/beta e IFN/gamma.

El IFN es producido por linfocitos B, macrófagos y células NK. El estímulo puede ser variado: virus, polinucleótidos sintéticos, bacterias, células tumorales, células extrañas y células infectadas por virus y los mitógenos de linfocitos B.

El gen del IFN se ha obtenido en 14 clonas distintas de células y se han codificado en todas ellas las secuencias de aminoácidos de los productos del gen, con variaciones de un 15-30% de sus posiciones.

El IFN alfa difiere del IFN gamma en 85% de las secuencias predichas de aminoácidos.

Es producido por fibroblastos, neutrófilos, macrófagos y células epiteliales. Su producción es estimulada por virus, ácidos nucleicos y polinucleótidos sintéticos. Se ha obtenido la clona de un gen IFN alfa a partir de una línea linfoblastoide de células B.

Los receptores celulares para alfa interferón y para beta interferón son iguales entre sí y diferentes al receptor celular para gamma interferón.

El IFN gamma, antes llamado tipo II o interferón inmune, es producido por linfocitos T activados por mitógenos de células T.

Algunos investigadores sostienen que las células NK también pueden producir IFN gamma.

Los efectos biológicos del IFN gamma son: lisis celular, inhibe proliferación celular tumoral, estimula proliferación celular de células NK, activa la capacidad fagocítica de macrófagos, potencia el efecto de otros IFN.

Se ha podido codificar un gen para este IFN. Debido a que los linfocitos T lo producen bajo estímulo de

antígenos específicos se ha considerado como una linfocina (linfocina).

También tiene efectos inhibitorios directos en la síntesis de ADN.

El IFN gamma activa los macrófagos en sus funciones de fagocitosis, citotoxicidad y liberación de oxígeno en su forma de anión super oxidado. También estimula a los macrófagos a producir interleucina-1 (IL-1).

El IFN aumenta en los macrófagos la expresión de receptores de superficie para la porción Fc de la inmunoglobulina (receptores Fc, FcR). Este efecto, aumenta la capacidad de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (CCDA) de los macrófagos.

La activación del macrófago conduce a cambios metabólicos intracelulares con niveles elevados de AMP cíclico intracelular.

Los macrófagos activados por el interferón gamma se vuelven citotóxicos para las células tumorales.

El IFN gamma se ha podido producir en el laboratorio con técnicas de recombinación genética y se ha podido confirmar el efecto de activación de macrófagos con este IFN recombinante.

Los macrófagos activados por el IFN gamma aumentan su producción de prostaglandinas, las cuales pueden actuar como agentes supresores de células T.

El IFN gamma también estimula la producción de la IL-1 por parte de los macrófagos, lo cual puede generar un circuito de activación IL-1 -> IL-2 -> IFN -> IL-1.

El IFN gamma es capaz de provocar el aumento de la expresión de antígenos DR de respuesta inmunitaria en los macrófagos.

Este antígeno de superficie es importante para que el linfocito T "reconozca el macrófago cuando éste ha de presentar antígenos al linfocito T cooperador". De esta manera, el IFN gamma interviene como factor regula-

dor en la respuesta inmune específica, así como aumentando las defensas específicas del huésped, al mejorar la expresión de antígeno DR en la célula accesoria presentadora de antígeno.

Por otra parte, el IFN gamma aumenta la expresión de receptores para interleucina-2 (IL-2) en linfocitos T humanos.

Los alfa y beta interferones también producen el mismo efecto.

Debido a que la proliferación de las subpoblaciones de células T efectoras y cooperadoras depende del estímulo proporcionado por IL-2, el IFN origina indirectamente una mayor expansión de esas poblaciones celulares. Por otra parte el IFN puede estimular a linfocitos T supresores o producir una linfoquina inmunosupresora denominada "supresor soluble de la respuesta inmunitaria (SSRI)". Esto a su vez puede conducir a la supresión de la producción de anticuerpos IgM e IgG. Este efecto supresor del IFN es en el medio, ya que se observa en presencia de altas concentraciones de IFN.

#### Efectos del IFN sobre células NK

El IFN gamma es más potente en activar células NK en su capacidad citolítica, pero el IFN alfa es más potente en estimular la proliferación de células NK. Por otra parte las mismas células NK son capaces de producir ambos IFN cuando se exponen a células tumorales, mitógenos, virus o bacterias.

#### b.2.- Factor de Necrosis Tumoral (FNT)

El factor de Necrosis Tumoral (FNT) fue descrito originalmente como una sustancia producida por los macrófagos de un huésped que fuera inyectado con vacuna BCG o con endotoxina bacteriana (LPS) capaz de producir necrosis de tumores in vivo, derivándose su denominación del efecto biológico.

El FNT es capaz de provocar quimiotaxia y activación de neutrófilos confiriéndoles a estas células una ca-

pacidad altamente citostática para tumores.

Por otra parte, se ha determinado que el FNT también activa las células NK en su capacidad tumoricida.

Más recientemente se ha demostrado que el FNT y la "caquectina" son una misma sustancia, cuando al determinar la secuencia de aminoácidos de la "caquectina" del ratón y el FNT del humano, se encontró que presentaban una homología casi completa. La "caquectina" fue descrita originalmente como una sustancia capaz de producir en animales de experimentación un síndrome de desgaste orgánico (caquexia), agotamiento de las reservas energética tisulares, un alto estado de catabolismo activo, insuficiencia funcional de múltiples órganos, inapetencia y finalmente la muerte del animal.

El FNT/caquectina es producido como una prohormona y al comparar la secuencia de aminoácidos de la proteína del ratón y del humano, se les encontró una similitud muy grande (86%) en la secuencia de 79 aminoácidos que forman como un apéndice de la proteína madura.

El gen FNT/caquectina está localizado en el cromosoma 6 del humano a 70 kilobases del locus D del complejo mayor de histocompatibilidad. Aproximadamente 1 kilobase por encima del gen FNT/caquectina se encuentra el gen que codifica la linfotóxina. Es notable que tanto el FNT como la linfotóxina se unen a un mismo receptor celular en la membrana de células de choque.

Los macrófagos expuestos a endotoxina incrementan hasta 3 veces la transcripción del gen FNT/caquectina.

Esta citokina liberada a la corriente sanguínea produce numerosos efectos biológicos. En los granulocitos provoca degranulación, producción de peróxido de hidrógeno y de anión superóxido y les incrementa su capaci-

dad de adherencia, fagocitosis y su capacidad microbicida.

A nivel de las células endoteliales vasculares disminuye sus propiedades anticoagulantes y convierte la superficie endotelial en una superficie pro-coagulante.

El FNT ha podido ser producido *in vitro* por técnicas de recombinación genética y en animales de experimentación produce un estado de hiper-catabolismo, acelerando la gliocógenolisis y agotamiento de los depósitos de glicógeno.

En conclusión el FNT es responsable de mecanismos no específicos de resistencia general a la invasión por microorganismos y de destrucción de células tumorales, pero al mismo tiempo produce efectos metabólicos e inflamatorios que son perjudiciales al huésped.

Finalmente, se ha demostrado un efecto de sinergismo entre los efectos de FNT, la IL-1 y el IFN gamma.

### c. **Proceso fisiológico de inflamación**

La inflamación es un conjunto de fenómenos fisiológicos que presentan los tejidos de un organismo cuando se exponen a la lesión, provocada por ejemplo por un microorganismo invasor.

Los objetivos de este proceso fisiológico son detener el daño, suprimir el agente extraño y reparar los tejidos lesionados.

El proceso inflamatorio puede estudiarse y explicarse mejor, analizando los fenómenos vasculares y los fenómenos celulares que ocurren durante el desarrollo del proceso.

#### **Fenómenos vasculares**

Se inician inmediatamente con el comienzo de la inflamación y se desarrollan durante las primeras horas del proceso. Consisten principalmente en: dilatación de los vasos sanguíneos con aumento del flujo circulatorio (responsable del aumento de la temperatura local y del eritema), seguido de un

enlentecimiento del flujo sanguíneo por estasis vascular, aumento de la permeabilidad capilar con exudación de plasma (responsable del edema o hinchazón). El plasma contiene numerosas sustancias que actúan como mediadores en la reacción de los tejidos contra el agente extraño o microorganismo invasor. Esas sustancias forman parte de tres sistemas biológicos importantes que actúan en forma de una reacción enzimática en cadena. Los tres sistemas son: el sistema de la coagulación, el sistema del complemento y el sistema de las kininas.

El exudado líquido es absorbido por los linfáticos, los cuales llevan en la linfa los microorganismos invasores o productos derivados de ellos, pasan a los ganglios linfáticos regionales u otros tejidos linfoides locales, donde se ha de iniciar una respuesta inmunológica específica contra esos agentes extraños.

El sistema de la coagulación consta de varias proteínas, la mayoría de las cuales se encuentran en forma pro-enzimas o precursores que actúan en una reacción en cadena o "cascada". La primera sustancia es el factor XII o Factor de Hageman, que origina grandes cantidades de una segunda sustancia, la cual a su vez activa y origina otra sustancia activa, la cual a su vez origina otra y así sucesivamente. Toda la reacción lleva finalmente a la formación de una sustancia activa que es la trombina, la cual es la enzima principal del sistema.

La trombina actúa sobre el fibrinógeno, que se encuentra en solución en el plasma, convirtiéndolos en fibras de una sustancia insoluble llamada fibrina que forma una trama fibrilar o forma de malla enredada. Esta red de fibrina sirve de malla que atrapa los agentes extraños. Cuando este hecho ocurre dentro de la sangre, son las células de la misma, especialmente eritrocitos, los atrapados en la malla, formando la trama principal para la coagulación de la sangre.

La activación del Factor de Hageman, también activa otro sistema conocido como el sistema fibrinolítico, con características enzimáticas, que actúan en forma de cadena secuencial. El Factor de Hageman activa la enzima denominada activador del plasminógeno, que genera otra enzima, la plasmina, que destruye la fibrina rompiendo la trama o malla que ésta ha formado.

La ruptura de las moléculas de fibrina, por parte de la plasmina, origina péptidos que son quimiotácticos para los leucocitos (los atraen al sitio de liberación de los péptidos). La plasmina por otra parte, puede activar el Factor Hageman para iniciar otro sistema enzimático, el cual es el sistema de las kininas, que describiremos en forma sistematizada más adelante.

El sistema del Complemento constituido por más de 20 componentes, 12 de los cuales son pro-enzimas sintetizadas en su mayoría por el sistema mononuclear - fagocitario, activadas a enzimas de alto poder desdoblante ("Cleavage" de la literatura inglesa) tanto por una vía clásica (los complejos inmunológicos son los principales promotores de esta vía de activación) como por una vía alterna (la cual no requiere de una interacción con moléculas de anticuerpo para su activación), formando parte este último mecanismo de las respuestas inflamatorias innatas. Entre los agentes promotores de la activación por vía alterna se encuentran: endotoxinas, superficies activantes como la superficie parasitaria, etc.

La activación del C3 origina productos derivados del mismo, con efectos biológicos importantes: estimulan los mastocitos a secretar mediadores químicos con acciones inflamatorias, por ejemplo, la histamina, la cual ocasiona vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular; así mismo efectos quimiotácticos sobre leucocitos neutrófilos; se adhieren a la superficie de los microorganismos facilitando su captación e ingestión por fagocitos provenientes de la sangre; estimulan a los

macrófagos a secretar enzimas de sus lisosomas con propiedades proteolíticas. La activación de C3 origina la activación del C5 que a su vez ocasiona efectos de quimiotaxia, provoca liberación de histamina e induce la liberación de enzimas lisosomales de los leucocitos.

El ensamblaje de los componentes del C5 hasta el C9 sobre las membranas celulares ocasiona lisis o destrucción de las mismas. El C3 también puede ser activado por la trombina del sistema de la coagulación y por la plasmina del sistema fibrinolítico.

