



ANTIGENICIDAD Y PRESENTACION DE ANTIGENOS.

I.- Los Antígenos (Ags).

José Angel Cova, MD.

e-mail: jacova@ula.ve.

CURSO: Inmunología Básica. Maestría en Inmunología.

Los antígenos (Ags) son sustancias capaces de inducir una respuesta inmunológica. Para ello estos compuestos deben poseer propiedades definidas así como la capacidad de combinarse con un receptor de unión de antígeno presente en la célula T (TCR) o B (BCR).

Tradicionalmente se establecen los términos de inmunogenicidad y antigenicidad, aunque en la práctica se usan por igual. La inmunogenicidad es la capacidad de inducir una respuesta inmunológica (RI) mediada por células o por anticuerpos, en tanto que la antigenicidad es la capacidad de combinarse específicamente con el producto final de esa respuesta (Abs y receptores celulares). Los haptenos son sustancias capaces de unirse a los elementos de la RI pero carecen de inmunogenicidad.

Dentro de todas las moléculas provenientes de los agentes infecciosos las proteínas y los polisacáridos ocupan el primer y segundo lugar, respectivamente, como inmunógenos. Los lípidos y ácidos nucleicos generalmente no sirven como inmunógenos, a menos que ellos formen complejos con proteínas y polisacáridos. Cuando se requiere inducir una respuesta mediada por células las proteínas, algunos lípidos y los glicolípidos son los mejores inmunógenos.

La inmunogenicidad depende de una serie de condiciones inherentes al antígeno y al sistema biológico particular que interacciona con este. Estas características son:

- a) Extraña para el sistema inmunológico.
- b) Tamaño molecular adecuado; cercano a 100 KDa. Esta regla no es total ya que se han encontrado unos pocos inmunógenos de menos de 1000 Da.
- c) Composición química basada en diferentes a.a así como complejidad estructural en los niveles de organización molecular, esto es, estructura primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria.
- d) Ser susceptible de procesamiento y presentación antigénica. Los antígenos deben ser previamente fagocitados (Las macromoléculas grandes e insolubles son más rápidamente fagocitadas que las pequeñas y solubles), procesados (Las enzimas degradativas presentes en la CPA procesan principalmente L-aminoácidos y muy pocos D-aminoácidos) y presentados (por MHC I ó MHC II). Los Ags deben poseer la capacidad de ser sometidos a estos tratamientos previos para poder inducir una RI.

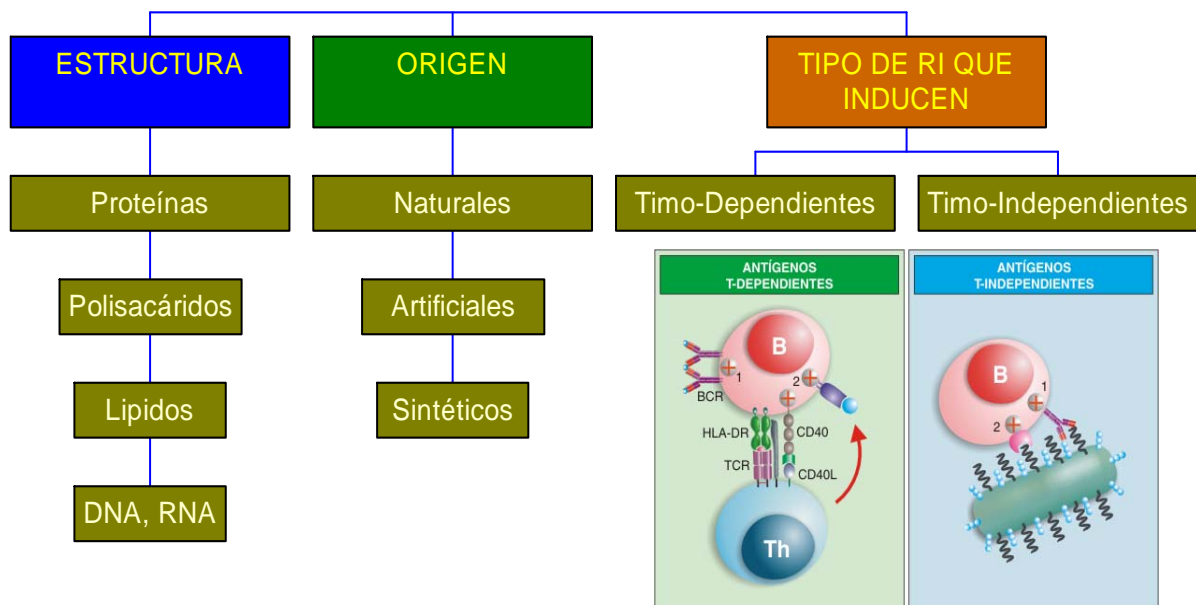
Estas son las premisas que debe tener un antígeno (Ag) para inducir inmunogenicidad en el sistema, pero se requieren de otros factores para despertar una RI, estos son inherentes al sistema que debe manejar una sustancia y se agrupan en:

- a) El genotipo del animal receptor: Esto influye en la intensidad de la RI. Cuando se inmunizan ratones singénicos se observa que, a pesar de tener un perfil genético homocigoto, la RI tiene diferentes grados de intensidad medidos en producción de anticuerpos (Abs). La búsqueda de

los genes que controlan la RI (Ir) ha mostrado que los genes de MHC y de los BCR/TCR para las células B y T son los principales responsables de este control.

