



## ACTIVACIÓN Y RESPUESTA EFECTORA EN LA INMUNIDAD ADQUIRIDA

### 1. MADURACION LINFOCITARIA

La maduración linfocitaria es un proceso que se lleva a cabo en los órganos linfoides primarios, particularmente el timo para los LT y la médula ósea para los LB. Este es un proceso que se da de forma independiente de la presencia del antígeno, por lo tanto ocurre antes de la llegada del patógeno. La maduración linfocitaria cumple con tres funciones básicas: definir la especificidad de cada linfocito, generar células funcionales y mediar la tolerancia a lo propio.

La generación de la diversidad en el reconocimiento antigénico es un mecanismo fundamental para la respuesta inmune adquirida. Es a través de este proceso que se genera la capacidad del sistema inmune de responder de una forma específica frente a una gama sumamente grande de antígenos distintos. El mecanismo molecular responsable de generar dicha diversidad son los reordenamientos génicos. Para ello, tal como se describió en el documento “Receptores de la inmunidad innata vs receptores de la inmunidad adquirida” al inicio de este capítulo, se seleccionan distintos segmentos génicos para poder hacer un reordenamiento VDJ que permite la expresión de la porción variable de las cadenas pesada (H) de las inmunoglobulinas de superficie o receptor de las células B (BCR) y la cadena  $\alpha$  del receptor de los linfocitos T (TCR), y un reordenamiento VJ para la expresión de la porción variable de la cadena liviana (L) del BCR y la cadena  $\beta$  del TCR. La diversidad que se genera durante este proceso depende en parte de la combinación al azar (efecto combinatorial) de los distintos segmentos génicos, de una fuente limitada de distintos segmentos génicos: entre unos 25 a 15 segmentos V, hasta unos 15 segmentos D, y entre unos 4 a 50 segmentos J. En este mecanismo se produce un buen número de rearrreglos distintos, sin embargo la mayor diversidad se va a producir gracias a la inserción de nucleótidos que se dan en las uniones en el DNA entre un segmento D y uno J (rearrreglo D a J) y un segmento V a un DJ rearrreglado (rearrreglo V a DJ) sobre los genes de la cadena H del BCR y  $\alpha$  del TCR. De igual forma, en la unión de un segmento V a uno J (reordenamiento D a J) sobre los genes de las cadenas L ( $\beta$  o  $\delta$ ) del BCR o las cadenas  $\beta$  del TCR. Los nucleótidos insercionales pueden ser de dos tipos P y N. Los N son los que generan mayor diversidad y son adicionados por la enzima transferasa deoxinucleotidos terminal (TdT). Una buena cantidad de células que intentan hacer reordenamiento génicos mueren al no lograr hacer reordenamientos



productivos: es decir poder hacer un reordenamiento génico que permita la producción de una proteína completa (Kind et al 2007; Murphy et al, 2012).

La funcionalidad de las células depende del hecho que las proteínas fabricadas (BCR o TCR) al interactuar con sus ligandos correspondientes puedan transducir señales al interior de los LB o los LT que finalicen o no en activación celular. Para ello, una vez las proteínas se van sintetizando a partir de los genes rearrreglados VDJ-CH y VJ-CL (α o β) para el BCR o los genes rearrreglados VDJ-C $\alpha$  y VJ-C $\beta$  para el TCR se va ensayando la capacidad de transducir señales al interior de las células cuando interactúan con ligandos determinados en el medula ósea o el timo. Este aspecto es bien claro durante la generación de los linfocitos: los timocitos durante su maduración se vuelven células que expresan tanto CD4 como CD8 (células doblemente positivas) cuando ya expresan un TCR determinado. Estas células doblemente positivas en el timo pasan por un proceso que se conoce como selección positiva. En esta fase de la maduración las células que logren hacer una interacción con las moléculas del HLA de ese individuo pero que no sea de alta afinidad sobreviven, mientras que las células no pueden interactuar con esas variantes alélicas del HLA o lo hagan muy fuerte también mueren. Esto es fundamental para permitir la sobrevivencia de las células que en la periferia podrán responder frente al antígeno por el cual son específicas cuando se lo presenten de forma apropiada las células presentadoras de antígeno. Este mecanismo se conoce como restricción por el HLA y es el mecanismo por el cual se seleccionan las células T que están restringidas por las variantes alélicas del HLA de cada individuo. Parte de la restricción establece que las células T cuyos TCRs y con ayuda del co-receptor CD8+ interactúan con HLA-I, pierden la expresión del CD4, y aquellos que con la ayuda del co-receptor CD4+ interactúan con HLA-II, pierden la expresión del CD8. De esta forma en la selección positiva las células pasan de doblemente positivas a una sola positividad (Kind et al 2007; Murphy et al, 2012).