El sistema de las kininas es otro conjunto enzimático en "cascada". La enzima precursora, kaliceinógeno, puede ser activada por el Factor Hageman, la plasmina y por proteasas lisosomales de neutrófilos y macrófagos, para originar kaliceína, la cual es una enzima proteolítica que origina una kinina (bradikinina) a partir de kininógenos del plasma.

También origina otros polipépticos (calidinas) a partir de los kininógenos. La bradikinina (calidina-9) provoca vasodilatación. La calidina-10 origina quimiotaxia leucocitaria y la calidina 11 provoca dolor e hiperalgia.

Las kininas o calidinas también estimulan la producción de prostaglandinas.

Los productos de degradación de la fibrina, también pueden activar los kininógenos para originar kininas o calidinas. El C1 activado del sistema del complemento puede también inducir kininas activadas.

Estos sistemas de complemento, coagulación, fibrinólisis y kininas interaccionan entre ellos mismos.

**Fenómeno celulares.** Algunas de las células involucradas en el proceso de inflamación se encuentran ya residenciadas en los tejidos, como por ejemplo los mastocitos y los macrófagos tisulares, mientras que otros llegan a los tejidos vía sanguínea. De estas últimas, las hay de dos tipos:

polinucleares (neutrófilos, eosinófilos y basófilos) y mono-nucleares (monocitos y linfocitos).

**Mastocitos.** Estas células están ubicadas en los sitios de posible entrada de agentes nocivos o patógenos, a saber cerca de la superficie cutánea, o de las membranas mucosas en las cavidades corporales y alrededor de los vasos sanguíneos. Los mastocitos son capaces de secretar o generar una serie de mediadores químicos, capaces de producir efectos vasculares y reacciones celulares a través de estímulos producidos en la membrana por receptores activados, por estímulos producidos por los neutrófilos o bien después de un daño directo a su membrana. Los mastocitos poseen receptores de membrana para los anticuerpos y los componentes del complemento. Estos mediadores pueden producir efectos vasculares y reacciones celulares. Los mastocitos poseen receptores de membrana para los anticuerpos y para componentes del complemento.

La sustancia principal liberada por los mastocitos es la histamina, mediador prototipo, que a través de receptores celulares denominados H<sub>1</sub>, presentes en los vasos sanguíneos y musculatura lisa bronquial e intestinal, producen: vasodilatación, aumento de la permeabilidad capilar y contractura de la musculatura lisa bronquial e intestinal. La histamina, a su vez, es capaz de modular la respuesta de otras células, a través de receptores para la histamina presentes en esas células.

**Leucocitos polinucleares.** Estas son las primeras células en llegar al sitio de inflamación. Son células terminales, con muy poca capacidad de síntesis proteica, incapaces de multiplicarse y con una vida promedio muy corta. Sus principales funciones son la fagocitosis, la liberación de mediadores químicos y de enzimas lisosomales. La función de fagocitar es propiedad muy propia de los neutrófilos, los cuales son capaces de lisa y digerir microorganismos. La infiltración tisular por

los leucocitos se lleva a cabo a través de diferentes fases biológicas:

- a) **Leucotaxia:** atracción al sitio inflamatorio, por sustancia con propiedades de quimiotaxia. Esto ocasiona que los leucocitos empiezan a marginarse en la periferia de la corriente sanguínea enlentecida por la vasodilatación vascular.
- b) **Adherencia leucocitaria:** Los leucocitos se adhieren a la superficie endotelial; el leucocito migra sobre la superficie endotelial hasta encontrar la unión de dos células endoteliales (punto de unión interendotelial).
- c) **Diapédesis:** Se inicia la migración extendiendo pseudópodos de su membrana y citoplasma a manera de dedos de guantes.
- d) Una vez que deja el vaso capilar, continúa su locomoción en el tejido intersticial, atraído por las sustancias quimiotácticas allí liberadas o presentes.

**Quimiotaxia.** Se puede definir este fenómeno como la migración dirigida de los fagocitos, por medio de movimientos ameboides, hacia las partículas que han de fagocitar, siendo este movimiento una respuesta a estímulos químicos. Por ejemplo, los polisacáridos presentes en algunas bacterias actúan como factores quimiotácticos positivos, mientras que las endotoxinas de las bacterias Gram negativas actúan como factores quimiotácticos negativos (o inhibidores de la quimiotaxia).

¿Cómo hace una célula para detectar un gradiente de moléculas quimiotácticas, para saber hacia dónde debe moverse? ¿Cómo actúa este gradiente de modo que la célula sepa a qué dirección debe migrar?.

En respuesta a la primera pregunta, los fagocitos poseen en sus membranas receptores que se unen molecularmente con las sustancias quimiotácticas, los receptores que fijan la porción Fc de las Inmunoglobulinas

y al componente C3 del complemento, dotando al macrófago con una capacidad para reconocer partículas opsonizadas. Los receptores Fc parecen moverse en el plano de la membrana entre la activación de los neutrófilos y la movilidad de sus receptores de superficie.

Se han descrito receptores para linfoquinas y otros receptores no inmunológicos (lactoferrina, transferrina, fibronectina, etc.), lo cual origina en la membrana una señal que es traducida al citosol del leucocito, provocando aumento del AMP cíclico y activación del sistema contráctil actinmiosina de la célula para efectuar así los movimientos ameboides.

Para responder a la segunda pregunta, el leucocito es capaz de comparar (al mismo tiempo) la concentración de la sustancia quimiotáctica en dos o más sitios separados en su propia membrana, permitiéndole a través de esta distinción espacial, responder con el movimiento de migración hacia la fuente quimiotáctica.

#### Factores que regulan la quimiotaxia

Los agentes que inducen la quimiotaxia se han clasificado de acuerdo a su modo de acción. Las sustancias que ejercen un efecto estimulante directo sobre las células, se les llama citotaxinas o factores quimiotácticos positivos; las sustancias que inducen la formación o producción de citotoxinas, se les denomina citotóxicos (generadores de citotaxinas). Las sustancias tales como los productos químicos liberados por las bacterias, pueden considerarse como citotoxinas exógenas. Existen citotoxinas endógenas presentes en el plasma o suero. El principal grupo de citotoxinas del suero está relacionado con los sistemas del complemento, plasmina y calicreína. También existen inactivadores e inhibidores naturales de las citotoxinas presentes en el suero.

### Monocitos

Estas células aparecen en escena muchas horas después de la acción de los leucocitos polimorfonucleares. Dentro de los tejidos se transforman en macrófagos. En ciertos tejidos existen en forma permanente este tipo de fagocito mononuclear o macrófago, y se supone que se originarían de los monocitos sanguíneos durante el desarrollo embrionario. Estas células no solamente fagocitan microorganismos sino que también fagocitan cualquier material de desecho y hasta células muertas (leucocitos polimorfonucleares, eritrocitos, etc.). Estas células son también importantes en la respuesta inmune, ya que son células presentadoras de antígeno a los linfocitos en el inicio de la respuesta inmune específica. Los macrófagos no solamente pueden secretar y liberar enzimas lisosomales, sino que también pueden producir y secretar otra serie de sustancias biológicamente activas, algunas de las cuales ya hemos mencionado, a saber, componentes del complemento, interferón, prostaglandinas, un factor que puede iniciar la reacción de coagulación, el factor estimulador de fibroblastos, el factor pirogénico, la interleucina-1 (IL-1). Los macrófagos son importantes en el proceso de reparación y cicatrización tisular, ya que estimulados por los glucocorticoides, pueden secretar un polipéptido denominado macrocortina, que inhibe la respuesta inflamatoria.

### Factores lisosomales en el proceso inflamatorio

En 1.959, De Duve introdujo el término de lisosoma para describir una organela celular repleta de enzimas y proteínas catiónicas, cubierta por una envoltura o membrana semipermeable. Se conocen más de 40 enzimas, la mayoría de ellas hidrolíticas. Tanto los macrófagos como los neutrófilos poseen lisosomas cuyo contenido interviene y participa en el daño que sufren los tejidos durante el proceso inflamatorio cuando el contenido de los lisosomas es liberado en los tejidos vecinos.

Las causas de que esto ocurran son las siguientes:

- a) **Muerte celular.** Los agentes que sean tóxicos o dañinos para la célula provocan ruptura de membranas celulares y lisosomales liberándose las enzimas, las cuales permanecen biológicamente activas después de la muerte del fagocito.
- b) **Liberación secretora selectiva** de enzimas sin que ocurra muerte de la célula que secreta las mismas. Ciertos estímulos son capaces de provocar secreción selectiva de enzimas por parte de los macrófagos, especialmente por macrófagos alveolares y peritoneales, que secretan sobre todo hidrolasas ácidas.
- c) **Regurgitación durante la ingestión.** Se le otorga este nombre al fenómeno de escape de enzimas lisosomales durante la fagocitosis. Se ha observado que ocurre este "accidente" durante la fagocitosis de complejos inmunes de Ag-Ac y proteínas agregadas, tanto en macrófagos como en neutrófilos.
- d) **Endocitosis inversa.** Este fenómeno ocurre cuando los fagocitos intentan fagocitar sustancias extrañas pegadas en sus membranas o que están adheridas a otras superficies demasiado grandes para ser fagocitadas. En este caso, ocurre que los lisosomas fusionan su membrana con la membrana citoplasmática y no se lleva a cabo la fagocitosis. A este fenómeno también se le conoce como "fagocitosis frustrada".

Mediadores químicos inflamatorios derivados del metabolismo del **Ácido Araquidónico**:

Cuando los neutrófilos, monocitos o mastocitos son estimulados por factores neurógenos, hormonales, químicos, mecánicos o inmunológicos o son simplemente dañados en sus membranas, se origina por efecto de la fosfolipasa A sobre fosfolípidos de la membrana un compuesto, el **Ácido**

**Araquidónico**, a partir del cual se han de formar por diferentes vías metabólicas Tromboxano, Prostaciclina, Prostaglandinas y Leucotrienos, poseyendo cada uno de ellos diferentes acciones fisiológicas. El ácido araquidónico, por efecto de la enzima **ciclo - oxigenasa**, origina endoperóxidos cíclicos con estructuras químicas diferentes: prostaglandinas, prostaciclina y tromboxano. Por efecto de la enzima **Lipoxigenasa**, el ácido araquidónico origina compuestos denominados **leucotrienos**, que anteriormente se les conocía con el nombre de "sustancias de reacción lenta, (SRL)".

El tromboxano tiene efecto vasoconstrictor y de agregación de plaquetas.

La prostaciclina tiene efectos opuestos al tromboxano: vasodilatación, disgregación plaquetaria y broncoconstricción.

La prostaglandina E produce efecto vasodilatador y potencia la acción de agentes que producen aumento de permeabilidad vascular y dolor. El aumento de permeabilidad capilar conduce al edema. El leucotrieno B incrementa la migración y adherencia leucocitaria. Los leucotrienos C, D y E producen broncoconstricción y aumento de la permeabilidad vascular.

#### **Factor activador de plaquetas.**

Es liberado por neutrófilos, macrófagos y plaquetas bajo ciertos estímulos. Produce los siguientes efectos: Contracción de músculos lisos; sobre los neutrófilos, induce quimiotaxia, agregación, secreción de enzimas y liberación de radicales derivados del oxígeno; sobre plaquetas, induce agregación y liberación de sustancias vasoactivas de sus gránulos.

#### **d.- Proceso fisiológico de fagocitosis**

Es un proceso celular mediante el cual ciertas células del organismo denominadas fagocitos son capaces de incorporar moléculas o partículas externas dentro de su citoplasma.