- b) La dosis y ruta de Administración del Ag debe ser considerada al momento de inducir un tipo particular de RI. Dosis bajas o muy elevadas de un Ag pueden inducir estados de no respuesta en los linfocitos, con fracaso en generar una RI (tolerancia). La ruta de administración (intravenosa, intradérmica, subcutáneo, intramuscular e intraperitoneal) seleccionada lleva al Ag a compartimientos particulares (bazo para el caso de los IV y nodos linfáticos regionales para los dérmicos) para generar un tipo de RI. El uso de refuerzos para incrementar la proliferación clonal de células T y B Ag-específicas es recomendado. El esquema más usado es un inoculo inicial con dos refuerzos a intervalos de 3 semanas cada uno. La evaluación de la RI en términos de producción de Abs o citotoxicidad celular es recomendado en cada fase de la inmunización.
- c) El uso de adyuvantes incrementa la inmunogenicidad de la molécula por varios mecanismos, entre ellos: persistencia prolongada de Ag, aumento de señales co-estimuladoras, inducción de la formación de granuloma y estimulación de la proliferación inespecífica de linfocitos. Los adyuvantes más usados incluyen el sulfato potásico de aluminio, adyuvante incompleto de Freund (aceite y emulsificante como el monooleato manide en suspensión acuosa) y adyuvante completo de Freund (adiciona micobacterias muertas por calor en aceite, emulsión y agua). El aluminio induce precipitación del Ag dando como resultado la lenta liberación de este desde el sitio de la inyección y de esta manera prolonga el tiempo de exposición de días a semanas. Los adyuvantes de Freund ejercen el mismo principio ya que las gotitas de grasa que se forman alrededor del Ag hacen que este sea liberado muy lentamente. Un efecto adicional para el adyuvante completo de Freund es la capacidad de activar macrófagos, gracias a la presencia del muramyl dipéptido (componente de la pared de las micobacterias). Aluminio y adyuvantes de Freund producen una inflamación crónica local que induce atracción de macrófagos y linfocitos, así como una mayor liberación de ILs y señales co-estimuladoras. Los poliribonucleotidos sintéticos y los lipopolisacáridos bacterianos inducen proliferación inespecífica de las células e incrementan la probabilidad de selección clonal de linfocitos.

Clasificación de los antígenos:



Se denominan **antígenos timodependientes** (TD) a aquellos que requieren de la colaboración del linfocito T para inducir la RI. Sus características son:

- Poseen epítopes no repetitivos.
- Estimulan a los linfocitos T y B.
- Inducen cooperación T-B.
- Generan respuesta inmunológica primaria y secundaria. Por ende generan memoria inmunológica.
- El 95% de los antígenos existentes en la naturaleza pertenecen a este grupo.

Los **antígenos timoindpendientes** (TI) son aquellos capaces de inducir la producción de anticuerpos sin activar a los linfocitos T, mediante la estimulación solamente de los linfocitos B. Son generalmente:

- Macromoléculas, en su mayoría polisacáridos compuestos de múltiples repeticiones de azúcares.
- Estimulan sólo a los linfocitos B.
- No generan memoria inmunológica.
- La mayoría inducen sólo respuesta primaria.

Los antígenos TI han sido subdivididos en:

TI-1: Aquellos capaces de inducir la proliferación y la diferenciación de un gran número de clones B, sin importar su especificidad (Producen activación policlonal). EL lipopolisacárido (LPS) de las bacterias gram negativas, a altas dosis, es el mejor ejemplo de este grupo.

TI-2: Están representados, sobre todo por moléculas presentes en las cápsulas polisacáridas de algunas bacterias. La respuesta de las células B inducidas por los TI-2 son específicas y proveen una respuesta rápida contra las bacterias extracelulares. Hay participación activa de los macrófagos.

Epitopes: Son regiones inmunologicamente activas de un inmunógeno, con capacidad de unión a receptores de membranas ag-específicos en los linfocitos o a los Abs secretados. Una misma molécula puede tener varios epítopes y las células B y T reconocen diferentes epítopes dentro de esa molécula. Así por ejemplo, los ratones inmunizados con la hormona glucagon producen anticuerpos dirigidos contra la porción amino-terminal en tanto que las células T responden a epítopes localizados en la porción carboxi-terminal. Existen algunas características que definen a los epítopes para células B y T. Para el caso de las células B se requieren epítopes que tengan un perfil que puedan acoplarse y arreglarse dentro del sitio de unión del antígeno (SuAg) presente en el anticuerpo (complementariedad de los sitios del Ab y el Ag). Las uniones en este sistema son del tipo no covalente y débiles, por lo que se necesita un estrecho acercamiento entre las dos moléculas. Los epítopes de las células B, en la proteína nativa, están compuestos en general por a.a hidrofílicos y ubicados en sitios accesibles para el anticuerpo libre o unido a la membrana celular. La secuencia de a.a que están escondidos en el interior de la molécula no pueden funcionar como epítopes de células B, a menos que la proteína sea primero denaturada. Así mismo existen epítopes formados por a.a contiguos, secuenciales o lineales y se denominan Epítopes lineales. Otros se ubican en segmentos distantes de la proteína, pero son acercados cuando dicha proteína esta plegada, estos son epítopes conformacionales o no secuenciales y

dependen de la estructura terciaria y cuaternaria que adopten las proteínas. Estos últimos epítopes pierden su capacidad de unión cuando la proteína es desnaturalizada. Algunos epítopes suelen inducir una respuesta inmunológica más intensa y por eso son llamados inmunodominantes. Por último, los epítopes de las células B tienden a ubicarse en sitios flexibles o de movilidad de la molécula.

Los epítopes para las células T, presentes en la proteína en su forma nativa, requieren ser procesados y presentados en conjunto con las moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC). Por tal razón los estudios diseñados a estudiar los epítopes de T deberán siempre incluir una célula presentadora de antígenos (APC) o una célula blanco que exprese dicho péptido junto con una MHC. Los antígenos reconocidos por las células T deben interactuar con al menos dos moléculas, por un lado el epítope y el TCR y por otro lado el agrotepe con la MHC. Los epítopes T, por lo general, se encuentran dentro de la molécula antigénica, son epítopes internos y por esa razón requieren un procesamiento molecular que haga accesible a estos epítopes ocultos. A diferencia de los epítopes B, la inmunodominancia de los epítopes T está dada por la MHC de un animal determinado.

Afinidad y Avidez del antígeno: La concentración del Ag que permite a la mitad de los Acs estar unidos y dejar la otra mitad libre es una medida de la fuerza o afinidad de la unión.

La avidéz es la fuerza global que resulta de la unión de varios Ags y depende de la afinidad de cada lugar de unión del Ag y el Ac (IgG tiene dos sitios de unión, en tanto que IgM tiene 10 sitios de unión). La avidéz aumenta por cada lugar ocupado del Ac.

Una definición simple de recordar consiste en que la afinidad es la fuerza de la unión no covalente entre el epítope y paratope. La avidéz es la fuerza de las uniones formadas entre el Ac completo (por ejemplo IgG divalente) y el Ag.

Los Superantígenos (SAGs): Algunas bacterias y virus patógenos producen moléculas que interfieren con la función inmunológica del organismo hospedador. Un ejemplo de ellos son los superantígenos.