Los LT y LB pasan a través de un proceso de selección negativa. En este proceso las células que interactúan fuertemente con antígenos propios que se encuentran en el timo o en la medula ósea mueren por mecanismos de apoptosis. Este es un mecanismo fundamental en el desarrollo de la tolerancia a lo propio: es la forma en que el sistema inmune aprende a identificar a lo propio y por ende a lo no propio. Se ha descrito que el timo se activa un factor de transcripción conocido como AIRE (“Autoimmune Regulator”). Este factor de transcripción se expresa fuertemente en las células epiteliales corticales y allí media la expresión de antígenos que normalmente se expresan en otros tejidos: esta es una forma de tener un “mustrario” de antígenos propios en el timo. Estos antígenos pueden ser transferidos a las células dendríticas



de la medula tímica para que ellas los procesen y los presenten en el contexto de las moléculas HLA-I y HLA-II, de forma que los timocitos CD4+ o CD8+ tengan la oportunidad de interactuar con ellos, y de esta forma favorecer la selección negativa (Hubert et al, 2011; Kind et al 2007; Murphy et al, 2012) .

Los LT y los LB que logran hacer reordenamientos génicos productivos y además pasar los filtros de la selección positiva y la selección negativa salen a la periferia como células indiferenciadas para ejercer labores de inmunovigilancia. Solamente del 2 al 5% de las células logran terminar la maduración linfocitaria.

## 2. ACTIVACION LINFOCITARIA

Las células indiferenciadas hacen labores de inmunovigilancia en busca de los antígenos por los cuales ellas son específicas. Para ello, las células se movilizan entre los órganos linfoides secundarios como los ganglios linfáticos y el bazo. Estos órganos linfoides secundarios son estructuras especializadas en servir de sitios de drenaje antigénico y de acumulación de células linfoides. A los ganglios linfáticos, el drenaje antigénico se da por la linfa, movilizand o antígenos libres o antígenos procesados y presentados por células dendríticas. El bazo carece de drenaje linfático, y por lo tanto los antígenos son filtrados allí de la sangre (Murphy, 2012).

Para la inducción de una respuesta inmune adquirida, inicialmente las células dendríticas inmaduras (pobre capacidad para activar linfocitos T) en el tejido agredido, interactúan a través de sus PRRs con los PAMPs asociados con los microorganismos. Esta interacción es importante para favorecer la respuesta inflamatoria como ya se describió en el documento “Inflamación y respuesta efectora inmunidad innata”, y por otro lado, es clave en favorecer la captura del antígeno, su procesamiento y presentación antigénica en las moléculas HLA; así como la generación de células dendríticas maduras (alta capacidad para activar linfocitos T). Para que una célula dendrítica madure requiere la expresión de un buen nivel de moléculas co-estimuladoras como las proteínas CD80 y CD86, así como la capacidad para producir distintos tipos de citocinas; estas dos funciones, dependen enormemente de la interacción entre los PRRs y los PAMPs. Este aspecto es fundamental, porque es la forma en que la inmunidad innata “educa” a la inmunidad adquirida; lo cual implica, que al generar estas señales accesorias, determina si los LT son activados y el tipo de respuesta efectora que se genera posterior a esta activación inicial (Kind et al, 2007; Murphy, 2012).



Las células dendríticas que han sido apropiadamente estimuladas en el tejido inflamado y han madurado eficientemente (expresan buenos niveles de moléculas HLA y de moléculas co-estimuladoras y capacidad para producir citocinas) llegan al ganglio linfático por el drenaje linfático y se localizan en el área de los LT. Allí se inician una serie de interacciones entre los LT y las dendríticas inicialmente por interacciones adhesivas de baja afinidad (LFA-1 unido a ICAM-1). Estas interacciones débiles permiten que las células entren en contacto entre sí. En caso que el TCR del LT interactúe con una afinidad relativamente alta con el HLA-péptido antigénico, se generará una señal intracelular en el LT, que en un principio favorece un cambio conformacional en las moléculas LFA-1 con el fin de mediar interacciones de mayor afinidad. Esto básicamente busca que las dos células puedan permanecer unidas en un complejo durante un buen periodo de tiempo. Durante este tiempos se establece un “dialogo” molecular entre las dos células. En estas interacciones son importantes las señales que genera la célula dendrítica para permitir la activación y respuesta efectora de los linfocitos T. Se han identificado tres tipos de señales que son fundamentales para lograr la activación de los LT: i. La primera señal de activación es el antígeno presentado de una forma asociada a las moléculas del HLA del individuo. Esta señal determinará la especificidad de la respuesta, y se asocia muy bien con la respuesta proliferativa, ii. La segunda señal son las moléculas co-estimuladoras. Estas moléculas co-estimuladoras al expresarse como una consecuencia de la interacción con PAMPs del patógeno en el tejido inflamado, permiten que la respuesta se genere ante un antígeno presente en un agente infeccioso, y evitar así por ejemplo una respuesta frente a antígenos inocuos (por ejemplo ambientales asociados con respuestas alérgicas). Esta señal favorece enormemente la sobrevivencia de los LT, iii. La tercera señal son las citocinas. Esta señal derivada de las células dendríticas también es producto de esa interacción con los PAMPs de los agentes infecciosos, y también es responsable en el hecho que la respuesta inmune adaptativa se genere realmente frente a un patógeno. Esta tercera señal es usada por la célula dendrítica para modular la diferenciación de los LT: es decir el tipo de respuesta efectora que se va a generar frente a este patógenos (Murphy, 2012).