En realidad, este proceso es denominado con más veracidad como endocitosis, dejándose el término de fagocitosis para la ingestión de partículas grandes y el término de pinocitosis para la ingestión de moléculas o partículas muy pequeñas.

Mecanismos involucrados en el proceso de la fagocitosis:

Tanto en la pinocitosis como en la fagocitosis ocurre un invaginamiento de la membrana celular alrededor del material extraño, con la subsiguiente fusión de la membrana y reparación de la misma.

En la pinocitosis, que literalmente significa **acto de beber de la célula**, el material extracelular es atrapado en vesículas formadas por invaginación de la membrana celular, luego migran hacia el núcleo celular, y se fusionan entre sí para formar los llamados fagosomas, que a su vez se han de fusionar con los lisosomas, originándose los fagolisosomas, donde serán expuestas al efecto de enzimas hidrolíticas presentes dentro de los lisosomas celulares.

Para el proceso de fagocitosis o de endocitosis de partículas grandes, es necesario previamente el contacto entre la partícula y la membrana del fagocito. La tasa o velocidad de fagocitosis depende de la oportunidad que éstas tengan para chocar con las partículas y ponerse en contacto con ellas. Mientras mayor o más grande sea la partícula, sedimenta con mayor rapidez, aumentando las posibilidades de entrar en contacto con los fagocitos. Si al mismo tiempo los fagocitos y las partículas se agrupan o se aglutinan, el proceso de fagocitosis se facilita por aumentarse el contacto entre partículas y fagocitos.

Otros factores externos pueden influir en los procesos previos al contacto entre fagocitos y partícula. Por ejemplo, pueden existir sustancias en el suero como son los anticuerpos con propiedad de opsoninas, que al reaccionar con los antígenos presentes en

la superficie de la partícula facilitan enormemente el proceso de contacto y ulterior fagocitosis de la misma, debido a los receptores para la porción Fc del anticuerpo IgG. Pero al anticuerpo se le agrega la actividad del sistema del complemento, que durante su activación origina un fragmento, el C3b, con propiedad opsonizantes es decir, con capacidad de facilitar la adherencia de la partícula o célula extraña a la membrana del fagocito. Este contacto y adherencia con la membrana se hace a través de receptores para componentes del complemento.

El receptor de C3b interviene de manera importante en el reconocimiento y adherencia, mientras que la unión de partículas al receptor de IgG del neutrófilo parece ser necesaria para la inducción de una fagocitosis óptima. Sin embargo existe una interrelación entre los dos tipos receptores. Así, la presencia de C3b unido a una partícula es capaz de reducir 100 veces la cantidad de IgG necesaria para favorecer el englobamiento de partículas.

Aunque es claro el papel facilitador que juegan las opsoninas y el complemento en el proceso de la fagocitosis, es todavía un misterio la forma en que el anticuerpo y el complemento le confieren a las partículas opsonizadas propiedades físicas y químicas distintas que las hagan más fácilmente fagocitadas. Un aspecto cierto es que la parte de la molécula del anticuerpo que activa la fagocitosis es la fracción Fc de la inmunoglobulina, en particular de las subclases IgG1. Las moléculas de inmunoglobulinas unidas a la superficie de la partícula, constituyen por sí mismas configuraciones químicas que son reconocidas por los fagocitos y esto origina la facilitación de la fagocitosis.

La fagocitosis depende también de la presencia de cationes divalentes. Por ejemplo, iones de magnesio pueden restaurar la capacidad fagocítica parcialmente y los iones de calcio son más efectivos que los de magnesio a concentraciones más bajas. El citrato

de sodio se ha comprobado que disminuye la fagocitosis. La temperatura es otro factor externo que influyen en la fagocitosis. Los fagocitos polinucleados (leucocitos sanguíneos neutrófilos), por ejemplo, fagocitan bien a 37 grados Celsius pero no a 4 grados.

### Respuesta móvil y degranulación

El movimiento es como el de una ameba. Primero se mueve un pseudópodo, seguido por el resto de la célula que contiene los gránulos citoplasmáticos y el núcleo. El citoplasma de los PMN contienen en los pseudópodos filamentos de proteínas, que regulan el estado físico del citoplasma. El mayor constituyente es actina, que puede existir como un monómero globular o como polímero de doble hélice. El citoplasma es convertido a gel por las proteínas que unen la actina, dimero asimétrico que une filamentos libres de actina de varios tamaños a bajas concentraciones de calcio; la actina es reclutada en forma de filamento, formando la malla y el gel. Esto inicia movimientos propulsivos de los pseudópodos. A medida que el calcio aumenta, hay colapso de los filamentos de actina; la habilidad de los pseudópodos para rehacerse depende de la capacidad de la miosina para contraer el gel de actina luego de la hidrólisis de ATP, el cual suministra la energía para dirigir el proceso de construcción. Así, las diferencias de las concentraciones de calcio en las distintas áreas del citoplasma, explican los movimientos de propulsión y construcción.

La concentración de hidrogeniones y la osmolaridad pueden influir de igual manera. Tanto los micrófagos como los macrófagos pueden fagocitar en un rango de pH de 2 a 10, pero el pH óptimo para la máxima fagocitosis es de 7.0-8.5. Por otra parte, la fagocitosis por leucocitos polinucleares es muy deficiente en medios de alta osmolaridad.

La fagocitosis de partículas depende de un proceso interno de glicólisis

y es por ello que el proceso se puede llevar a cabo aún en un medio de anaerobiosis, no necesitando la presencia de oxígeno ambiental.

**Mecanismos antimicrobianos de los leucocitos neutrófilos y de los macrófagos capaces de provocar muerte intracelular**

Después de la ingestión de los microorganismos se llevan a cabo una serie de eventos distintos dentro de los fagocitos que llevan en última instancia a la destrucción del microorganismo invasor. Estos eventos son los siguientes:

- 1) Fusión de la vacuola fagocitaria con la membrana de bolsa lisosomal de los gránulos citoplasmáticos.
- 2) La ruptura de las membranas que se han fusionado y la descarga del contenido granular dentro de la vacuola fagocítica, fenómeno conocido como degranulación. La fagocitosis por sí sola no es absolutamente indispensable para provocar la degranulación del neutrófilo. Los agregados de Ag-Ac depositados sobre la membrana pueden provocar la degranulación del neutrófilo. La célula fagocitaria se adhiere a estos complejos y libera sus constituyentes lisosomales. Este proceso se denomina exocitosis. Los gránulos se descargan fuera del citoplasma sin lesionar la célula. Este mecanismo es el responsable de la patogénesis de la destrucción de tejidos en varias enfermedades por depósitos de inmunocomplejos, los cuales se acumulan sobre la superficie celular o sobre estructuras extracelulares como la membrana basal vascular.
- 3) Aumento de la actividad metabólica del leucocito.
- 4) Muerte de la bacteria por los mecanismos antimicrobianos del leucocito.
- 5) Digestión del microorganismo ingerido.

Los neutrófilos tienen dos sistemas antimicrobianos:

- a.- Dependiente del oxígeno.
- b.- Independiente del oxígeno.

De los mecanismos antimicrobianos que dependen de oxígeno, existe un sistema antimicrobiano que es mediado por la enzima Mieloperoxidasa, (MPO) y otro sistema que es independiente de dicha enzima.

**Sistema de la Mieloperoxidasa.** Las peroxidases son enzimas que en general catalizan la oxidación de numerosas sustancias por el peróxido de hidrógeno. La mieloperoxidasa es el nombre dado a la peroxidasa presente en los leucocitos.

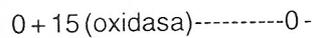
El mecanismo de acción del sistema de la mieloperoxidasa es bastante conocido. El peróxido de hidrógeno reacciona con el hierro del grupo prostético HEM de la enzima mieloperoxidasa para formar un complejo o complejos de enzima - sustrato que tienen una gran capacidad oxidativa. Los halógenos oxidan este complejo, el cual posee una fuerte actividad antimicrobiana. Algunos autores sugieren que el poder bactericida del sistema se debe a que la combinación de los factores: enzima MPO, peróxido de hidrógeno y un halógeno como el Cloro, o el Bromo, originan aldehídos por descarboxilación y deaminación sobre la superficie de la bacteria. Los aldehídos son por sí solos bactericidas. Cuando el halógeno involucrado es el yodo el mecanismo parece ser diferente ya que no se forman aldehídos.

**Mecanismos independientes de la mieloperoxidasa.** Cuando los neutrófilos fagocitan, existe un incremento dramático del metabolismo oxidativo con un aumento del consumo de glucosa a través del ciclo de la hexosamonofosfato, originándose productos reductores tales como el NADPH. La base molecular de esta actividad de oxidases es una cadena de transporte de electrones, encontra-

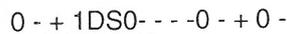
da sólo en células fagocíticas de las que forman parte el citocromo-b. El citocromo-b puede unirse directamente al oxígeno transportando electrones del NADPH hasta el oxígeno.

A partir del oxígeno molecular se originan cuatro derivados, todos con capacidad microbicida, a saber:

- a) **Anión superóxido (O<sup>-</sup>)** que se origina por reducción univalente de un electrón del oxígeno molecular y esta acción es producida por la oxidasa.



- b) **Peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)**. Este se origina por efecto de dismutasa del radical superóxido bajo la acción de la dismutasa del superóxido (DSO).



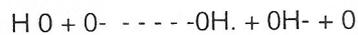
Las dos moléculas de oxígeno dismutato se unen para formar peróxido.



el cual atrae protones para formar peróxido de hidrógeno.



- c) **Radicales hidroxílicos (OH<sup>•</sup>)**. Estos se originan por trasmutación de un electrón del oxígeno dismutato al peróxido de hidrógeno. El radical resultante, OH<sup>•</sup>, es altamente tóxico para las bacterias.



- d) **Oxígeno Singlete (O<sup>\*</sup>)**. Es un oxígeno molecular en estado de excitación electrónica, en la cual, uno de sus electrones se desplaza a una órbita de mayor energía. Este singlete emite energía en forma de luz (quimioluminiscencia) cuando vuelve a su estado basal de tripleto (O<sub>3</sub>).

El efecto microbicida del peróxido de hidrógeno es más efectivo a través del efecto logrado por la mieloperoxidasa, pero también puede ser microbicida en presencia del ácido ascórbico.

El oxígeno singlete es poco microbicida y es de utilidad más que todo como señal de que el fagocito fue activado por el efecto de quimioluminiscencia.

### Factores antimicrobianos independientes del oxígeno

Muchas bacterias son altamente sensibles a pH ácido y las vacuolas fagocíticas de los neutrófilos presentan un pH de 3-6.5. La lisozima es una proteína de peso molecular relativamente bajo (aprox. 14.500), que es bactericida por virtud de su capacidad para hidrolizar componentes de la pared celular bacteriana, ya que hidroliza los enlaces glicosídicos entre el ácido acetilmurámico y la acetilglucosamina. Si el mucopéptido de la pared celular está protegida por otra capa externa de lipopolisacárido, como sucede en casi todas las bacterias gram negativas y algunas gram positivas, la lisozima no puede ejercer su acción bactericida.

La lactoferrina es una proteína que fija el hierro, e inhibe el crecimiento bacteriano porque fijando el hierro elimina un elemento nutricional bacteriano esencial. La fagocitina y la leukina son ambas proteínas catiónicas presentes en los gránulos citoplasmáticos de los leucocitos neutrófilos. Son termostables y resistentes a ácidos fuertes.

Elas se unen a grupos ácidos sobre el microorganismo e interfieren con el crecimiento y la viabilidad celular.