El término SAg define a un grupo de proteínas, virales o bacterianas, que al unirse al complejo bimolecular MHC-II/TCR estimula a las células T que presentan una región $V\beta$ específica (y muy raras veces regiones $V\gamma$) induciendo activación masiva de estas células y posteriormente anergia y/o deleción clonal.

Los Ags convencionales usualmente inducen una respuesta que recluta aproximadamente al 0,01% del repertorio total de células T. Los SAGs pueden estimular del 5 al 30% del total de células T trayendo como consecuencia una exagerada producción de citocinas en el hospedador. Cuando estas moléculas son sintetizadas por la maquinaria celular del huésped infectado se denominan SAg endógenos (los retrovirus son ejemplos clásicos de SAg endógenos), en tanto que, cuando la molécula es producida por el agente infeccioso (bacterias, mycoplasma y otros) sin necesidad de la maquinaria celular del hospedador, se les define como SAGs exógenos.

Las diferencias entre un Ag convencional y un SAg pueden resumirse en la siguiente tabla:

Antígenos convencionales	SuperAntígenos
Interactúa con los elementos del TCR (α y β).	Interactúa con el elemento β del TCR, específicamente las regiones variables, casi siempre CDR 2 y CDR 3.
Estimula sólo un clon de células T.	Estimula diversos clones de células T con especificidades distintas.
Requieren procesamiento por CPA.	No requieren procesamiento por CPA.
Son presentados dentro del hoyo MHC-TCR	Son presentados en la cara lateral del hoyo MCH-TCR.
Restringidos a MHC.	No restringidos a MHC.
Generalmente inducen proliferación y diferenciación celular.	Hay proliferación celular seguida de eliminación clonal.
Se requieren en promedio 100 a 300 complejos MHC-PEPTIDO-TCR para iniciar la respuesta.	Se requieren pocos complejos MHC-SAg-TCR para iniciar la respuesta.

II.- Procesamiento y presentación antigénica.

José Angel Cova, MD.

Curso: Inmunología Básica.

Las próximas páginas constituyen una aproximación a los mecanismos usados por el sistema inmunológico para procesar y presentar partículas extrañas al organismo, llamadas antígenos. Esta es la primera parte de un complejo y sofisticado proceso, que en algunos puntos escapa a la comprensión del hombre y que ha sido denominado la respuesta inmunológica ante elementos no propios (Invasores).

El conocimiento de las bases bioquímicas y celulares del reconocimiento antigénico se ha expandido en los últimos años y uno de los elementos que más ha contribuido a este avance fue la determinación, por métodos cristalográficos, de la estructura de la molécula clase I del complejo mayor de histocompatibilidad hacia finales de 1.980. A partir de entonces un gran número de investigaciones se están llevando a cabo con la finalidad de conocer los intrincados mecanismos de interacción entre el MHC y el antígeno y la forma cómo este complejo dicta señales necesarias para una respuesta inmunológica adecuada.

El organismo está protegido de los invasores por una compleja red de células y sustancias que trabajan en conjunto. El blanco último de toda respuesta inmunológica es la eliminación del antígeno y paradójicamente este es a su vez, el que inicia tal respuesta (principio y fin del sistema juntos).

Para ensamblar una respuesta inmunológica se necesitan algunos elementos. Primero una célula con capacidad de presentar, a los efectores, la partícula extraña. Segundo, un mensajero que permita la presentación de esa partícula a las células adecuadas, con tal precisión que sea capaz de distinguirla entre los distintos subgrupos de esa población celular. Tercero, la existencia de

mecanismos que regulen esa respuesta actuando como un "encendedor y apagador" que no permita la extensión infinita de tal respuesta. Cuarto, la presencia de señales coestimuladoras que hagan más eficiente el trabajo del sistema. Este ensamblaje ha sido objeto de largos años de estudio y es un área en constante expansión dentro de la investigación moderna.

El estudio de la estructura del sistema inmunológico ha otorgado varios años de intensa investigación a las llamadas células presentadoras de antígenos (APCs). En un primer momento fueron llamadas células accesorias, ya que se creía que su función en la respuesta inmunológica era de poca importancia y fueron definidas como un grupo de células que ayudaban o cooperaban para que el linfocito T llevara a cabo su función de reconocimiento y eliminación de antígenos. Posteriormente cuando se estableció que estas células participaban activamente en los procesos inductivos de la respuesta inmunológica, se le concedió el nombre que actualmente llevan (APCs).

La interacción de las células presentadoras de antígenos con el antígeno es un paso esencial en los eventos de defensa del organismo contra agentes extraños y su fisiología, contrario a lo que inicialmente se pensaba, involucra un conjunto de fenómenos activos y de gran complejidad. Al menos dos requisitos deben cumplir las células presentadoras de antígenos y estos son en primer término, la capacidad de expresar moléculas clase II del complejo mayor de histocompatibilidad y en segundo lugar, poseer la maquinaria celular capaz de procesar un antígeno dado. Bajo la denominación de APCs se incluyen las células del sistema mononuclear-fagocitario (presentes en la sangre y tejidos), células de Langerhans (presentes en la piel), células dendríticas y dendríticas foliculares (bazo y ganglios linfáticos) y el linfocito B, el cual en algunas situaciones puede presentar antígenos. Otras células poseen propiedades similares al monocito, en cuanto a su capacidad de presentar antígenos, y son la microglia (a nivel del sistema nervioso central), las células endoteliales (en la pared capilar) y el fibroblasto (en la piel).

Las clásicas células presentadoras de antígenos (monocitos, linfocitos B y células dendríticas) derivan de una misma célula, llamada Stem Cell hematopoyética, localizada en la médula ósea. Los trabajos que llevaron a esta conclusión fueron realizados por Ernest McCulloch y James Till en 1961 en Toronto. Estos investigadores encontraron que una sola célula tenía la capacidad de reponer todas las células de la sangre. Para ello inyectaron células de la médula ósea a ratones irradiados y demostraron que los ratones rápidamente desarrollaban células sanguíneas (eritrocitos, mielocitos, megacariocitos y linfocitos), siendo entonces los primeros en aislar la stem cell en el animal y posteriormente colaboraron para aislarla en el humano.

