

Libros de **Cátedra**

# Fundamentos de inmunología en los animales domésticos

María Cecilia Venturini - Magdalena Rambeaud  
(coordinadoras)

**n**  
naturales

FACULTAD DE  
CIENCIAS VETERINARIAS

  
EDITORIAL DE LA UNLP



UNIVERSIDAD  
NACIONAL  
DE LA PLATA

# FUNDAMENTOS DE INMUNOLOGÍA EN LOS ANIMALES DOMÉSTICOS

María Cecilia Venturini  
Magdalena Rambeaud  
(coordinadoras)

Facultad de Ciencias Veterinarias



UNIVERSIDAD  
NACIONAL  
DE LA PLATA

  
EDITORIAL DE LA UNLP

*Al Profesor Médico Veterinario Enrique F.F. Pennimpe,  
un apasionado de la enseñanza de la inmunología veterinaria.*

# Agradecimientos

A la Universidad Nacional de La Plata y a la Facultad de Ciencias Veterinarias por estimular la actividad creativa de los docentes a través de los Libros de Cátedra.

A los estudiantes de la Facultad de Ciencias Veterinarias, que a través de sus inquietudes inspiraron este recurso educativo.

# Índice

<b>Introducción</b>	7
<i>María Cecilia Venturini</i>	
<b>Capítulo 1</b>	
Inmunidad innata: factores condicionantes y reconocimiento	8
<i>María Laura Gos y María Cecilia Venturini</i>	
<b>Capítulo 2</b>	
Inflamación, proteínas de fase aguda, endocitosis	13
<i>Magdalena Rambeaud y Andrea Dellarupe</i>	
<b>Capítulo 3</b>	
Sistema del complemento, linfocitos de la inmunidad innata, interferones	21
<i>Magdalena Rambeaud</i>	
<b>Capítulo 4</b>	
Órganos y células de la inmunidad	28
<i>Mariana Bernstein y Betiana Elizabeth Alvarez</i>	
<b>Capítulo 5</b>	
Antígenos y procesamiento antigénico	39
<i>Lais Luján Pardini y Alejandra Edith Larsen</i>	
<b>Capítulo 6</b>	
Inmunidad mediada por células	48
<i>Magdalena Rambeaud y María Cecilia Venturini</i>	
<b>Capítulo 7</b>	
Inmunidad mediada por anticuerpos	57
<i>Lucía María Campero</i>	
<b>Capítulo 8</b>	
Anticuerpos o inmunoglobulinas	65
<i>Mariana Bernstein y Marina Runco</i>	

**Capítulo 9**

Síndromes de reactividad alterada: hipersensibilidad \_\_\_\_\_ 75

*Lais Luján Pardini*

**Capítulo 10**

Autoinmunidad e inmunodeficiencias \_\_\_\_\_ 82

*Magdalena Rambeaud y Andrea Dellarupe*

**Capítulo 11**

Transferencia pasiva de la inmunidad \_\_\_\_\_ 90

*Andrea Dellarupe*

**Capítulo 12**

Inmunodiagnóstico: pruebas primarias \_\_\_\_\_ 98

*Lucía María Campero y María Cecilia Venturini*

**Capítulo 13**

Inmunodiagnóstico II: pruebas secundarias y terciarias \_\_\_\_\_ 104

*María Laura Gos y Graciela Miceli*

**Bibliografía** \_\_\_\_\_ 113

**Las autoras** \_\_\_\_\_ 114

# INTRODUCCIÓN

La inmunobiología animal básica se ocupa del estudio de los mecanismos de reacción del organismo, para que los animales sean capaces de generar una respuesta inmune y permanecer protegidos frente a los diferentes desafíos infecciosos; estudia, asimismo, los procesos de autoinmunidad y de hipersensibilidad en los animales domésticos y los fundamentos de los métodos de laboratorio para evaluar la efectividad de esta respuesta. Existen pocos textos en idioma español, y los disponibles, generalmente son traducciones de libros clásicos de Inmunología Veterinaria, no siempre actualizados. Por eso, generalmente se hace necesario el uso de bibliografía del área de inmunología humana. Proponemos este recurso educativo, que facilite al estudiante del ciclo básico, una mejor interpretación de la respuesta inmune en los animales, aportando una herramienta práctica para apoyar las actividades del aula. Asimismo, servirá como apoyo en la articulación con inmunobiología animal aplicada y otras asignaturas del área de salud animal y salud pública, ubicadas en el ciclo superior.