Los macrófagos poseen casi todas las capacidades antimicrobianas demostradas para los neutrófilos, pero además juegan otros papeles importantes en la fisiología del sistema inmunológico y homeostasis del organismo: ellos disponen y eliminan los restos tisulares y células muertas del organismo, ayudan en el proceso de cicatrización convirtiéndose en fibroblastos y son capaces de procesar los antígenos que atrapan después de salir de los ganglios linfáticos,

pudiéndolos procesar en fragmentos antigénicos complejos o simples, almacenando estos antígenos procesados por un largo tiempo.

#### **Bioquímica del metabolismo durante la fagocitosis**

La energía que los fagocitos utilizan durante el proceso de la fagocitosis se deriva de la glicólisis anaeróbica (Ciclo de Embden - Mayerhof) y del cortocircuito o "shunt" de la hexosamonofosfato.

En los enfermos que padecen la enfermedad conocida como enfermedad granulomatosa crónica, se les ha encontrado que tienen un déficit de la enzima NADPH oxidasa, la cual es esencial para la utilización de la glucosa a través del ciclo de las pentosas.

**Digestión.** A la muerte del microbio sigue el proceso de digestión del material intravacuolar. Este proceso se lleva a cabo mediante degradación enzimática, a un pH neutro o ligeramente alcalino. La vacuola comienza a crecer como resultado de la incorporación de agua al interior de la misma, por el efecto osmótico de los productos resultantes de la digestión bacteriana. Varias vacuolas en crecimiento se acercan y fusionan sus membranas para finalmente unir sus membranas con la citoplasmática produciéndose la exocitosis o eliminación del material degradado.

## **RESPUESTAS INMUNOLÓGICAS ESPECÍFICAS**

Como se anunció en los aspectos introductorios, las dos características básicas de la respuesta inmunológica específica son: especificidad y memoria. Debemos ahora agregar una tercera característica, la cual es heterogeneidad, diversidad; en este tipo de respuesta inmunológica se originan dos grandes tipos diferentes de células, con funciones diversas, que producen sustancias biológicamente activas y heterogéneas en sus propiedades y efectos.

Es pertinente repasar sucintamente algunos conceptos, a fin de poder ir acomodándolos a lo largo de la presentación de las células que son responsables de las respuestas inmunológicas específicas. Entre estos conceptos resaltan:

- a) **Especificidad:** Es la capacidad para discriminar entre diferentes epítopes antigénicos; entendiéndose por epítope, el sitio de la estructura química de la molécula que es determinante de su antigenicidad.
- b) **Memoria:** Capacidad para "recordar" contactos anteriores con un antígeno, de modo que la siguiente exposición a dicho antígeno conduce a una respuesta inmunológica más rápida, eficiente y prolongada.
- c) **Adaptabilidad:** Capacidad de responder ante antígenos que no habían sido encontrados con anterioridad y que podrían no existir en la tierra.
- d) **Reconocimiento de lo "propio" y lo "extraño":** Capacidad de responder ante antígenos que no son propios, evitando producir una respuesta hacia los que son propios del individuo.
- e) **Selección Clonal:** Existe una hipótesis que fue postulada por dos científicos, ambos galardonados con el premio Nobel, JERNE y BURNET, la cual es la teoría que mejor explica los postulados que hemos enunciado anteriormente. Conocida como TEORÍA DE SELECCIÓN CLONAL, propone lo siguiente:
  - e.1.- Los anticuerpos para todas las especificidades son producidos por las células antes de que éstas tengan contacto con el antígeno. Hoy se conoce que esto es posible, gracias a un reordenamiento secuencial de los genes responsables de la síntesis de anticuerpos o inmunoglobulinas.
  - e.2.- Los linfocitos conocidos como linfocitos B, poseen receptores sobre sus membranas celulares, los cuales son inmunoglobulinas de idéntica especificidad que la de los anticuerpos que ha de producir cada célula al ser activada, para originar una prole o clono celular con capacidad de síntesis de ese mismo anticuerpo.
  - e.3.- Cada linfocito B lleva moléculas de inmunoglobulina en su superficie, con una sola especificidad.

- e.4.- Los antígenos propios del individuo, que llegan por la circulación sanguínea o linfática a los órganos primarios donde han de madurar los linfocitos, ocasionan la eliminación o supresión de los linfocitos capaces de reconocer esos antígenos propios, y es por ello que el individuo ya desarrollado o maduro es incapaz de reaccionar ante antígenos propios de sus tejidos. Este fenómeno fue denominado, tolerancia inmunológica, por Burnet.
- e.5.- Los linfocitos competentes que no han sido suprimidos o eliminados durante este proceso de maduración y especialización, pueden ser estimulados por el antígeno para el cual poseen el receptor específico sobre su membrana, proliferando y diferenciándose en clonas o poblaciones de células, unas con capacidad de producir anticuerpos (plasmocitos) y otras con capacidad de retener memoria inmunológica (células de memoria).

Aunque esta teoría se desarrolló originalmente para las células productoras de anticuerpos, puede aplicarse igualmente a otros tipos de células, los linfocitos T, que aunque no poseen moléculas de inmunoglobulinas en sus membranas, poseen un receptor cuya estructura es muy similar a la porción de la molécula de inmunoglobulina que se combina con el antígeno, e igualmente se ha demostrado que esos receptores son de una especificidad muy variada, gracias al fenómeno de reordenamiento de genes.

- e.6.- El estado de tolerancia inmunológica puede romperse y bajo circunstancias anormales se originan células sensibles y producción de anticuerpos contra antígenos propios de los tejidos, conociéndose este fenómeno como AUTOINMUNIDAD.
- e.7.- Mecanismos supresores: El sistema inmunológico no solamente puede responder ante un antígeno en una forma positiva, produciendo varias células y productos de las mismas con efectos positivos destinados a neutralizar los antígenos que han originado respuestas, sino que también posee mecanismos de carácter supresor, cuya función es disminuir y controlar la respuesta inmunológica misma.

- e.8.- A la respuesta inmunológica específica hacia un antígeno, se le asocian otros mecanismos secundarios que permiten amplificarla. Estos mecanismos secundarios son producto de la colaboración de otro grupo de células involucradas indirectamente en la respuesta inmunológica.
- e.9.- Complejo Mayor de Histocompatibilidad: Otra característica de la respuesta inmunológica, es que ella está bajo un control genético, por genes conocidos como genes Ir (genes de respuesta inmunológica).

Todas las células nucleadas del organismo poseen antígenos propios de cada individuo que lo diferencian de otro individuo y aún su propio hermano (con excepción de los gemelos idénticos). Estos antígenos se conocen como antígenos de Histocompatibilidad. Los genes que controlan estos caracteres antigénicos de los individuos se encuentran en el mismo cromosoma que los genes de la respuesta inmunológica (Ir) y muy cercanos a ellos. Estos genes desempeñan un papel importante en la función del sistema inmunológico.

Se mencionó anteriormente, que los linfocitos del sistema poseen receptores en sus membranas que les permiten reconocer especificidades antigénicas, pero los receptores que poseen los linfocitos T no pueden reconocer un antígeno o un epítipo cuando éste se le presenta por sí solo; el antígeno debe ser presentado al linfocito en asociación con otras moléculas particulares, que son codificadas por genes localizados en el cromosoma 6, en la región donde están los genes del complejo mayor Histocompatibilidad (CMH). Estos genes codifican para tres tipos de moléculas: Clase I, Clase II, y Clase III, desempeñando cada clase un papel fundamental en la respuesta inmunológica.

A este requisito de presentación del antígeno al linfocito, junto con moléculas del CMH, se la conoce como "Restricción del CMH".

Hechas estas consideraciones sobre ciertas características especiales del sistema inmunológico, se puede discutir sobre las células involucradas en la respuesta inmunológica y los órganos donde se agrupan.

- f) **Origen de las células involucradas en la respuesta inmunológica:** Todas las células del sistema, las propias (células linfoides o linfocitos) y las colaboradoras o accesorias, se originan de células madres, pluripotentes, que desde el saco vitelino primitivo, se tras-

ludaron al hígado fetal y finalmente a la médula ósea donde asientan su residencia permanente.

Estas células, conocidas como CELULAS HEMATOPOYÉTICAS PLURIPOTENTES o "STEM CELL" de la literatura anglosajona y germana, se denominan de esa manera porque son células indiferenciadas, a partir de las cuales se originan todas las células especiales que circulan por la sangre.

La célula pluripotente origina dos líneas de diferenciación:

- f.1.- La línea linfoide, que produce linfocitos.
- f.2.- La línea formadora de colonias GEMM, es decir la línea que originará eritrocitos, megacariocitos y la línea de mielomonocitos. De esta línea, a su vez se origina, por un lado, los monocitos y por otro, los neutrófilos, basófilos y eosinófilos. Los monocitos darán origen a los macrófagos o histiocitos.

La célula precursora de la línea linfoide, es conocida porque posee el antígeno de diferenciación clonal CD38, de donde se originan los linfocitos, células directamente responsables de todas las respuestas inmunológicas, conociéndose dos tipos de células linfoides: linfocitos T y linfocitos B; cada grupo con diferentes funciones inmunológicas.

De la célula precursora común a la línea mieloide se origina también otro tipo de célula, la cual es el mastocito, que presenta características morfológicas y funcionales similares a los basófilos.

Existe un tercer tipo de población celular conocido anteriormente como "células nulas", porque carecen de los antígenos de superficie que marcan y permiten distinguir los linfocitos T de los B. Comprende básicamente a los linfocitos grandes y granulares. La mayoría de los linfocitos grandes y granulares conforman las denominadas linfocitos citotóxicos naturales, por definición CD3- (no relacionados con linfocitos T). Se desconoce el origen de esta tercera población de células. Es posible que se origine de la misma célula progenitora de la línea linfoide, pero también es posible que se origine de la célula precursora de la línea mielomonocítica.

Las células pluripotentes se caracterizan por su habilidad para proliferar durante toda la vida, como reserva renovadora que reemplaza las células hematopoyéticas después que éstas han sido utilizadas en su actividad normal. Las células pluripotentes son

capaces de originar las diferentes líneas de diferenciación bajo el estímulo de factores solubles diversos. Así por ejemplo, la sustancia conocida como interleukina-3 (IL-3), anteriormente conocida como factor de estimulación múltiple de colonias (Multi-CSF), es responsable por la multiplicación de la célula pluripotente y su diferenciación en diversas líneas celulares. Otros factores estimuladores de colonias provocan la diferenciación hacia células más definidas: el GM-CSF estimula formación de colonias de granulocitos y macrófagos; el G-CSF estimula formación de colonias de granulocitos; el M-CSF, lo hace para colonias de macrófagos, la interleukina-4 (IL-4) es un factor de crecimiento de células T. La interleukina -1 (IL-1) es un co-factor de crecimiento para células T. La interleukina-6 (IL-6) es un factor de diferenciación de células B. La interleukina-5 (IL-5) es un factor de diferenciación por eosinófilos. Una vez que la diferenciación ha ocurrido en alguna dirección, las células se hacen unipotentes, es decir, están destinadas a ser un solo tipo de células con su función específica.

- g) **Las células Inmunocompetentes:** Las células que primordialmente son responsables de la respuesta inmunológica son los LINFOCITOS, un grupo de células que observadas en sangre periférica, poseen un núcleo redondeado y central, generalmente no presentan ningún tipo de gránulos intracitoplasmáticos (con la excepción de los llamados "linfocitos grandes granulares", cuya ontogenia aún permanece indeterminada), y con un citoplasma basófilo que posee ribosomas libres.

A partir de la célula progenitora, se originan los dos grandes tipos de subpoblaciones linfocitarias:

- g.1.- Los linfocitos B, responsables de la síntesis de anticuerpos después que se diferencian en la célula terminal, el plasmocito.
- g.2.- Los linfocitos T, responsables de la regulación de las respuestas inmunológicas y de respuestas inmunológicas mediadas por células.

Ni las células T, ni las células B constituyen un grupo celular homogéneo. Cada grupo posee subpoblaciones celulares con marcadores de superficie y funciones que las distinguen claramente.