Se requieren de las tres señales para favorecer una respuesta inmune adquirida. Si solamente se produce la señal 1 (antígeno), el LT con el TCR específico frente a este antígeno puede anergizarse: esto quiere decir que la célula se vuelve “no respondedora” frente a ese antígeno (anergia clonal). Se espera que esto ocurra frente a antígenos inocuos. En caso, que solamente se dé la señal 2, básicamente no ocurre nada (ignorancia clonal). En algunos casos por muy



bajas concentraciones del antígeno es imposible generar la señal 1 y por ende la activación de la respuesta inmune adquirida (Murphy, 2012).

La activación de los LB depende del tipo de antígeno frente al cual se va a responder. En ese sentido, existen antígenos timo-dependientes y timo-independientes. Los antígenos timo dependientes son de naturaleza proteica y en ellos se involucra muy bien la participación de los LT. Por lo tanto, acá la señal 1 se da cuando el antígeno (soluble o particulado) estimula al BCR. Esto promueve la endocitosis del antígeno, su procesamiento y presentación en el contexto de las moléculas HLA-II, y la expresión de moléculas co-estimuladoras. En ese sentido, el LB se vuelve una célula presentadora de antígeno. En seguida, en la interacción LB-LT, la segunda señal de activación para el LB se producirá por parte de estas interacciones entre las moléculas co-estimuladoras y sus ligandos (ej. CD40-CD40L). Y la tercera señal, proviene de las citocinas como la IL-6, IL-4 e IFN-g que produce el LT y pueden modular la respuesta efectora de los LB. Acá los LB durante su activación van a promover su proliferación celular y diferenciación celular a células plasmáticas productoras de anticuerpos (en un principio IgM), así como mecanismos como la maduración de la afinidad (capacidad para producir anticuerpos con mejor afinidad de unión al antígeno), cambio de isotipo (capacidad para cambiar el isotipo de la inmunoglobulina de superficie y favorecer en el tiempo la secreción de anticuerpos como IgG, IgA e IgE), y la memoria inmunológica. Todas estas características hacen parte de lo que se conoce como la respuesta secundaria (Kind et al, 2007; Murphy, 2012).

Por otro lado, los antígenos timo-independientes son característicos de moléculas como ácidos nucleicos, lípidos, y polisacáridos. En este caso, la segunda señal de activación es generada por receptores de lipopolisacáridos sobre el LB, o es suplida por el compromiso de muchas moléculas BCRs cuando se responde frente a antígenos multivalentes como los polisacáridos (un mismo determinante antigénico que se repite muchas veces en la estructura del antígeno). En este tipo de respuesta no se tiene una buena participación de los LT, y por lo tanto no se generan reacciones como la maduración de la afinidad, el cambio de isotipo, o la memoria inmunológica. Por lo tanto, la respuesta inmunológica tiene características de una respuesta primaria: producción de anticuerpos IgM de baja afinidad (Kind et al, 2007).