# CAPÍTULO 1

## Inmunidad innata: factores condicionantes y reconocimiento

*María Laura Gos y María Cecilia Venturini*

### Conceptos generales de la inmunidad

La inmunobiología es la ciencia que estudia los mecanismos biológicos de defensa del hospedador frente a las infecciones y que establecen un estado de inmunidad. La inmunidad es el conjunto de mecanismos de defensa de los animales frente a agentes extraños. Se empieza a desarrollar a partir de la vida intrauterina y va madurando y consolidándose durante la primera etapa de la vida. Deriva del latín *Immunitas* que significa “libre de carga”. La inmunidad se clasifica en Inmunidad innata e Inmunidad adaptativa.

Cuando un patógeno ingresa por distintas vías en el organismo de un animal y vence las barreras del hospedador se produce la infección. Esta puede generarse por el ingreso de virus, bacterias, parásitos unicelulares o multicelulares y hongos. Las rutas de infección pueden ser las mucosas del aparato respiratorio a través de las gotas inhaladas, las del aparato digestivo a través del alimento o agua contaminados, las del aparato reproductor por contacto o bien a través del epitelio de la piel por abrasiones, quemaduras, heridas o por picaduras de insectos.

Durante la infección se produce una relación entre el patógeno y el hospedador. El poder patógeno es la capacidad que tiene el microorganismo de producir daño. Los mecanismos de la inmunidad innata son los que tratan de detenerlo para evitar la evolución de la infección. Cuando éstos no son suficientes, se pone de manifiesto el poder inmunogénico del patógeno, que es la capacidad de generar una respuesta inmune adaptativa. Esta respuesta es adaptativa porque se adapta al patógeno traduciendo las señales generadas por los mecanismos de la inmunidad innata, que es la que orienta y dirige a la inmunidad adaptativa.

### Características de la respuesta inmune innata y adaptativa

La inmunidad innata se caracteriza por actuar de forma inmediata y por ser de corta duración, no es específica porque reconoce estructuras presentes en un grupo de microorganismos denominados *patrones moleculares asociados a patógenos* (PAMPs, por sus siglas en inglés), a



través de receptores poco diversos, de especificidad limitada y expresados en gran variedad de células, no genera memoria y no se modifica ante una reinfección. Mientras que la inmunidad adaptativa, aparece más tardíamente, es de larga duración, genera memoria inmunológica ante un segundo contacto y es específica porque reconoce epitopos o determinantes antigénicos a través de los receptores de los linfocitos B (BCR) y de los linfocitos T (TCR) respectivamente.

**Tabla 1.1**

*Principales diferencias entre la inmunidad innata y la inmunidad adaptativa*

<b>Características</b>	<b>Inmunidad Innata</b>	<b>Inmunidad Adaptativa</b>
<b>Aparición y duración</b>	Inmediata/corta duración	Mediata/larga duración
<b>Mediadores tisulares</b>	Barreras anatómicas (factores físicos, químicos y biológicos)	Sistema inmune de la piel y común de las mucosas
<b>Mediadores celulares</b>	Fagocitos, células dendríticas, células NK, linfocitos T $\gamma\delta$ , Linfocitos B1	Linfocitos T y B
<b>Mediadores humorales</b>	Citocinas, quimiocinas. Proteínas de fase aguda Sistema del Complemento. Sistema del Interferón	Anticuerpos. Citocinas producidas por linfocitos T
<b>Eficiencia</b>	No se modifica por reinfección	Se modifica por reinfección
<b>Memoria</b>	No genera	Genera
<b>Especificidad</b>	No es específica	Es específica
<b>Reconocen</b>	Patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs)	Detalles moleculares del patógeno (Epitopos)
<b>Tipo de receptor</b>	Endocíticos, de señal o de activación (RRPs)	De activación: BCR y TCR
<b>Distribución</b>	No clonal. En todas las células de un mismo tipo. Ej: en todas las células dendríticas	Clonal. Exclusivo de cada clon de linfocitos B o T.