#### h) Inmunobiología de los linfocitos T.

- h.1.- Linfocitos T. La célula Hematopoyética Pluripotente STEM CELL presenta en su membrana una molécula antigénica

que le es propia, a la cual se le ha asignado la identificación de CD34. Una vez iniciado su proceso de diferenciación hacia la línea linfocítica, adquiere un antígeno de superficie, propio de la línea linfocítica, desde la etapa más temprana de la diferenciación y que conserva hasta la etapa final de diferenciación. Es el antígeno CD38, el cual es común tanto por las células T como por las células B, es propio de la línea linfocítica. En esta etapa de células pre T/B, las células sintetizan una gran cantidad de una enzima conocida como deoxinucleotidiltransferasa terminal (TdT). Estas células entran al timo durante las últimas etapas del desarrollo fetal, donde inician un proceso de diferenciación bajo la influencia inductora de las células dendríticas y las células nodrizas del epitelio tímico, por contacto directo con ellas y por efecto de sustancias o factores hormonales secretados por las mismas. Debido a este proceso de diferenciación en este órgano, se les asignó a estas células la denominación de Linfocitos T. Posteriormente al nacimiento y aunque en menor grado, este proceso de diferenciación puede continuar a lo largo de la vida, con el fin de ir reemplazando linfocitos que hayan dejado de funcionar y existir.

El proceso de diferenciación se va desarrollando a medida que las células o timocitos van migrando desde la corteza hasta la médula del timo, entrando en contacto con antígenos de la clase II del CMH.

El proceso de diferenciación se realiza en tres etapas, durante las cuales, los timocitos adquieren marcadores distintos de superficie y funciones diferentes, es decir, comienzan su proceso de especialización funcional.

El linfocito T debe desarrollar durante este proceso la capacidad de producir un receptor de membrana, que le ha de permitir reconocer todo los antígenos distintos ante los cuales se ha de poner en contacto. Este receptor de membrana se le conoce ahora como Receptor de Célula T o RCT.

h.2.- Receptor de célula T (RCT): El Receptor de célula T, ha sido identificado mediante el uso de anticuerpos monoclonales y ha sido posible su

aislamiento y estudio estructural, identificándose los genes que codifican su síntesis. Existen evidencias muy poderosas para deducir que el RCT está formado por un complejo de seis polipéptidos distintos que conforman el complejo denominado: RCT-CD3. El CD3 es un antígeno de designación clonal, que adquieren los timocitos en su paso de la corteza tímica a la médula. La porción del complejo, capaz de reconocer el sitio determinante del antígeno, consiste de dos cadenas glicosiladas de polipéptidos denominadas alfa y beta, unidas entre sí por un puente disulfuro, y originando así un heterodímero de 90 kd.

No ha sido sorprendente encontrarse que las cadenas alfa y hasta del complejo CRT-CD3 poseen cada una dos regiones, que de acuerdo a la secuencia de aminoácidos que presentan, se les conoce como regiones o porciones constantes (C) y variable (V), hecho muy similar al observado en la estructura de las moléculas de inmunoglobulinas (todas estas moléculas, con proporciones similares de su estructura, se les incluye dentro de la denominada "superfamilia de inmunoglobulinas"). La presencia de regiones variables en esas moléculas es muy comprensible, si se tiene en cuenta que ellas deberán reconocer una gran diversidad de antígenos.

La cadena RCT-alfa y RCT-beta están íntimamente asociadas con la proteína o antígeno CD3, la cual está constituida por lo menos de cuatro polipéptidos denominados: gamma, delta, epsilon y zeta (sexta letra minúscula del alfabeto griego).

El polipéptido zeta puede hallarse en duplicado con una unión de enlace disulfuro intercadena.

La presencia de proteínas RCT y CD3 sobre la membrana de la célula es mutuamente dependiente, es decir, ninguna de las dos puede estar presente sin la otra.

Se ha podido identificar dos tipos adicionales de RCT, conformado por una cadena RCT-gamma o RCT-delta. Estos tipos de receptor RCT se encuentra en células que poseen actividad citotóxica natural, son de conformación grande y granular (LGG) y constituyen menos del 2% de linfocitos T-(CD3+) de la sangre periférica (Atención: no confundir las denominaciones (gamma) y (delta) de las cadenas de este segundo tipo de RCT, con las denominaciones de los polipéptidos de la molécula CD3). De modo que dependiendo del tipo de

receptor RCT, pueden conseguirse cadenas RCT-gamma y RCT-delta, o de cadenas RCT-gamma, en lugar de las dos cadenas RCT-alfa y RCT-beta descritas originalmente para el RCT.

- h.3.- Genes del CD3 y del RCT. Los genes que codifican la síntesis y expresión de las cadenas alfa, beta y gamma del RCT son análogos en su distribución a los genes que codifican los segmentos de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas. Los genes presentan segmentos variables (V), de diversificación (D), de junta (J) o unión y constante (C), los cuales están acompañados por secuencias de reconocimiento, que median las recombinaciones de especificidad. Al igual que los mecanismos utilizados por las células B para originar diversidad de anticuerpos con distintas especificidades, la diversidad de RCT de linfocitos T se origina por efectos de una enzima de recombinación (recombinasa) que ocasiona reordenamiento de genes codificadores.

Así por ejemplo, las secuencias genómicas que codifican la cadena RCT-beta contienen dos genes similares de regiones constantes, C-beta-1 y C-beta-2, cada uno de los cuales se asocia con un grupo de 6 secuencias codificadoras del segmento J, y con una sola secuencia codificadora del segmento D. Hay por lo menos 70 genes V-beta asociados con 2 genes C-beta. El reordenamiento de los segmentos del gene de la cadena beta puede originar 3.600 cadenas beta diferentes.

Los genes de RCT- (alfa) se ordenan de forma diferente. Un solo gen C-alfa va precedido de una tira de ADN conteniendo 50 secuencias diferentes de J. El reordenamiento de gen RCT-alfa puede originar 2.500 polipéptidos diferentes. Por lo tanto, es posible, originar  $9 \times 10$  RCT-alfa-beta DIFERENTES. La variabilidad de las cadenas RCT-alfa y RCT-beta puede originar, por tanto, un repertorio de receptores RCT mucho mayor que la cifra estimada de  $9 \times 10$ .

Los genes de la cadena RCT-beta y RCT-gamma han sido localizados en el cromosoma humano 7; los genes de la cadena RCT-alfa han sido ubicados en el cromosoma humano 14.

Los genes de CD3- gamma, CD3-alfa y CD3-epsilon, están presentes en todas las células T, RCT, y han sido ubicadas en el cromosoma humano 11.

Ni los genes del RCT, ni los del CD3, van ligados a los genes del CMH, ni están ligados entre sí.

- h.4.- Función del complejo RCT-CD3. Todas las evidencias tienden a indicar que el linfocito T es capaz de reconocer el antígeno extraño y a la molécula del CMH con un solo receptor celular, el RCT: tanto el receptor RCT, como el antígeno y la molécula del CMH interaccionan sobre la membrana de la célula. La molécula CD3, posee las cadenas polipeptídicas, gamma, delta, epsilon y dos cadenas zetas unidas por enlaces disulfúricos. La cadena presenta una tipología especial: la mayor porción de las moléculas está del lado citoplasmático de la membrana, con una porción transmembrana hidrofóbica, y una corta porción extracelular cargada eléctricamente. Se ha hipotetizado que las cadenas gamma, delta y epsilon, transmiten a la cadena zeta la señal de que el RCT se ha unido al antígeno y a la molécula CMH. La porción zeta del CD3 es aparentemente la responsable de transmitir la señal de transducción a través de mensajeros secundarios (PI o fosfatidilinositol), que originan actividades de kinasas, y elevación del calcio libre intracelular. La elevación del calcio libre intracelular y la activación del sistema de kinasas protéicas C, se asocian con la expresión de genes inductores de linfocinas, lo que en última instancia genera la actividad y funciones específicas de la célula T.

- h.5.- Función del timo en la maduración de las células T. Los precursores de las células T, provenientes de la médula ósea, entran al timo y dentro de su microambiente, proliferan, se diferencian, reordenan sus genes de receptores RCT, madurando para hacerse células T funcionales.

Este proceso de diferenciación se realiza en tres etapas. En la etapa I, de la linfopoyesis, los precursores de células T son atraídos al timo por una sustancia llamada "timotaxina" secretada por células epiteliales presentes en la región subcapsular, en las regiones perivasculares y zonas maduras del timo. Del espacio subcapsular pasan a la corteza, donde adquieren el antígeno CD2 y activan el gen gamma del receptor RCT. Algunas de estas células inmigrantes, retienen su ca-

## ASPECTOS FISIOLÓGICOS DE LAS RESPUESTAS INMUNOLÓGICAS ESPECÍFICAS E INFLAMATORIAS INNATAS

pacidad de formar colonias de otra línea y algunas pueden originarse dentro del timo, macrófagos y células dendríticas.

La etapa II es un proceso de diferenciación intratímico propiamente, en el cual los timocitos adquieren los antígenos CD5, CD4 y CD8 y activan su gen que codifica la cadena beta del RCT.

En la etapa III, los timocitos pierden el antígeno CD5 y se diferencian en dos líneas celulares: las que conservan el CD4 y las que conservan el CD8. Ambas líneas celulares, activan en esta etapa el gen codificador de la cadena alfa RCT, y aprenden a distinguir entre los antígenos propios y los extraños. Durante este proceso de diferenciación, muchos linfocitos mueren dentro del timo.

Es en el timo donde se genera en realidad el estado de tolerancia que todo ser humano presenta hacia los antígenos propios.

Dos o tres días después que las Stem Cells entran al timo, los linfocitos ya maduros salen y migran a través de las vénulas post-capilares de la médula del órgano y entran en la corriente sanguínea, a través de la cual se residen en los órganos linfoides **secundarios o periféricos**. Cuando llegan a esos órganos, dejan el sistema a través de la vénulas post-capilares y se residen y agrupan en áreas conocidas como **áreas dependientes del timo**, a saber: Región paracortical de los ganglios linfáticos, las vainas periarteriales del bazo, alrededor de los centros germinales, y en regiones perifoliculares de las placas de Peyer del intestino, amígdalas y apéndice intestinal (ver órganos linfoides secundarios más adelante).

Uno de los aspectos más curiosos dentro de la función del timo, es el hecho de que a pesar de ser uno de los órganos que en la etapa temprana de la vida se encuentran con mayor proliferación o multiplicación celular, la mayoría de las células que se originan durante este proceso nunca salen del mismo para ir a la circulación general; se estima, que cerca de un 90% de las células producidas en el timo son destruidas o eliminadas. Las razones de este aparente malgasto celular no son bien conocidas, pero representan un proceso selectivo en el cual las células que no desarrollan sus receptores funcionales apropiados, por fallas en el proceso de reordenamiento de genes, son eliminadas. De modo que el timo, en cierta forma, selecciona las células útiles, desecha las inútiles y elimina las potencialmente dañinas.

h.6.- Subpoblaciones del linfocitos T. Los linfocitos humanos T se pueden clasificar en subpoblaciones, en base a su

función o en base a la presencia de determinantes antigénicos propios conocidos con la designación CD. Las siglas CD utilizadas en la nomenclatura de dichos marcadores celulares provienen del inglés "Cluster" o "Clonal Differentiation", término acuñado en el III taller de caracterización de los Antígenos de Diferenciación de los Leucocitos Humanos, realizado en Oxford, Inglaterra, en el año de 1.986. Se han podido producir *in vitro*, anticuerpos monoclonales que reconocen esos antígenos de diferenciación y estos anticuerpos se utilizan en la práctica para identificar las subpoblaciones que presentan las moléculas antigénicas sobre su superficie celular. El antígeno CD4 es una proteína de superficie de 57 kd, que está presente en un 50 - 65 % de las células T circulantes en la sangre periférica de individuos normales sanos. La proteína CD8 es una glicoproteína de 32 kd, presente en el 25-35 % de las células T de sangre periférica. Aunque los antígenos CD4 y CD8 se expresan ambos en la etapa II de los timocitos solamente, aparecen como carácter individual, o la una o la otra, en las subpoblaciones de células T maduras.

h.7.- Linfocitos T, CD4. Originalmente conocidas como linfocitos T4 o linfocitos Th (cooperadores, ayudadores), hoy en día se les conoce mejor con la denominación de células inductoras. Estas células, son capaces de reconocer antígenos cuando son presentados conjuntamente con moléculas de clase II. Presenta dos subpoblaciones celulares que pueden reconocerse por antígenos diferentes.