El macrófago y otras células del sistema mononuclear fagocitario están ampliamente distribuidas en los tejidos. En las reacciones inmunológicas su función comprende la captura y presentación de proteínas antigénicas al linfocito CD4, así como la producción y secreción de interleukina 1 (IL-1) y factor de necrosis tumoral (TNF) entre otros. También participa como célula efectora contra microbios y tumores. Los precursores del macrófago se desarrollan a partir de la stem cell pluripotencial en la médula ósea, la cual da origen al progenitor mielóide. Este progenitor es sometido a divisiones y diferenciaciones bajo la influencia de los llamados factores estimuladores de colonias (CSFs). El precursor celular más primitivo responde a un CSF multipotencial (IL-3) dando origen a las llamadas Unidades Formadoras de Colonias granulocito y monocito (GM-CFU). Las sucesivas diferenciaciones están a cargo del factor estimulador de colonias de macrófagos (M-CSF), específico para esta célula, el factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) y el factor estimulador de granulocitos (G-CSF). El producto final de esta división son los neutrófilos y los monocitos.

Los monocitos son células poco diferenciadas que entran al torrente sanguíneo una vez completada su maduración, de aproximadamente 12 a 20 milimicras de diámetro que poseen un núcleo arriñonado (en forma de habichuela) y un citoplasma con un contenido finamente granular donde pueden encontrarse enzimas lisosomales y vacuolas fagocíticas. A través de la circulación estas células alcanzan los diferentes tejidos y sufren una nueva diferenciación que les proporciona características particulares, así se desarrollan en la piel y constituyen los macrófagos, histiocitos y células gigantes, en el sistema nervioso central forman la microglía (la cual se localiza perivascular

y parenquimal), en los sinusoides vasculares del hígado forman las llamadas células de Kupffer, en el aparato respiratorio constituyen los macrófagos alveolares.

Otro elemento que participa en el procesamiento y presentación de antígenos es el Linfocito B. Esta célula está capacitada para procesar y presentar antígenos ya que presenta en su superficie inmunoglobulinas que actúan como receptores (BCR), los cuales unen selectivamente algunos antígenos. Además posee la capacidad de internalizar y degradar proteínas así como de producir señales coestimuladoras. Los linfocitos B se diferencian a partir de la stem cell hematopoyética en la médula ósea y en el hígado fetal. El progenitor linfoide actúa bajo la acción de la célula del estroma que libera un factor soluble llamado IL-7, dando origen a células inmaduras, las cuales son llamadas, sucesivamente, célula pro-B, célula pre-B y al final se obtiene el linfocito B. Esta diferenciación involucra gran actividad genética (reordenamiento genético) cuya finalidad es la producción y expresión, inicialmente citoplasmática y luego en la membrana celular, de cadenas ligeras y pesadas de inmunoglobulinas que actuarán como receptor. Los linfocitos B están localizados en los órganos linfoides (bazo, ganglios linfáticos y médula ósea) y son capaces de unir antígenos por la vía de una inmunoglobulina de superficie (slg). Durante la estimulación secundaria las células B pueden captar el antígeno, ensamblarlo dentro de un complejo que incluye moléculas clase II del sistema mayor de histocompatibilidad (MHC) y presentarlo a una célula efectora (Linfocito T), cumpliendo así su función como APC.

En los últimos años se le ha dado gran importancia al estudio del tercer grupo de células presentadoras de antígenos, estas son las células dendríticas. Ellas están capacitadas para endocitar y transportar antígenos a los ganglios linfáticos regionales. Su origen no es bien conocido y según Liu las células dendríticas inmaduras (imDCs) se forman a partir de la stem cell hematopoyética en la médula ósea (M.O) por acción de factores claves para el crecimiento de ellas, que son el FLT-3 y el GM-CSF. La stem cell CD34+ se diferencia en dos progenitores, el progenitor linfoide común (CLP) y el progenitor mielóide común (CMP). CMPs-CD34+ parecen diferenciarse en dos poblaciones que son las células CD34+ CLA+ y CD34+ CLA- y estas a su vez se diferenciarán en imDCs CD11c+ CD1a+ y CD11c+ CD1a -, respectivamente. Las imDC CD11c+ CD1a+ migran a la piel y se transforman en células de Langerhan y las CD11c+ CD1a- migran a la dermis y otros tejidos transformándose en imDCs intersticiales. Además de estos dos subtipos de imDCs, la stem cell da dos tipos de precursores (pre-DCs), el monocítico (Pre-DC1), y el plasmocitoide (Pre-DC2), este último proviene del CPL. Tras completar su maduración cada linaje celular tiene diferentes funciones.

Es importante señalar que las DCs inmaduras tienen una alta capacidad de fagocitar antígenos, por sus receptores para manosa, y de activar linfocitos B naive en presencia de CD40L e IL-2.

Las células dendríticas expresan niveles elevados de HLA-DR, DP y DQ, lo cual está asociado con su capacidad para presentar antígenos. Estas células cuando entran a la circulación linfática aferente contienen grandes cantidades de antígeno en su interior. A su vez ellas son capaces de procesar esas mismas cantidades de antígeno. Se ha observado un intenso movimiento de estas células, en los ganglios linfáticos, después de la exposición periférica a una proteína extraña, lo cual ha hecho pensar que su participación como APC es de gran cuantía. Una vez que el antígeno es llevado a los ganglios linfáticos la célula dendrítica madura, pierde algunos de sus marcadores de membrana (como CD14 y CD1a), incrementa la expresión de moléculas clase II del MHC y es capaz de activar a los linfocitos T para la emisión de una respuesta inmunológica.

Las células dendríticas además de expresar moléculas clase II del MHC pueden exhibir una amplia gama de moléculas tales como el CD11a (LFA-1), CD58 (LFA-3), CD54 (ICAM-1) y CD80 (B7/BB1). Muchas de estas moléculas, principalmente CD80, son esenciales y contribuyen a la estimulación de la célula T por la célula dendrítica.

Durante la estimulación primaria (primer contacto con el antígeno), las células dendríticas juegan un papel de extrema importancia, no así durante la estimulación secundaria (re-exposición al antígeno), donde éstas llegan a los ganglios linfáticos con menor cantidad de antígeno y producen

menos estimulación en los linfocitos T. La presencia de células de memoria y de anticuerpos en la periferia parece ser la razón de este hecho.