## Reconocimiento de los microorganismos

En la inmunidad innata se reconocen los **PAMPs**, que comparten ciertas características: son estructuras presentes en grupos de microorganismos, no se encuentran presentes en los hospedadores y son esenciales para la su supervivencia. Interaccionan con los *receptores de reconocimiento de patrón*, (**RRPs** por sus siglas en inglés).

Los PAMPs pueden ser los lipopolisacáridos (LPS) de las bacterias Gram negativas, los peptidoglucanos y ácido lipoteicoico de las bacterias Gram positivas, la flagelina y pilina de los flagelos y pilis de las bacterias, los glúcidos ricos en manosa de las glucoproteínas de los hongos y los ácidos nucleicos virales.

La inmunidad innata también reconoce en forma inespecífica moléculas derivadas del daño producido por tóxicos, irritantes, rayos ultravioletas, que se denominan *patrones moleculares asociados al daño* (DAMPs, por sus siglas en inglés).

Los RRP se encuentran en distintas células, como macrófagos, células dendríticas y células epiteliales de piel y mucosas. Estos receptores se clasifican

1) según su *ubicación* en las células como:

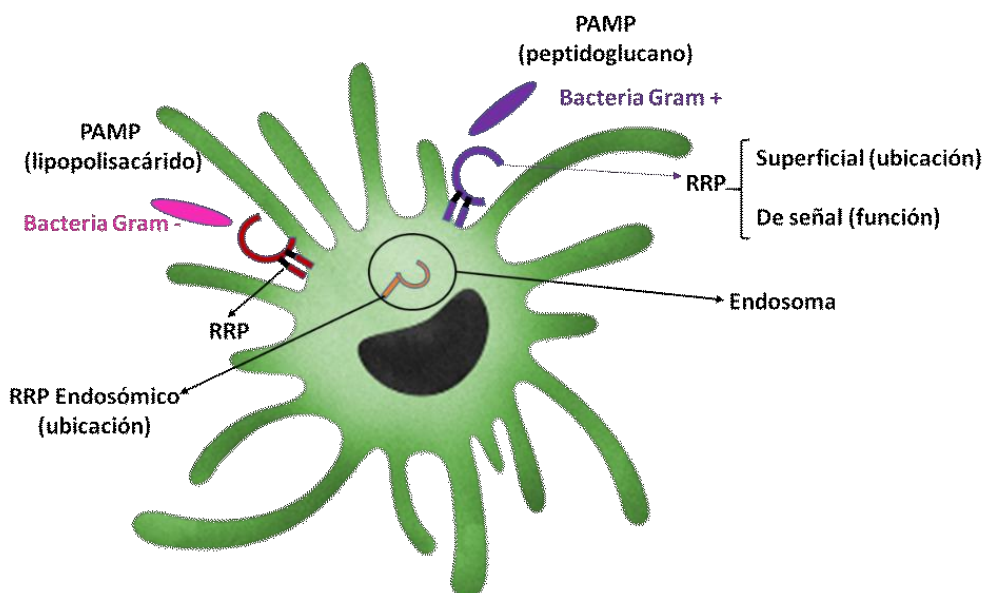
- Superficiales
- Citosólicos
- Endosómicos