Las **células 4B4+ (CD29)** de la población CD4 se conocen como células inductoras - ayudadoras o inductoras de ayuda, ya que proliferan ante antígenos solubles para inducir a las células B a producir anticuerpos. Estas células no proliferan ante el mitógeno Concanavalina-A ni ante la presencia de células autólogas del individuo.

Más recientemente, las sub-poblaciones CD4+, CD29+ se les ha identificado como la verdadera "célula de memoria inmunológica". Aún más, estas

Tabla Nº 4  
Sub-Poblaciones de Linfocitos T, B y NK

Célula	Marcador Superficie	Subpoblación	Restricciones de CMH	Funciones y Propiedades
CD4	CD2+ CD3+ (RCT)	Células T inductoras de ayuda (CD29, CD45RO, 2H4-)	Moléculas Clase II	Estimula linfocitos B. Induce células T. Citotóxica. Memoria.
		Células T inductoras de supresión (CD29-, CD45RA+)	Moléculas Clase II	Induce linfocitos supresores a suprimir producción de anticuerpos por células B. Estimula otras respuestas inmunitarias.
CD8	CD2+ CD3+ (RCT) CD8+	Linfocitos T Supresora	Moléculas Clase I	Inhibe producción de anticuerpos por linfocitos B
		Linfocito T Citotóxico	Moléculas Clase I	Lisa células con el antígeno específico RCT.
B	Smlg	(70%) Linfocito B SmlgM+ Smlg+, IgD+	Antígeno específico	Se diferencian en células plasmáticas productoras de anticuerpos (Smlg-) o en linfocitos B de memoria.
		(15%) Linfocito B SmlgM+		
		(10%) Linfocito B SmlgD+		
		(1%) Linfocito B SmlgG+		
		(1%) Linfocito B SmlgA+		
(0,1%) Linfocito B SmlgE+				
NK	CD16+ CD2+	(5%) Célula NK CD3-, CD4-, CD8-	Ninguna	Mata tumores y microbios. No posee RCT.
		(35%) Célula NK CD3+, CD4-, CD8+ (baja densidad)	Ninguna	Mata tumores y microbios. No posee RCT.
CD3+		(2%) Actividad tipo NK CD3+, CD4-, CD8-	Ninguna	Mata tumores y microbios. No posee RCT.

Smlg = Inmunoglobulina en superficie de membrana.  
RCT = Receptor de célula T.  
CMH = Complejo Mayor de Histocompatibilidad.  
NK = Célula Citotóxica Natural ("Natural Killer").

## ASPECTOS FISIOLÓGICOS DE LAS RESPUESTAS INMUNOLÓGICAS ESPECÍFICAS E INFLAMATORIAS INNATAS

células portan el isotipo CD45RO mientras que linfocitos vírgenes portan el isotipo CD5RA.

La otra subpoblación de células CD4+, son las células 2H4+, (CD45R), que también reconocen antígenos en presencia de moléculas de clase II, pero que funcionalmente difieren de las CD29, y por eso se les conoce como células inductoras- supresoras o inductoras de supresión. Estas células proliferan en presencia de Concanavalina A y, en presencia de células CD8+, activan suprimiendo la producción de anticuerpos por las células B.

Esta definición funcional de las subpoblaciones de células T se está haciendo cada vez más compleja, ya que, por ejemplo, un tipo de células CD4+ puede inducir la formación de células T citotóxicas CD8+ (lo cual es una propiedad característica de las células inductoras de supresión) y no posee los marcadores de una célula 2H4+ (marcador de inductora de supresión), sino que posee el 4B4+ (marcador de la inductora de ayuda).

- h.8.- Los linfocitos T CD8+. Estas células son restringidas en su función porque deben reconocer los antígenos solamente en presencia simultánea de moléculas de Clase I del CMH. Estas células son citotóxicas para las células que presenten el antígeno específico para el cual es sensible la célula T citotóxica. Las células CD8+ son capaces de suprimir la producción de anticuerpo por parte de las células B. Hasta ahora no se ha descrito fehacientemente la existencia de moléculas marcadores de superficie que permita distinguir entre las CD8+ citotóxicas y las CD8+ supresoras.

La Tabla Nº 4 nos muestra una división basada en los marcadores de superficie de las subpoblaciones de linfocitos T, B y citotóxicos naturales (NK).

i) Inmunobiología de los linfocitos B.

- i.1.- Los linfocitos B constituyen uno de los elementos celulares principales del sistema inmunológico. Su papel primordial es la producción de inmunoglobulinas (Igs), las cuales funcionan como anticuerpos contra antígenos (proteínas, carbohidratos), provenientes del medio externo (microorganismos, toxinas, parásitos, etc.).

Evolutivamente, los linfocitos B atraviesan dos grandes fases; una que no depende de antígenos (pre-B) y otra antígeno - dependiente (linfocito maduro=> célula plasmática). Durante esta evolución, los linfocitos B necesitan de un microambiente que les permitan proliferar y funcionar en respuesta a una serie de estímulos internos y/o externos. Su diferenciación es un proceso complejo, que varía según el microambiente y depende de su interacción con otras células.

En su ontogenia, los precursores de los linfocitos B se encuentran en el mesénquima del saco vitelino, luego aparecen rápidamente en el hígado embrionario (octava o novena semana de gestación) y posteriormente pasan a la médula ósea (MO), siendo éste el único tejido en el cual los linfocitos B se diferencian en la vida post-natal. Las células pre-B provienen de una célula primitiva pluripotencial, cuya naturaleza y los factores que determinan su evolución aún no han sido clarificados.

En la MO, los precursores de B son capaces de diferenciarse, pero no está claro hasta qué estadio pueden llegar dichas células antes de abandonar la médula. Pueden ser células maduras capaces de reaccionar con antígenos, o células inmaduras que van a poblar los órganos linfoides periféricos; otras células maduran en la médula y se transforman en linfocitos pequeños de corta vida (células vírgenes) que expresan IgM e IgD en su superficie. En este microambiente medular, varios tipos de células pueden influir en la maduración de los linfocitos B: macrófagos, fibrocitos reticulares, células mieloides, plasmocitos y un conjunto de células que conforman parte del estroma medular, las cuales estimulan la producción y/o diferenciación de las células pre B, ya sea por contacto directo o a través de mediadores solubles. Se ha tratado de caracterizar ciertas moléculas de adhesión que intervienen en la interacción entre células B en desarrollo y las células del estroma.

El "encuentro" con el antígeno constituye un paso fundamental en la evolución de las células B, sin el cual los linfocitos vírgenes de vida corta desaparecerían. Posiblemente, la activación de linfocitos B por el antígeno ocurre en un microambiente particular, compuesto de células accesorias y de linfocitos T. Aparentemente, los linfocitos B pequeños T-dependientes, necesitan un estrecho contacto con las células cooperadoras (CD4+, CD29+) para ser activadas.

Es probable que el linfocito B, activado por el antígeno, entre al centro germinal de un folículo linfoides y proliferen en su zona oscura. Dentro del centro germinal, los linfocitos B activados encuentran un ambiente constituido por otras células B, células CD4, macrófagos y

células dentríticas foliculares (CDF). Las CDF sólo existen en los folículos linfoides rodeando las células B; estas células son capaces de promover la supervivencia y proliferación de células B. La mayoría de los linfocitos B producidos en los centros germinales mueren localmente y son fagocitados por macrófagos. Las células que sobreviven pueden transformarse en:

- a) centrocitos en la zona clara y luego en linfocitos pequeños (células de memoria) antes de abandonar el folículo; posteriormente, al conseguir un microambiente adecuado, se transformarán en plasmocitos.
- b) inmunoblastos, los cuales migran a través de los vasos sanguíneos hacia los cordones medulares, donde entran en contacto con macrófagos y células T productoras de factores de diferenciación, lo cual favorece su transformación en células plasmáticas productoras de anticuerpos. Así, los linfocitos B, en las diferentes etapas de evolución, necesitan de condiciones locales adecuadas que permiten contactos específicos intercelulares y un intercambio de productos bioactivos fundamentales para su crecimiento y diferenciación.

i.2.- Diversidad de los clones celulares B. Existen diferentes mecanismos genéticos que contribuyen a formar el repertorio de anticuerpos de un individuo. Es decir, que un individuo posee múltiples clones de células B capaces de producir anticuerpos con gran diversidad de especificidades. Los genes que codifican las cadenas pesadas (H) de la molécula de Ig están ubicadas en el cromosoma 14, mientras que los genes para las cadenas livianas (L) kappa se encuentran en el cromosoma 2 y los que codifican las cadenas L lambda están en el cromosoma 22. Sin embargo, antes de que se produzca la transcripción de estos genes, es necesario un paso previo a nivel de pre-B: el reordenamiento de los genes que codifican la región variable de las Igs, proceso fundamental para la producción de anticuerpos específicos.

Con la utilización de sondas de ADN recombinante, se ha podido efectuar un análisis directo de los genes que codifican las moléculas de Igs. Se ha demostrado que las regiones variables (V) y constantes (C) son codificadas por genes diferentes que están localizados

en diferentes fragmentos del ADN. Según la teoría de la línea germinal recombinante, tres segmentos de ADN deben unirse para ensamblar un gen que codifica la porción variable de las cadenas H de la Ig. Estos tres segmentos son:

- a) El segmento variable (VH), donde existen múltiples (varios cientos) regiones variables en la línea germinal dentro del genoma.
- b) El segmento de diversidad (DH) que codifica la región hipervariable.
- c) Un segmento de unión (JH) de las cuales se han descrito 6 tipos. Estos tres segmentos separados (VH/DH/JH) de la línea germinal, pueden utilizar una gran multiplicidad de recombinaciones cuando se unen para generar la región variable de la cadena pesada.

En este estado pre-B se produce un reordenamiento del ADN. Este reordenamiento comienza por los genes de la cadena H; un gen D es transportado muy próximo a un gen J, produciéndose una eliminación ("delección") del ADN entre estos dos genes; este proceso (**translocación DJH**) ocurre en ambos cromosomas. Luego un gen VH, en uno de los cromosomas es translocado para formar un gen complejo VH/DH/JH, el cual codifica la región variable completa de la cadena pesada.

En el proceso de translocación se activan dos tipos de secuencias gen-reguladoras: una ubicada en el VH transportado, que promueve la transcripción, y otra ubicada entre los genes JH y Cu que la favorece.