El segundo elemento importante en la presentación del antígeno son las MHC ya que ellas son las responsables de llevar el péptido y conectarse con el TCR de un linfocito específico. Cada clase de molécula del MHC está especializada para capturar péptidos presentes en compartimientos intracelulares particulares y de vías diferentes.

El estudio de la presentación del antígeno por una célula ha mostrado diferencias significativas en las formas de presentación a través de las moléculas clase I y clase II del MHC. Por lo tanto es necesaria su descripción por separado. En líneas generales se ha establecido que el linfocito T citolítico (CTL) reconoce formas parcialmente degradadas de un antígeno cuando éste va asociado a moléculas clase I del MHC en la superficie de una célula, la cual una vez reconocida, es lisada por este linfocito. De manera análoga el linfocito CD4 reconoce antígenos asociados a moléculas clase II del MHC en la superficie de las células que expresan tal molécula (APCs). Esta división tiene una razón biológica en el sentido de que el CTL reconoce y elimina aquellas células cuyas proteínas antigénicas son producidas por vía la endógena (intracitoplasmáticas), tal es el caso de las infecciones virales, haciendo poco probable que el CTL responda contra células que obtienen sus antígenos de la vía exocítica (extracelular). Esta última vía es reservada para la célula T ayudadora (Th), la cual determina la división y transformación del linfocito B en célula plasmática productora de anticuerpos dirigidos contra el antígeno extracelular.

La presentación de péptidos de la vía endocítica requiere que las proteínas recién sintetizadas en el citoplasma sean parcialmente degradadas, fenómeno que ocurre por la acción del inmunoproteasoma (unidad multicatalítica). Previo a la acción del inmunoproteasoma las proteínas son marcadas para la degradación por la unión covalente de varias copias de un pequeño polipéptido llamado ubiquitina. La "ubiquitinación" induce desplegamiento proteico y luego la proteína líneal es captada por el inmunoproteasoma.

El inmunoproteasoma es una estructura tubular de aproximadamente 1500 kD compuesta de varias subunidades catalíticas denominadas LMP (polipéptido de masa molecular baja). El complejo LMP, especialmente los LMP-2, LMP-7 y MECL1, contienen múltiples sitios catalíticos y pueden producir simultáneamente varios péptidos de un mismo sustrato. Los péptidos obtenidos de esta acción son liberados en el sistema transportador TAP-1 y TAP-2, cuya función es llevar estos péptidos a través de la membrana del retículo endoplásmico (RE) hasta llegar al lumen, en un paso ATP-dependiente. Los péptidos son liberados por las proteínas TAP 1 y TAP 2 a la molécula clase I recién sintetizada en el lumen del RE. Existen además mecanismos de generación de péptidos que son independientes del inmunoproteasoma, donde la tripeptidil peptidasa II (TPP II) juega un papel importante.

La síntesis de las moléculas del MHC-I ocurren por separado y diversas chaperonas presentes en el RE, como la calnexina, BiP y la calreticulina, ayudan al plegamiento apropiado de la cadena α recién formada. Una vez formado el dímero MHC-I (cadena α - β_2 microglobulina) este permanece unido a TAP por la tapasina y cuando el péptido entra al RE y se une al sitio de unión para el antígeno (SUAg), en MHC-I, este complejo es liberado de TAP-tapasina y es transportado a través del aparato de Golgi y luego al retículo Trans-Golgi, donde alcanza la superficie celular.

La unión del péptido para formar el complejo MHC-I-péptido produce cambios conformacionales en la molécula clase I, haciéndola pasar de una forma inestable a la forma estable (incrementa la termoestabilidad del complejo). Cuando las moléculas clase I, recién formadas, quedan vacías la inestabilidad del complejo hace que ellas no migren al aparato de Golgi y probablemente sean degradadas pasando a otra vía, posiblemente de recirculación.

Los péptidos inmunogénicos obtenidos de antígenos exógenos son producidos por el catabolismo intracelular del antígeno completo y unido a la molécula clase II dentro de un compartimiento intracelular.

El antígeno es internalizado por diferentes vías. La primera es a través del llamado sistema inmunológico innato y la segunda es el sistema adaptativo, en la cual los anticuerpos, actuando como receptores, juegan un papel importante. El sistema inmunológico innato tiene diferentes vías para capturar el antígeno, la primera es a través del macrófago y la célula dendrítica, las cuales tienen receptores para algunos polisacáridos bacterianos (Receptores que reconocen patrones asociados al patógeno-PRRs) y ellos usan estos receptores para unir e ingerir antígenos bacterianos. La segunda vía es mediada por la acción de sustancias opsónicas, tales como el sistema de complemento y la producción de IL-6, que induce en el hígado la síntesis de proteínas con capacidad para unirse a residuos glucídicos presentes en la bacteria. Otra forma es mediada por los receptores Fc (FcR) los cuales se unen al fragmento Fc de las Igs mientras estas, a su vez, unen partículas extrañas por su fragmento Fab.

El sistema inmunológico adaptativo opera mediante un proceso de selección clonal. El linfocito B produce anticuerpos que se expresan en su superficie y que actúan como receptores (BCR). Cada clona de células B elabora un receptor diferente que puede reconocer una molécula extraña.

El antígeno endocitado entra en una estructura denominada endosoma donde es degradado mediante la ruptura de sus puentes disulfuros por acción de la asparaginil peptidasa (AEP) y GILT (una enzima thiol reductasa lisosomal inducible por IFN- γ). Esta degradación inicial expone sitios para la acción de otras enzimas (endopeptidasas y exopeptidasas) hasta convertirlo en pequeños fragmentos peptídicos. Los endosomas portan en su interior principalmente cisteína proteasas (catepsina S, L, B, H, F, Z, V, entre otras) y aspartil proteasas (catepsina D y E) requeridas para la degradación del antígeno.