2) Según su *función*

- Endocíticos solubles y fijos
- *De señal*

### Figura 1.1

Clasificación de los RRP por su ubicación y función



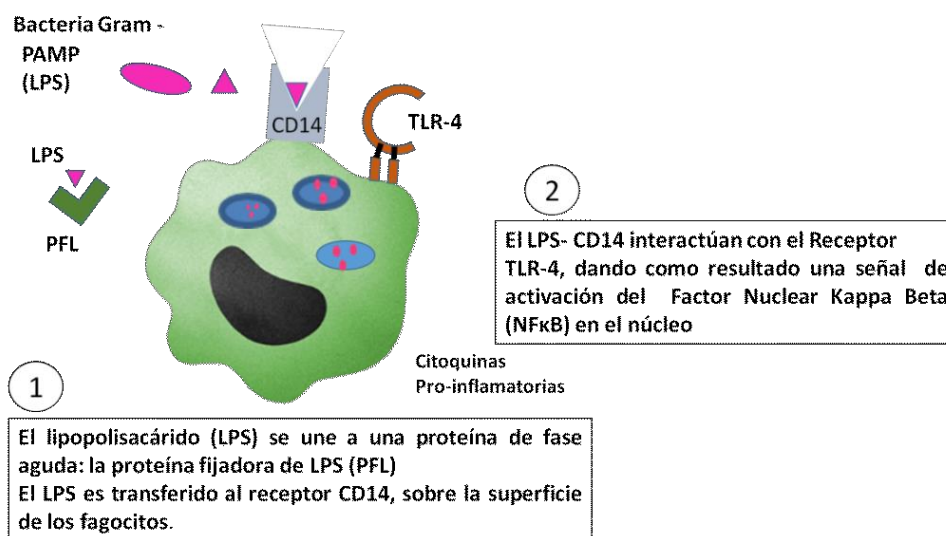
*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images CC BY

Los RRP *endocíticos* pueden ser solubles, cuando se encuentran en la circulación sanguínea, como por ejemplo la proteína fijadora de manosa y la proteína fijadora de lipopolisacáridos, o pueden ser fijos y expresarse sobre la superficie de células, como el receptor del macrófago para la manosa. Los RRP *de señal* son los receptores semejantes a Toll (TLRs, por sus siglas en inglés) y los receptores de tipo NOD. Los TLR se denominan con números, y cada uno de ellos reconoce un determinado PAMP, por ejemplo, el TLR 4 que se encuentra en la superficie de las células reconoce el LPS de las bacterias Gram negativas, el TLR 5 reconoce la flagelina de los flagelos de algunas bacterias móviles, los TLR 3 y 7 que se expresan en la membrana de los

endosomas reconocen los ácidos nucleicos virales. Los TLR y los NOD al contactar con un PAMP, generan una señal de activación hacia el interior de la célula, que activa el factor nuclear kappa beta (NFκB, por sus siglas en inglés) lo que permite la expresión de genes reprimidos que inducen la producción de citocinas proinflamatorias (Figura 1.2).

**Figura 1.2**

*Reconocimiento del PAMP (LPS) de una bacteria Gram negativa, por el TLR*



*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

## Mediadores de la inmunidad innata

La inmunidad innata actúa a través de distintos mediadores: los mediadores tisulares que involucran las barreras anatómicas de la piel y mucosas, los mediadores celulares representados por distintas células como los fagocitos (macrófagos y neutrófilos), las células dendríticas, las células naturalmente asesinas o *natural killer* (NK) y los mediadores humorales, como las proteínas de fase aguda, el sistema del complemento, el sistema del interferón, citocinas y quimiocinas.

Las *barreras anatómicas* de la piel y las mucosas que recubren los aparatos digestivo, respiratorio y reproductor son la primera línea de defensa de la inmunidad innata frente a los microorganismos. Estas barreras actúan a través de factores mecánicos, químicos y biológicos.