La respuesta aloreactiva se presenta cuando el sistema inmune de un individuo se expone a células de otro individuo. Acá la respuesta aloreactiva se dirige principalmente frente a las moléculas del HLA. La respuesta frente a las moléculas del HLA es una respuesta que es prominente en comparación frente a la respuesta frente a antígenos asociados a un patógeno



en particular: esto se ve evidenciado en que podemos tener que cercar del 1% de los LT podrían activarse. Esta aloreactividad está basada en las diferencias alélicas que existen entre las moléculas del HLA del donante y las del receptor. Teniendo en cuenta que las células T del individuo receptor sufrieron un proceso de selección positiva en el timo de ese individuo, las células que sobrevivieron son las que interactúan débilmente con las variantes alélicas de ese individuo (y murieron las que interactúan fuertemente con el HLA de ese individuo); pero existe una posibilidad que varias de estas células puedan interactuar fuertemente con las variantes alélicas del individuos donante. Al encontrarse frentes a estos antígenos van a tener la posibilidad de activarse y generar respuestas efectoras frente a las células del donante. Esta aloestimulación de los TCRs de los LT del individuo receptor se puede dar de forma directa semidirecta e indirecta. De forma directa, mediada por el contacto entre las moléculas HLA presentes sobre las células presentadoras de antígeno del donante y los TCR de los LT del individuo receptor. Semidirecto, cuando complejos completos de las moléculas HLA-péptido de las células del donante son capturadas y presentadas sin modificación alguna sobre las células presentadoras de antígeno del individuo receptor. Indirecto, cuando péptidos del HLA del donante son presentadas en el contexto de las moléculas HLA del individuo receptor (Afzali et al, 2007).

### 3. RESPUESTA EFECTORA DE LA INMUNIDAD ADQUIRIDA

La respuesta en la inmunidad adquirida depende de la diferenciación celular de los LT. Una vez los LT han proliferado, la diferenciación celular es controlada con las citocinas producidas por las células dendríticas. Estas citocinas dependen del tipo de patógeno frente al cual se está montando la respuesta inmune. Por ejemplo, si se trata de una bacteria intracelular, la célula dendrítica puede producir señales como la IL-12; los linfocitos T CD4+ se diferencian produciendo citocinas como el IFN-gama; en este caso los linfocitos son llamados LTh1 (linfocitos T ayudadores “helper” tipo 1); las células diferenciadas pueden salir del ganglio linfático por los vasos linfáticos eferentes y a través del ducto linfático común alcanzar la circulación sanguínea para llegar a donde al tejido inflamado. Una vez allí, pueden ser re-estimuladas por las células presentadoras de antígeno locales y en ese contexto mediar la atracción y activación de macrófagos, y la destrucción de las células infectadas por bacterias intracelulares (principalmente macrófagos infectados) para que las bacterias intracelulares sean liberadas y fagocitadas y destruidas por células competentes. De la misma forma se puede



producir una respuesta Th1 frente a bacterias extracelulares. En este caso las citocinas como la IL-17 producida por los LT ayuda a promover una mejor función de los neutrófilos, fortalecen las barreras físico-químicas y la producción de péptidos antibacterianos. Es de notar acá, que aunque el mecanismo efector es parte de la inmunidad innata, este es potenciado por la inmunidad adquirida (Murphy, 2012).

Para la respuesta efectora de los LB, los LThF (linfocitos T ayudadores foliculares) juegan un papel importante. Estas son unas células efectoras que a diferencia de las otras no salen en busca del tejido agredido, ya que su función la van a ejercer en el órgano linfoide secundario. Allí estas células activadas y diferenciadas con la ayuda de las células dendríticas se movilizan hacia los folículos linfoides donde se están activando los LB. Estas células ThF establecen interacciones con los LB para promover la maduración de la afinidad, el cambio de isotipo y la memoria inmunológica. Los LB activados pueden diferenciarse hacia plasmablastos y formar focos de formación de anticuerpos en los canales medulares de los ganglios linfáticos; de allí los anticuerpos siguen el recorrido linfático hasta alcanzar la circulación sanguínea y lograr llegar al tejido agredido. Una vez en el tejido agredido los anticuerpos pueden mediar mecanismos de neutralización (interferencia con la infección o la actividad toxica de compuestos derivados de los microorganismos), opsonización (incremento en la fagocitosis), fijación de complemento, y citotoxicidad dependiente de anticuerpos (Murphy, 2012).

#### BIBLIOGRAFIA

Afzali B, Lechler RI, Hernandez-Fuentes MP. 2007. Allorecognition and the alloresponse: clinical implications. *Tissue antigens* 69: 545-556.

Huber FX, Kinkel SA, Davey GM, Phpson B, et al. 2011. AIRE regulates the transfer of antigen from mTEC to dendritic cells for induction of thymic tolerance. *Blood* 118: 2462-72.

Kindt TJ, Goldsby RA, Osborne BA. 2007. *Inmunología de Kuby*. McGraw Hill. Capítulos 9, 10 y 11.

Murphy K. 2012. *Janeway's immunobiology 8 edition*. Garland Science. Capítulos 7, 8, 9 y 10.