Mientras ocurre la degradación del Ag, las moléculas α y β de la clase II son sintetizadas y ensambladas en el RE junto con una cadena invariable (Ii), la cual evita la unión con péptidos endógenos al ocupar el SUAg en la MHC-II. Ii también es responsable de dirigir el dímero MHC-II hacia la ruta endocítica. Se cree que algunas chaperonas, como calnexina, participan en el plegamiento de las cadenas α y β que formarán la MHC-II. Las moléculas clase II unida a Ii pasan a vesículas exocíticas saliendo del RE para fusionarse con las vesículas endocíticas que portan los péptidos antigénicos producto de la degradación proteica por acción de las catepsinas. Estas vesículas o MIIC (compartimiento de moléculas clase II) contienen la molécula HLA-DM. La cadena Ii es degradada parcialmente transformándose en un péptido de 24 a.a denominado péptido residual de la cadena Ii asociado a MHC-II (CLIP) localizado en el SUAg. Posteriormente CLIP es removido por acción de HLA-DM. Esta molécula facilita la entrada del péptido antigénico a presentar en la MHC-II. La unión del péptido estabiliza la MHC-II y los complejos MHC-péptido son transportados hacia la superficie de la APC para ser presentados a un linfocito T CD4 a través de su TCR antígeno-específico.

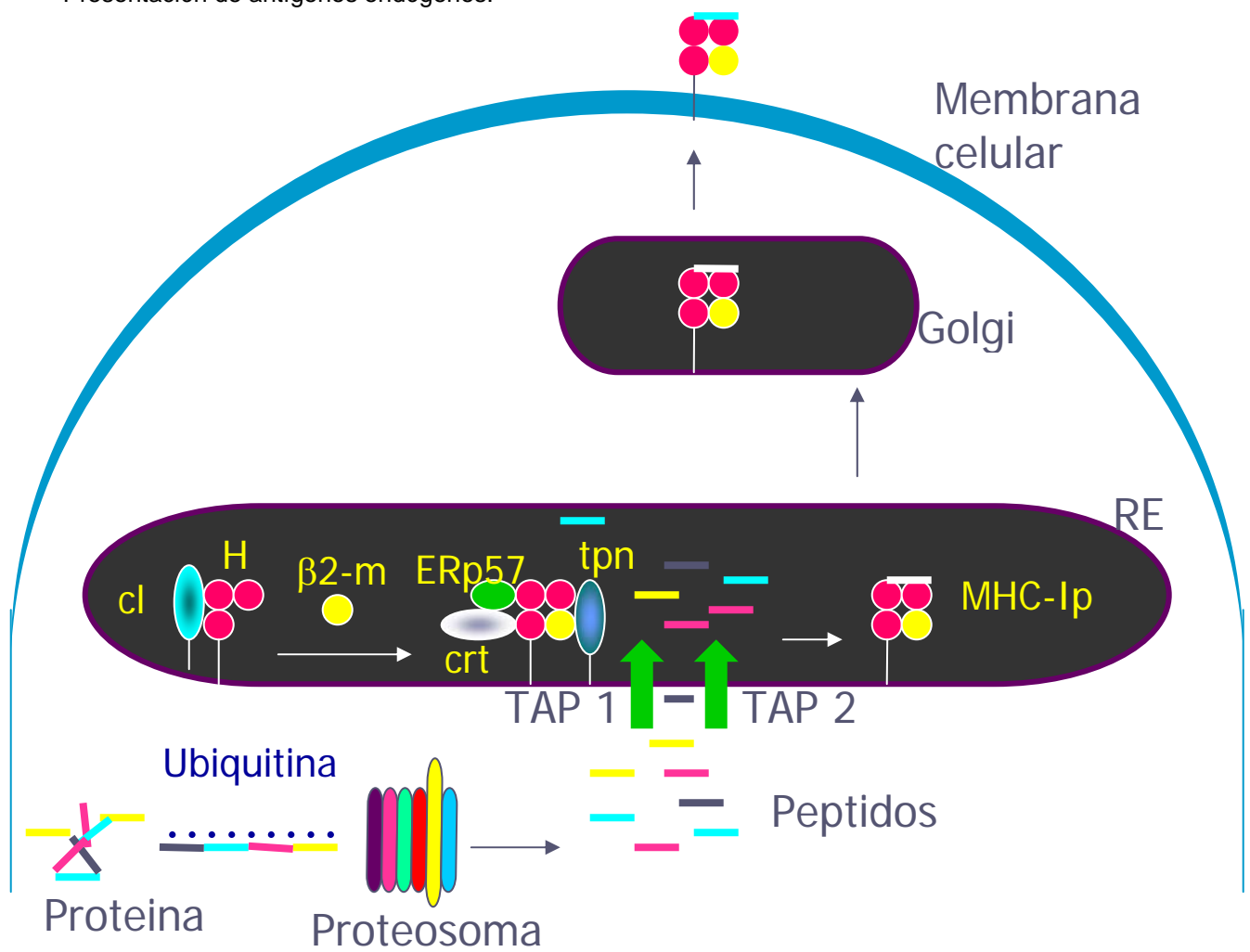
En 1.989 Jenkins et al. proponían que la unión del complejo péptido-MHC no era suficiente para generar una respuesta inmunológica por un linfocito T, sugiriendo la idea de que se necesitaban señales coestimuladoras. Actualmente algunas moléculas han sido identificadas como coestimuladoras de la activación del linfocito. Estas incluyen las moléculas CD28, CD80, CD53 (LFA-1), CD54 (ICAM-1), ICAM-2, LFA-3, la molécula de adhesión celular y vascular (VCAM) entre otros.

La molécula CD80 es una proteína de membrana con un peso molecular de aproximadamente 50 KDa, la cual se expresa en la membrana de las células dendríticas, en el linfocito B y el monocito activados (todas células APC's). La proteína tiene su sitio de unión en el linfocito T, la molécula CD28, la cual es una glicoproteína de superficie compuesta de dos subunidades idénticas de 44 kD unidas por puentes disulfuros. Todas las células CD4 del humano, expresan CD28 y se estima que la mitad de las células CD8 también la expresan.