Entre los factores mecánicos se encuentra la integridad de los epitelios, que impide el ingreso de los microorganismos; la presencia de queratina producida por los queratinocitos de la piel que les otorga resistencia e impermeabilidad; la descamación celular continua, que permite la eliminación de las capas más superficiales de la piel, contribuyendo a inhibir la colonización por

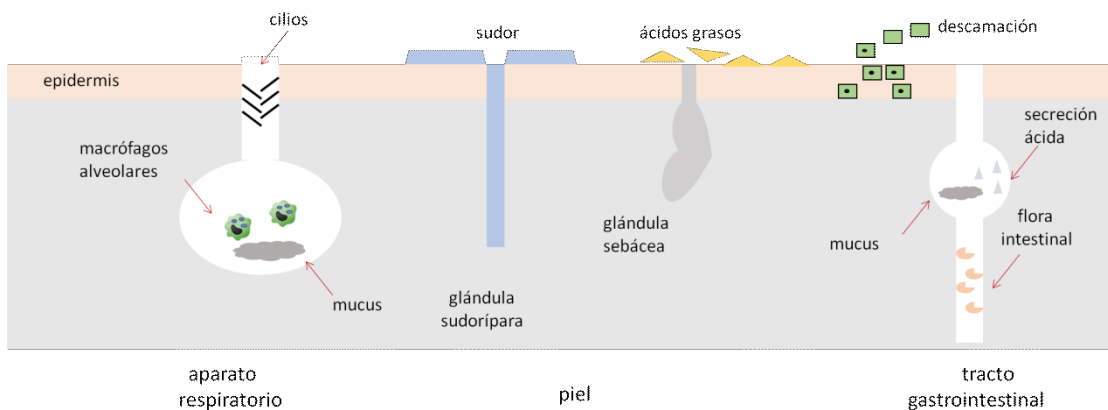
microorganismos patógenos; las uniones intercelulares como las presentes entre los enterocitos; la peristalsis o movimiento de las asas intestinales; el movimiento de las ciliadas de las células del aparato respiratorio y el efecto de barrido de las secreciones como la saliva y las lágrimas.

Como factores químicos se encuentran el sudor y ácidos grasos de la piel que contribuyen a establecer un pH determinado que inhibe el crecimiento bacteriano, la secreción ácida producida por las células parietales del estómago, las secreciones mucosas del aparato respiratorio y digestivo que favorecen la retención y eliminación de los microorganismos, las fosfolipasas de las lágrimas y la saliva, el surfactante pulmonar de los alveolos, la lisozima de diversas secreciones del cuerpo que hidroliza los peptidoglicanos de las bacterias Gram positivas y la lactoferrina que atrapa el hierro necesario para el crecimiento de muchas bacterias.

Entre los factores biológicos mencionamos la microbiota normal de la piel y el tracto gastrointestinal, formada por el conjunto de microorganismos no patógenos que colonizan de forma permanente estas superficies y que limitan el desarrollo de los microorganismos patógenos al competir con ellos por nutrientes y espacio (Figura 1.3).

**Figura 1.3**

*Factores mecánicos, químicos y biológicos de la barrera cutáneo-mucosa*



## CAPÍTULO 2

# Inflamación, Proteínas de Fase aguda, Endocitosis

*Magdalena Rambeaud y Andrea Dellarupe*

Cuando un animal sufre una lesión en alguna de las barreras anatómicas, se ponen en marcha todos los mecanismos de la inmunidad Innata para tratar de frenar ese daño y contener esa posible infección.

Como ya hemos mencionado, la inmunidad innata es de acción rápida, por lo que ya en las primeras horas de haberse producido la injuria o lesión se ponen en marcha sus distintos mecanismos efectores para intentar frenar ese proceso infeccioso. En este período, los microorganismos serán reconocidos por las células de la inmunidad innata a través de los RRP, que contactarán con PAMPs presentes en los microorganismos. A través de la interacción de los RRP con los PAMP se pondrán en marcha diferentes mecanismos de la inmunidad innata, entre ellos la inflamación, con el reclutamiento y activación de células efectoras de la que intentarán frenar esa infección.