Proteínas producidas en el núcleo se unen a estas regiones, lo cual inicia una activa transcripción de genes. Cuando los exones VH, DH y JH han sido transcritos correctamente junto con el exón de la región constante (Cu), el ARN mensajero procesa este mensaje y lo traslada al producto de la u, la cual se expresa en el citoplasma. El siguiente paso es el reordenamiento de la región V de las cadenas L, que sucede en la célula pre-B postmitótica y se efectúa en forma muy similar al reordenamiento de las cadenas H. La unión de las cadenas L con la cadena u ocurre en el retículo endoplasmático y así la IgM formada es transportada a la superficie celular a través del aparato de Golgi, transformándose la célula pre-B en un linfocito maduro. En esta forma, utilizando todas las posibles combinaciones entre los genes que codifican las regiones V de las cadenas H y L, se pueden obtener aproximadamente un millón de clones de células B, con diferentes especificidades de anticuerpos. La producción de isotipos de Igs diferentes a IgM (pero con la misma especificidad de anticuerpos) puede aparecer en cualquier clono de

## ASPECTOS FISIOLÓGICOS DE LAS RESPUESTAS INMUNOLÓGICAS ESPECÍFICAS E INFLAMATORIAS INNATAS

células B y es debido fundamentalmente a procesos de delección en la secuencia del ADN. Recientes observaciones sugieren que linfoquinas y mitógenos pueden estimular determinadas regiones del grupo de Igs, produciendo activación de la transcripción, seguida de una desviación de la recombinación a través de un mecanismo enzimático que permite la expresión de los diferentes isotipos de Igs. Por ejemplo, la IL-4 promueve la expresión de IgG1 e IgE, mientras que el interferón gamma estimula producción de IgG2a.

- i.3.- Activación y expansión clonal La activación de linfocitos B por el antígeno es un paso fundamental en la evolución de estas células. Esta activación se ha dividido en dos fases, una que corresponde a la interacción entre el receptor de membrana de linfocitos B (Ig) y el antígeno, y la segunda, que es una respuesta proliferativa a las células T cooperadoras. Estas últimas, a su vez, pueden ser de dos tipos: a) restringida por antígenos clase II del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) y b) colaboración mediada por factores solubles.

El evento inicial en la activación de linfocitos B es la interacción entre la Ig de superficie y el antígeno, con la subsecuente internalización de éste. Dentro de la célula, el antígeno es parcialmente digerido y transformado en péptidos, los cuales son reciclados y llevados a la superficie celular, donde forman un complejo con los antígenos clase II del CMH. La interacción antígeno-Ig de superficie, genera una serie de cambios metabólicos intracelulares, con activación de la fosfolipasa C en la membrana y generación de segundos mensajeros, liberación de calcio y activación de la proteínaquinasa C; esta última se une a lípidos de la membrana y al calcio, originando una cavidad fosforilante.

La fosforilización de ciertas proteínas celulares induce la transmisión de señales al ADN, lo cual produce una alteración de la transcripción en diversos genes, entre ellos el proto-oncogen *myc* cuya transcripción coloca la célula B activada en una forma proliferativa. Existe aumento de volumen celular, aumento de ARN y paso de la célula de estado G al ciclo celular G.

El linfocito B activado, presenta el antígeno a la célula T cooperadora. La colaboración de ésta con el linfocito B activado puede efectuarse, bien a través del reconocimiento del complejo antígeno - molécula clase II de CMH por su receptor antigéneo (restricción por el CMH), o bien a través de la liberación de linfoquinas (no restringida por CMH); esta interacción conduce a una

expansión clonal del linfocito B estimulado y a su posterior diferenciación en células productoras de anticuerpos (células plasmáticas).

- i.4.- Colaboración del linfocito T e interleuquinas con el linfocito B. Los factores ayudadores provenientes de las células CD4+, han sido divididos en factores inductores de crecimiento y factores inductores de diferenciación. Los factores caracterizados hasta ahora son: IL-1, IL-2, IFN-gamma, IL-4, IL-6. Muy recientemente, se ha reportado que el factor de necrosis tumoral (FNT) (tanto forma alfa como beta) activa el crecimiento de linfocitos B, demostrándose que estas células expresan receptores de alta afinidad para la forma alfa de este factor. Además de inducir crecimiento y diferenciación de células B en plasmocitos, estos factores también pueden, en forma selectiva o preferencial, inducir la formación de isotipos de Igs.

Por otra parte, los linfocitos B son susceptibles a la acción ayudadora de linfocitos grandes y granulares (cuyo fenotipo es CD3-, CD4-, CD16+), los cuales, al igual que las células CD4+ cooperadoras, promueven la diferenciación de linfocitos B células plasmáticas y a la síntesis de anticuerpos. Este efecto es independiente de linfocitos T y parece depender de factores solubles tipo IL-2, IL-4, IL-5 y el IFN tipo gamma.

Algunos investigadores sugieren que las células CD4+ restringidas por CMH pueden ser divididas en dos sub-poblaciones: Th1, que secreta IL-2 e IFN-gamma y la Th2, que produce IL-4 e IL-5. Resultados muy recientes indican que la IL-4 es necesaria para la proliferación y, posiblemente para la diferenciación de los linfocitos B en reposo, siendo la principal linfoquina comprometida en la producción de IgG1 e IgE; mientras que IL-5 es el principal factor de diferenciación, particularmente para la producción de IgA.

- i.5.- Marcadores de linfocitos B. Con el uso de anticuerpos monoclonales se han identificado una serie de marcadores en la superficie del linfocito B, característicos de las diferentes fases del proceso de diferenciación de estas células. De gran importancia en la definición de estos antígenos de diferenciación, ha sido la reciente nomenclatura de grupo de diferenciación (CD) adoptada en los diferentes talleres sobre antígenos de diferenciación leucocitaria.

Hasta el presente, se han definido 14 antígenos CD en la superficie de los linfocitos B. Algunos de ellos pueden ser compartidos con otras células (CD5, CD9, CD10), mientras que la mayoría están restringidos a los linfocitos B. Numerosos antígenos aún no han sido clasificados en la nomenclatura CD; varios de ellos poseen mucha importancia debido a que están restringidos a determinados estudios en el proceso de diferenciación (antígenos detectados por anticuerpos monoclonales FMC7, PCA-1, estos últimos característicos de plasmocitos). Otros antígenos sólo aparecen en células B activadas pero no en células en reposo (B4, BCA-1).

Un problema importante por dilucidar es la función que ejercen estos marcadores de superficie. El antígeno CD9 parece estar relacionado con activación y proliferación en células nucleadas: el CD20, aparentemente interviene en la activación de los linfocitos B. Se ha demostrado que el CD21 tiene doble función: como receptor por el virus de Epstein-Barr y para la fracción C3d del complemento; la molécula CDw40 parece jugar un papel muy importante en la activación de las células B. De particular interés es el papel que juega la molécula CD23, abundantemente expresada por los linfocitos B transformados por virus EB, pero su expresión es también un pre-requisito para que se produzca la transformación.

Aparentemente, el CD23 es el receptor para el factor crecimiento de B (IL-4) producido por linfocitos T.

- j) Inmunoglobulinas. Las inmunoglobulinas son glicoproteínas, ubicadas en el grupo de las gammaglobulinas (patrón electroforético clásico), las cuales poseen como propiedad esencial y propia, la capacidad de unirse a antígenos y a moléculas compuestas, denominadas Haptenos. Por varias décadas, se ha establecido la exquisita especificidad inmunobiológica en la interacción inmunoglobulina - antígeno. Esta propiedad continúa siendo invariable para el caso de los anticuerpos generados ante el estímulo antigénico. Sin embargo, desde 1980, se han aportado evidencias progresivas de la existencia de los denominados anticuerpos naturales, los cuales poseen características inmunogenéticas diferentes, reaccionan con componentes citoesqueléticos y nucleares de las células del propio huésped y exhiben una extraordinaria poliespecificidad. Mientras se ha establecido con precisión la función y objetivo de los anticuerpos producidos en la respuesta a antígenos extraños al huésped, la función de los anticuerpos naturales permanece aún por ser dilucidada.

j.1.- Estructura molecular y funciones biológicas. Las inmunoglobulinas conforman el elemento central de las respuestas inmunológicas mediadas por anticuerpos, estableciendo con el antígeno complejos macromoleculares (complejos inmunológicos), los cuales son objetos de reconocimiento, tanto en fase fluida (sistema de complemento) como a nivel celular (sistema mononuclear - fagocitario). Esta interacción, permitirá la degradación y eliminación final del antígeno, objetivo primordial de la respuesta inmunológica específica, contribuyendo a la preservación del estado de inmunidad del huésped, en términos de homeostasis antigénica. Luego de los trabajos pioneros de Tiselius, Kabat Waldestrom, Kunkel, Grabar, Putnam y Oudin, Porter, en Inglaterra y Edelman, en Estados Unidos, aportaron el conocimiento de la estructura molecular y especial de las inmunoglobulinas. Son compuestos glicoprotéicos monoméricos (unidad básica), formados por cuatro cadenas polipeptídicas, las cuales se unen entre sí a través de puentes disulfuros y fuerzas no covalentes. Dos de las cadenas poseen un peso molecular entre 50-70 kd (cadenas pesadas, H) y dos con peso molecular de 23 kd (cadenas livianas, L). La mayoría de las funciones biológicas de los anticuerpos, se expresan a través de regiones moleculares de los extremos carboxílicos de las cadenas pesadas (segmento Fc); por otra parte, el sitio de combinación con el antígeno, está ubicado en una zona hipervariable, compartida por regiones de cadenas ligeras y pesadas y orientadas hacia el grupo amino terminal. Desde el punto de vista espacial, las inmunoglobulinas son altamente flexibles, a lo que contribuye la región de la bisagra, sobre la cual se doblan las cadenas pesadas, propiciando el contacto antigénico.

j.2.- Isotipos e idiotipos. En el humano, las secuencias de aminoácidos que conforman las cadenas pesadas en el segmento Fc (isotipos) permiten distinguir cinco tipos de inmunoglobulinas, denominadas: IgG (isotipo Alfa), IgM

Tabla N° 5

	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
Concentración Promedio en suero (Adulto mg/100ml)	1.200+600	200+120	120+60	3	.03
PM (daltona)	150.000	170.000	900.000	180.000	190.000
Vida Media (días)	23	6	5	2,8	1,5
Tipos Cadenas Pesadas	Gamma	Alfa	MU	Delta	Epsilon
Formas Poliméricas	No	Dimeros	Pentameros	No	No
% de Carbohidratos	3	12	7,5	12	12
Unión receptor células fagocíticas	Si	No	No	No	No
Fijación de complemento (vía clásica)	Si	No	Si	No	No
Transferencia Placentaria	SI	No	No	No	No
Unión a receptores de mastocitos	No	No	No	No	Si
Presentes en secreciones exocrinas	No	Si	No	No	Si

(mu), IgA (Gamma), IgD (Delta) e IgE (Epsilon), característica que a la vez otorga diferencias en cuanto a funciones biológicas (Tabla N° 5). Por otra parte, cada inmunoglobulina posee en las regiones amino - terminales, una combinación de cadenas pesadas y livianas de notable variabilidad en cuanto a secuencia de aminoácidos, lo cual contribuye a la notable capacidad de reconocer específicamente la multiplicidad de composiciones antigénicas.