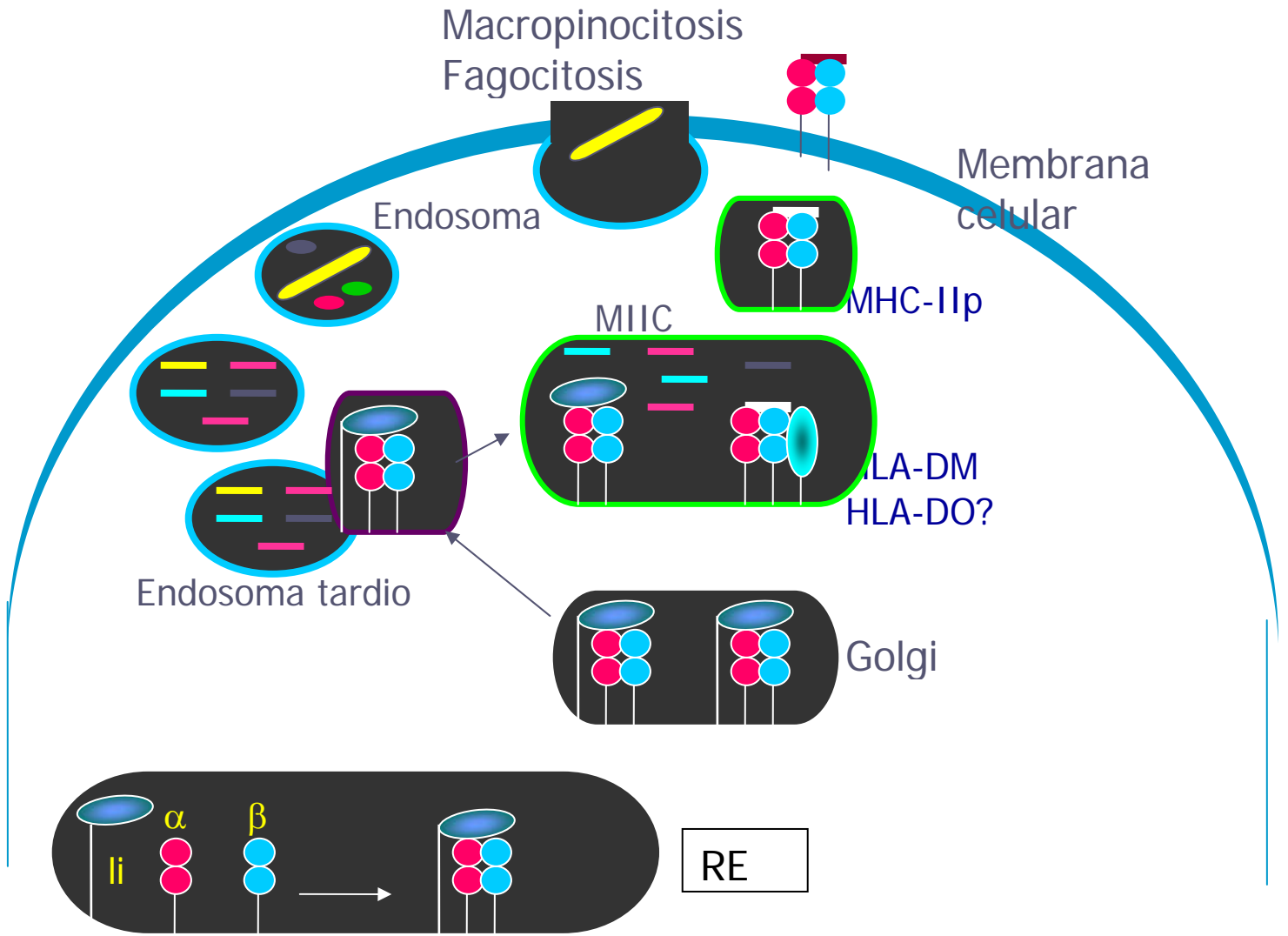
La unión del complejo péptido-MHC al TCR no es suficiente para el crecimiento y diferenciación del linfocito T. Cuando la interacción antes mencionada se realiza conjuntamente con moléculas

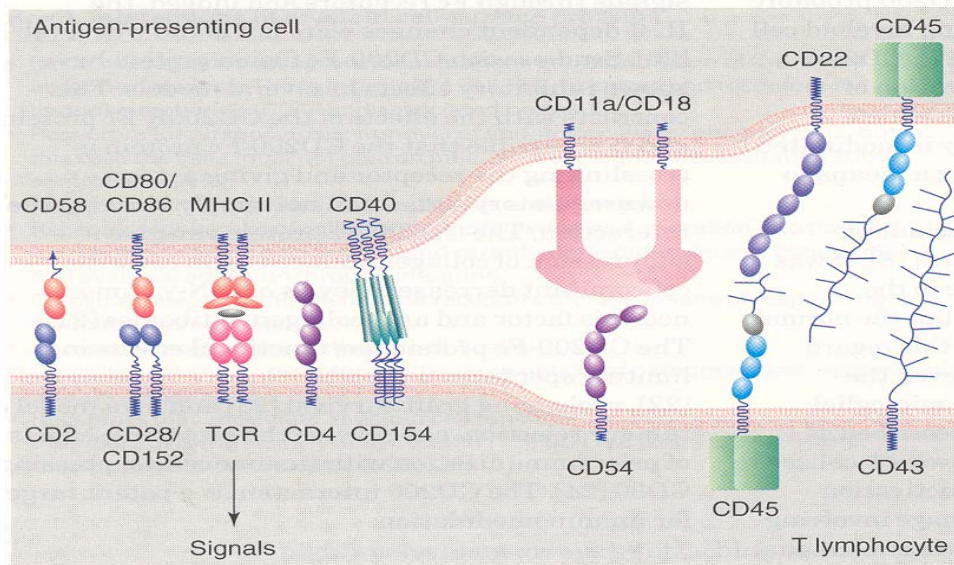
coestimuladoras (pr ej. unión CD80-CD28) la respuesta inmunológica es iniciada eficientemente, dando lugar al siguiente paso, LA ACTIVACION DEL LINFOCITO T.

Presentación de antígenos endógenos.



Presentación de antígenos exógenos.





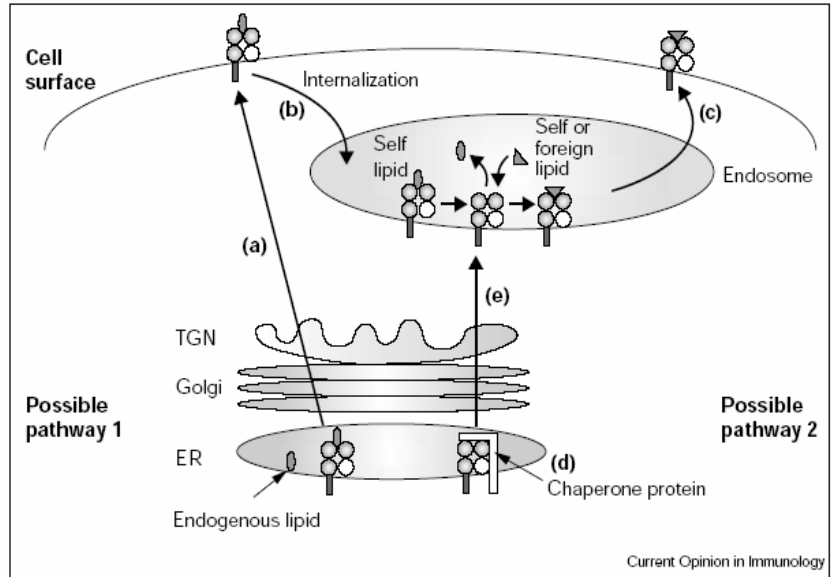
Sinapsis inmunológica que muestra el complejo MHC-péptido-TCR y las señales coestimuladoras.