## Inflamación

La inflamación es un proceso complejo y dinámico que ocurre en el tejido conjuntivo vascularizado; involucra a factores humorales, celulares y tisulares y tiene como finalidad el acúmulo de fluidos y células en el área injuriada, que intentarán por distintos mecanismos frenar dicho daño. Puede clasificarse en aguda o crónica; desarrollaremos en este capítulo la inflamación aguda.

La inflamación tiene tres roles esenciales: 1.- dirigir moléculas y células efectoras hacia el sitio de la infección; 2.- proveer de una barrera física en forma de coagulación microvascular para prevenir la diseminación difusión del agente infeccioso; 3.- reparar el tejido injuriado favoreciendo el crecimiento de los fibroblastos y síntesis de colágeno, entre otros.

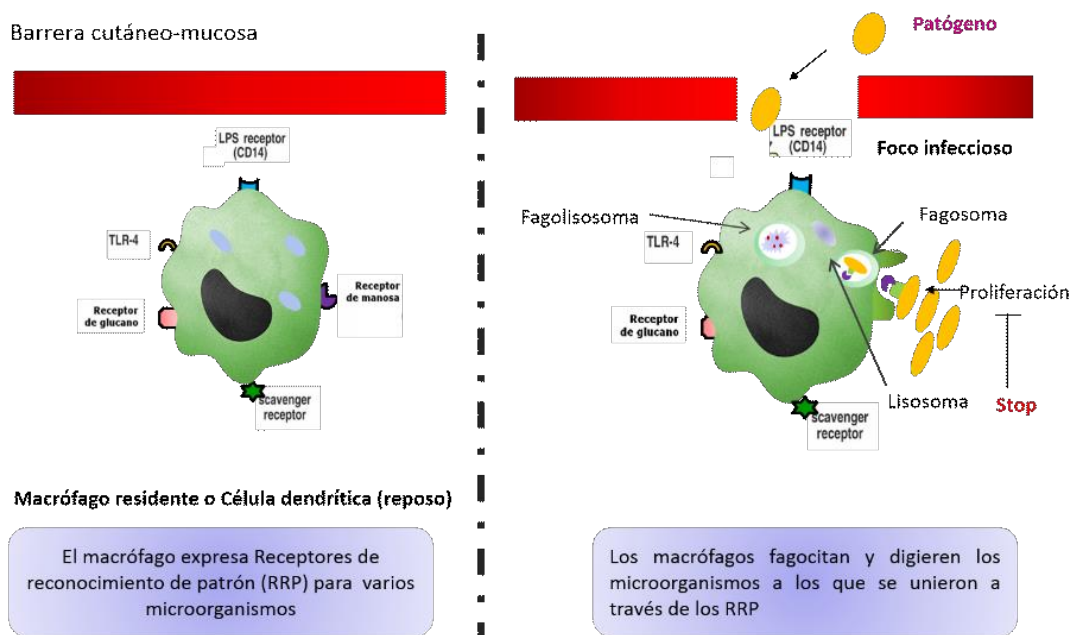
La dinámica de la inflamación aguda se inicia por la presencia de un daño tisular que puede tener diferentes orígenes (lesiones, infecciones, etc.), el cual inducirá a que se secreten moléculas que tendrán acción directa sobre los vasos sanguíneos. Algunas de ellas tienen efecto vasodilatador, aumentando el calibre de los vasos, y otras aumentaran la permeabilidad de los mismos, es decir que permitirán el pasaje de células y otras moléculas hacia el espacio

extravascular, lo cual dará como resultado los signos cardinales de la inflamación: calor, rubor, tumor, dolor y pérdida de la función.