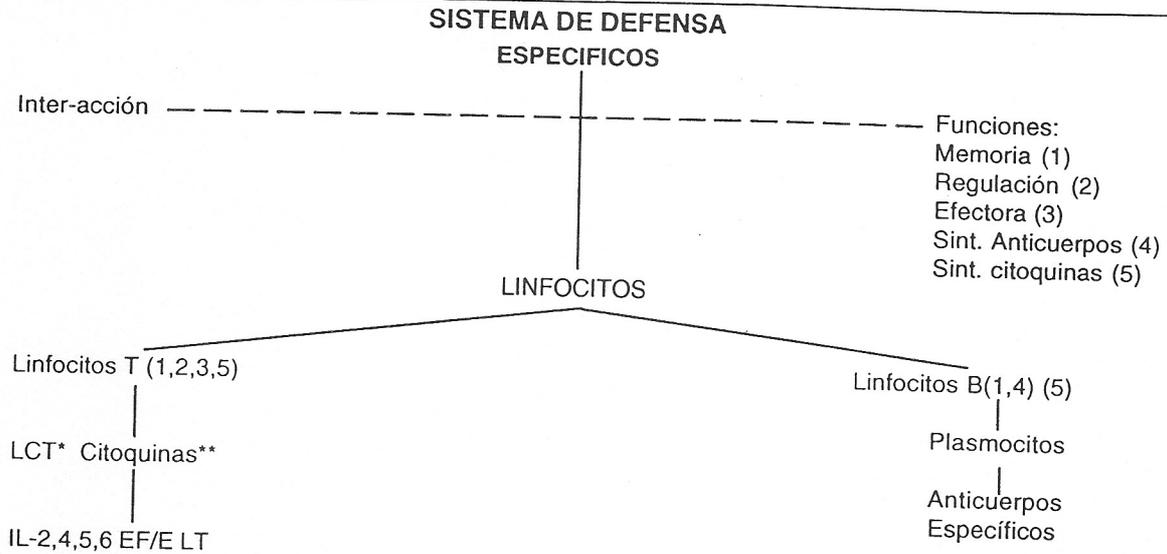
Tanto a los dos tipos de cadenas livianas (Kappa o Lambda) como a los segmentos correspondientes de las cadenas pesadas de cada isotipo, se les denomina regiones variables. El arreglo molecular de ambas cadenas, conforman el segmento que se une complementariamente al antígeno (segmento Fab). Aún más, dentro del contexto de las regiones variables del segmento Fab de cada tipo de inmunoglobulina, se han descrito regiones hipervariables (en cuanto a composición y posición de los aminoácidos), lo que determina no sólo especificidad de un determinado anticuerpo, sino la

diferenciación con respecto a otros de su misma clase (esta secuencia se le denomina con el término de "idiotipos").

- j.3.- Importancia del segmento Fc. A nivel de la membrana celular de un grupo importante de células (linfocitos T, B, NK, monocitos, neutrófilos, plaquetas), existen receptores para el segmento Fc de la IgG; algunos linfocitos T expresan receptores para IgM y los mastocitos exhiben receptores para IgE. La interacción del anticuerpo con el receptor para Fc estimula la activación y función de las células en cuestión. Así, en neutrófilos, dicha unión induce a endocitosis, descarga de gránulos lisosomales y activación del metabolismo oxidativo. Es, así mismo, pertinente para facilitar la opsonización, usualmente en conjunto con la unión a receptores para C3d o para inducir la liberación de mediadores solubles presentes en los mastocitos.

ASPECTOS FISIOLÓGICOS DE LAS RESPUESTAS INMUNOLÓGICAS  
ESPECÍFICAS E INFLAMATORIAS INNATAS

Figura 2

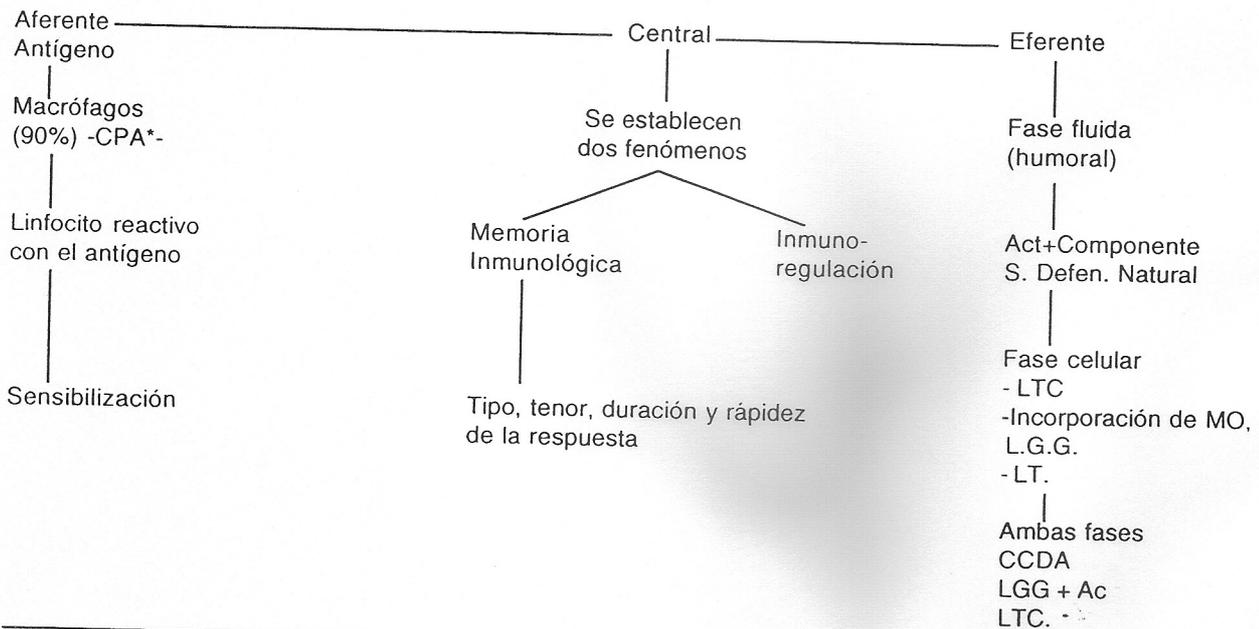


\* LTC: Linfocito T Citotóxico.

\*\* : Factores solubles los cuales promueven: información y promoción de desarrollo celular estructural (interleuquina), reclutamiento de células accesorias modificando su movilidad y metabolismos (FIM, FIL) y acción citotóxica (Linfotoxina, LT).

Figura 3

**FASES DE LA RESPUESTA INMUNOLÓGICA (1)**



\* CPA: Cel. Presentadoras de Ags. (MO, C. dendríticas, Cel Gliales, C. Langerhans).  
CCDA: Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos.  
1: Específicas.

## ASPECTOS FISIOLÓGICOS DE LAS RESPUESTAS INMUNOLÓGICAS ESPECÍFICAS E INFLAMATORIAS INNATAS

---

La citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (descrita en la literatura inglesa como "ADCC") está igualmente relacionada con la capacidad que tienen células efectoras de expresar receptores para el segmento Fc de las inmunoglobulinas células NK, neutrófilos y eosinófilos).

Finalmente, la interacción con el sistema del complemento (capacidad de fijar y activar el sistema de complemento), se realiza a nivel del segmento Fc (particularmente con la sub-unidad) C1q del componente C1 del complemento); esta capacidad de fijar complementos reside fundamentalmente en inmunoglobulinas tipos IgM, IgG1 e IgG3.

- k) Integración Funcional de la Respuesta inmunológica Específica. Ante el contacto inicial con el antígeno incitante, se establece un flujo progresivo de eventos que compromete a las poblaciones linfocitarias analizadas, las cuales tienen como objetivo: la sensibilización (producto de la información transferida por células presentadoras de antígenos linfocitarios T y B), el establecimiento de memoria inmunológica en ambas subpoblaciones (evento cardinal de la respuesta inmunológica) y

como la organización de circuitos regulatorios, los cuales propician el tipo, tenor, duración y rapidez de la respuesta y finalmente, la génesis de sub-poblaciones efectoras (tanto de T como de B) las cuales procederán a degradar el material antigénico.

Tres (3) fases integran estos objetivos (Figuras Nº 2 y Nº 3), las cuales operan simultáneamente y bajo la codificación genética y que no sólo otorga el patrón individual de respuestas sino las restricciones a nivel del contacto entre membranas. Dichas fases son consecutivamente, la aferente (sensibilización), central (memoria y establecimiento de circuitos regulatorios) y afrente (efecto citotóxico directo, con la participación de los sistemas de amplificación tanto de respuestas mediadas por anticuerpos como por células).

Mientras más complejo (desde el punto de vista molecular) sea un antígeno, la conjugación de ambos tipos de respuesta (mediada por anticuerpos y células) se hace más necesaria. Además existe la integración simultánea de respuestas por anticuerpos y células, como es el caso de la Citotoxicidad Celular dependiente de anticuerpos.

**Bibliografía**

- 1.- Bianco, N.E. Perspectivas actuales y futuras de la inmunología. Volumen 1. Fondo Editorial Acta Científica Venezolana, 1.993.
- 2.- Goldsmith M.A., Weiss, A. New Clues about T-Cell antigen receptor complex function. *Inmunol Today* 9:220-221, 1.988.
- 3.- Bottomly, K. A. Functional dichotomy in CD4 T lymphocytes. *Inmunology Today*. 9: 268-274, 1.988.
- 4.- Powrie, F. Mason, D. Phenotypic and Functional heterogeneity of CD4+ T cells. *Inmunology Today*. 9: 274-277, 1.988.
- 5.- McMichael, A.J. (ED) "Leucocyte typing III-white cells differentiation antigens". Oxford University Press, Oxford, 1.987.
- 6.- Beverly, P.C.L., Terry L., Pickford, A. T cell subsets and function. *Progress in immunology VI*. Academic Press. Londres, 1.986.
- 7.- Sanders, M.E., Makgoba, M.W., Shaw, S. Human naive and memory T cells: reinterpretation of helper and suppressor-inducer subsets. *Inmunology Today*. 9: 195-199, 1.988.
- 8.- Haynes, B.F., Denning, S.M., Singer, K.H., Kurtzberg, J. Ontogeny of T-Cell precursors: a model for the initial stages of human T-Cell development. *Inmunology Today*. 10:87-91, 1.989.
- 9.- Abbas, A.K. A reassessment of the mechanisms of antigen-specific T-Cell dependent activation. *Inmunology Today*. 9: 89-92, 1.989.
- 10.- Berek, C., Milstein, C. The dynamic of the antibody repertoire. *Inmunology. Rev.* 105: 5, 1.988.
- 11.- Birschetein, B.K. B cells at the molecular level. *Inmunology Today*. 9: 187, 1.988.
- 12.- Coffman, R.L. The of helper T-cells products in mouse B cell differentiation and isotype regulation. *Inmunol. Rev.* 102:5, 1.988.
- 13.- Cupper, M.D. B Lymphocytes. Normal development and funtion. *New. Engl. J. Med.* 317: 1452, 1.987.
- 14.- Dighiero, G., Kaushir, A., Ponce., GE X R. Origin and significance of natural autoantibodies in concepts in immunopathology. 4: 42, 1.987.
- 15.- Frank, MM. Complement in the Pathophysiology of human disease. *New Engl. J. M.* 317:1452, 1.987.
- 16.- Ishizaka, K. Regulation of IgE synthesis. *Ann Rev. Immunol.* 2:159, 1.984.
- 17.- Muñoz, J.F., Rangel, A., Cristancho, M. Texto de Inmunología básica . Editorial Venezolana, C.A. Mérida, Venezuela. 1.988, P.87.
- 18.- Ponce, D.P., Anderson, O., Ilja, R., Monzón, A., Bianco, N.E. Total serum IgG in Venezuelan school children. *Clin Allergy*. 13:521, 1.983.
- 19.- Rodriguez, M., Blanca, I., Baroja, M.L., Arama, S., León-Ponte M., Abadi, I., Bianco, N.E. Helper activity by human large granular lymphocytes in vitro immunoglobulin synthesis. *J.Clin inmunol.* 7: 356, 1.987.
- 20.- Contreras, CE., Orozco, A., Sanchez, P., Ortega, G., Bianco, N.E. Physiological aspects of circulation immune complexes. *Clin. Exp. Immunol.* 48: 693-699, 1.982.
- 21.- Paul, W.E. *Fundamental immunology*. Raven Press. New York, 1.989.
- 22.- Pascual, V., J.D. Human immunology heavy-chain variable region genes: organization, polymorphism and expression. *Adv. Immunol.* 49: 1-64, 1.991.