Finalmente existe un grupo de moléculas responsables de presentar antígenos lipídicos, denominadas CD1. CD1 constituye un grupo de proteínas asociadas a β_2 microglobulina no relacionadas con las moléculas del MHC y que se han dividido en dos grupos. El grupo 1 formado por CD1a, CD1b y CD1c y CD1e. El segundo grupo aloja a CD1d. Estas moléculas están expresadas en los timocitos, células dendríticas y linfocitos B.

Hasta ahora, las micobacterias son la principal fuente conocida de antígenos que son presentados por CD1. Las proteínas del grupo 1 presentan lípidos y glicolípidos tales como el ácido micólico, lipoarabinomano (LAM) y hexosa-1-fosfoprenoides. Las CD1 del grupo 2 presentan α -galactosilceramida. Las moléculas CD1 han sido halladas en los diferentes compartimentos de la vía endosomal/lisosomal lo que hace suponer que la vía de procesamiento y presentación es similar a las de las MHC-II, aunque grandes diferencias existen entre ellas.

La siguiente figura esquematiza las dos teorías de presentación de antígenos restringida por CD1:

Competition between self and foreign lipid antigens. Two hypothetical pathways to sample endosomal antigens are shown. In pathway 1, CD1 binds to self-lipid in the endoplasmic reticulum (ER) and then (a) travels to the cell surface. (b) CD1 internalizes into endosomal compartments, where the self-lipid is removed by additional factors and another lipid is loaded. (c) CD1 then recycles back to the surface to present potentially foreign glycolipids. (d) In pathway 2, a chaperone protein binds and blocks the antigen-binding groove of CD1. (e) The chaperone protein targets CD1 directly to the endosome after exiting the trans-Golgi network (TGN). In the endosome, the chaperone protein is removed and CD1 can load endosomal glycolipids.



Tomado de: Jayawardena J. Curr Opin Immunol. 2001;13:109-113.

Bibliografía recomendada.

Virella G. Introduction to medical immunology. Third Edition. 1.993

Abbas A., Lichtman A., Pober J. Inmunología Celular y Molecular. Cuarta Edición. 2.002. p 58-65.

Mora S, Corado JA. Inmunología Actual. 1era. Edición. 2003. p.61-70.

Gómez-García P et al. Superantígenos. Alergia, Asma e Inmunología Pediátrica.2004;13:11-14.

Woodland D et al. Why do superantigens care about peptides?. Immunol Today. 1997;18:18-22.

Woodland D. Immunity and retroviral superantigens in humans. TRENDS in Immunol. 2002;23:57-58.

McKay D. Bacterial superantigens. TRENDS in Immunol. 2001;22:497-501.

Ardavin C, et al. B-cell response after MMTV infection: extrafollicular plasmablasts represent the main infected population and can transmit viral infection. J Immunol. 1999;162:2538-2545.

Li H, et al. The structural basis of T-cell activation by Superantigens. Ann Rev Immunol. 1999;17:435-466.

Abbas A., Lichtman A., Pober J. Celular and molecular immunology. Cuarta Edición. 2.002. p 82-104.

- Neefjes J et al . Cell biology of antigen presentation. *Curr Opin Immunol.* 1.993; 5: 27-34.
- Monaco J. A molecular model of MHC class I - restricted antigen processing. *Immunol Today.* 1.992; 13(5): 173-79.
- Yewdell J et al. Cut and trim: generating MHC class I peptide ligands. *Curr Opin Immunol.* 2001;13:13-18.
- Cresswell P. The nature of the MHC class I peptide loading complex. *Immunol Rev.* 2000;172:21-28.
- Myers NB et al. K^b, k^d, and L^d molecules share common tapasin dependencies as determined using a novel epitope tag. *J Immunol.* 2000;165:5656-5663.
- Barnden MJ et al. Tapasin-mediated retention and optimization of peptide ligands during the assembly of class I molecules. *J Immunol.* 2000;165:322-330.
- Grande A et al. Tapasin: an ER chaperone that controls MHC class I assembly with peptide. *TRENDS in Immunol.* 2001;22:194-199.
- Watts C. Capture and processing of exogenous antigens for presentation on MHC molecules. 1997;15:821-850.
- Riese R et al. Cathepsins and compartmentalization in antigen presentation. *Curr Opin Immunol.* 2000;12:107-113.
- Busch R et al. Accessory molecules for MHC class II peptide loading. *Curr Opin Immunol.* 2000;12:99-106.
- Watts C. Antigen processing in the endocytic compartment. *Curr Opin Immunol.* 2001;13:26-31.
- Chapman H. Endosomal proteases in antigen presentation. *Curr Opin Immunol.* 2006;18:78-84.
- Gao G et al. Molecular coordination of $\alpha\beta$ T-cell receptor and coreceptor CD8 and CD4 in their recognition of peptide-MHC ligands. *TRENDS in Immunol.* 2002;23:408-412.
- Matsuda J et al. Presentation of self and microbial lipids by CD1 molecules. *Curr Opin Immunol.* 2001;1:19-25.
- Jayawardena J et al. CD1 and lipid antigen: intracellular pathways for antigen presentation. *Curr Opin Immunol.* 2001;13:109-113.
- Porcelli S et al. The CD1 family of lipid antigen-presenting molecules. *Immunol Today.* 1998;19:362-368.
- Liu Y. Dendritic cells subsets and lineages, and their functions in innate and adaptive immunity. *Cell.* 2001;106:259-262.
- Jenkins M., Johnson J. Molecules involved in T-cell costimulation. *Curr Opin Immunol.* 1.993; 5: 361-67.