En el tejido conectivo de la barrera cutáneo mucosa, se encuentran *macrófagos residentes* y *células dendríticas inmaduras*, también llamadas células de Langerhans. Cuando ocurre una solución de continuidad en dicha barrera, e ingresa algún microorganismo, éste contactará a través de sus PAMP con los RRP presentes en estas células, las cuales por un lado intentarán fagocitar a los mismos a través de los RRP fagocíticos, y por otro lado, como consecuencia del contacto de los PAMP con los RRP de señal, se activará el FNκB y se comenzarán a secretar citocinas proinflamatorias y quimiocinas (Figura 2.1). Muchas veces, estas células residentes, por sí solas pueden detener la proliferación de los microorganismos, sin que haya manifestaciones visibles de enfermedad. Sin embargo, otras veces las citocinas proinflamatorias serán las encargadas de poner en marcha varios mecanismos de la inmunidad innata, entre ellos la inflamación.

**Figura 2.1**

*Interacción de los RRP de señal con los PAMP*



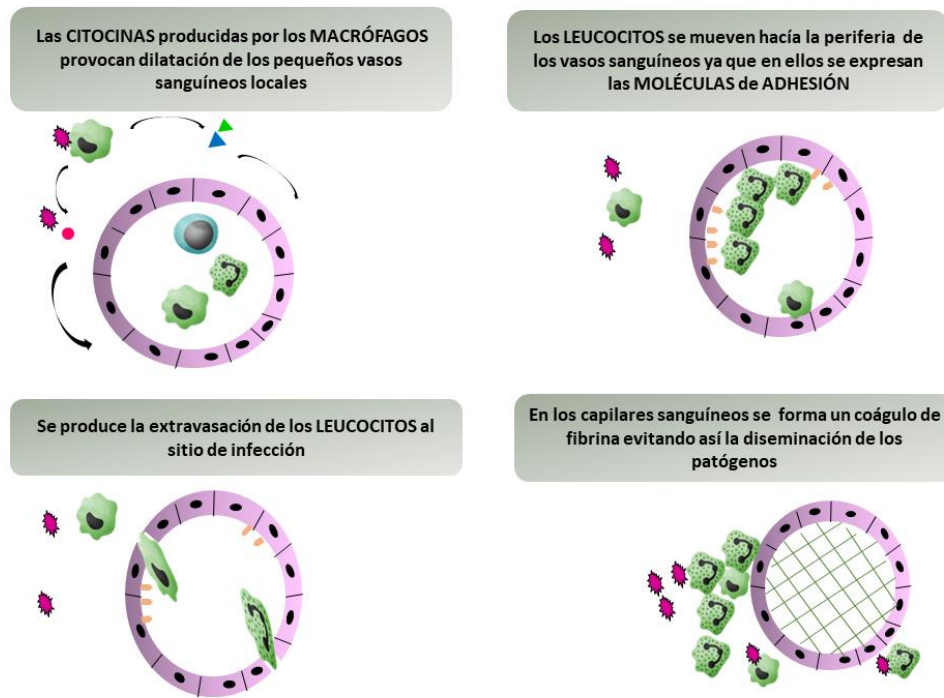
*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

Las citocinas secretadas por los macrófagos y células dendríticas, junto con sustancias vasoactivas como la histamina secretada por los mastocitos producen dos grandes cambios a nivel de los vasos sanguíneos locales. Por un lado, la *dilatación* de los mismos, lo que generará un cambio en el flujo sanguíneo, pasando de ser axial a turbulento y por lo tanto más lento, y por otro lado, la *activación del endotelio*, que se refiere a la expresión de *moléculas de adhesión* en el mismo. Estos dos cambios les permitirán a los leucocitos desplazarse hacia la periferia del vaso sanguíneo, y adherirse a las células endoteliales a través de las moléculas de adhesión, para que finalmente, con el aumento de permeabilidad, se produzca la su extravasación hacia el

sitio de infección. Los neutrófilos serán los primeros en migrar, seguidos por los monocitos y linfocitos. En los capilares sanguíneos, además, se formará un coágulo de fibrina que evitará la diseminación de los patógenos (Figura 2.2).

### Figura 2.2

*Cambios vasculares causados por las citocinas pro-inflamatorias*



*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

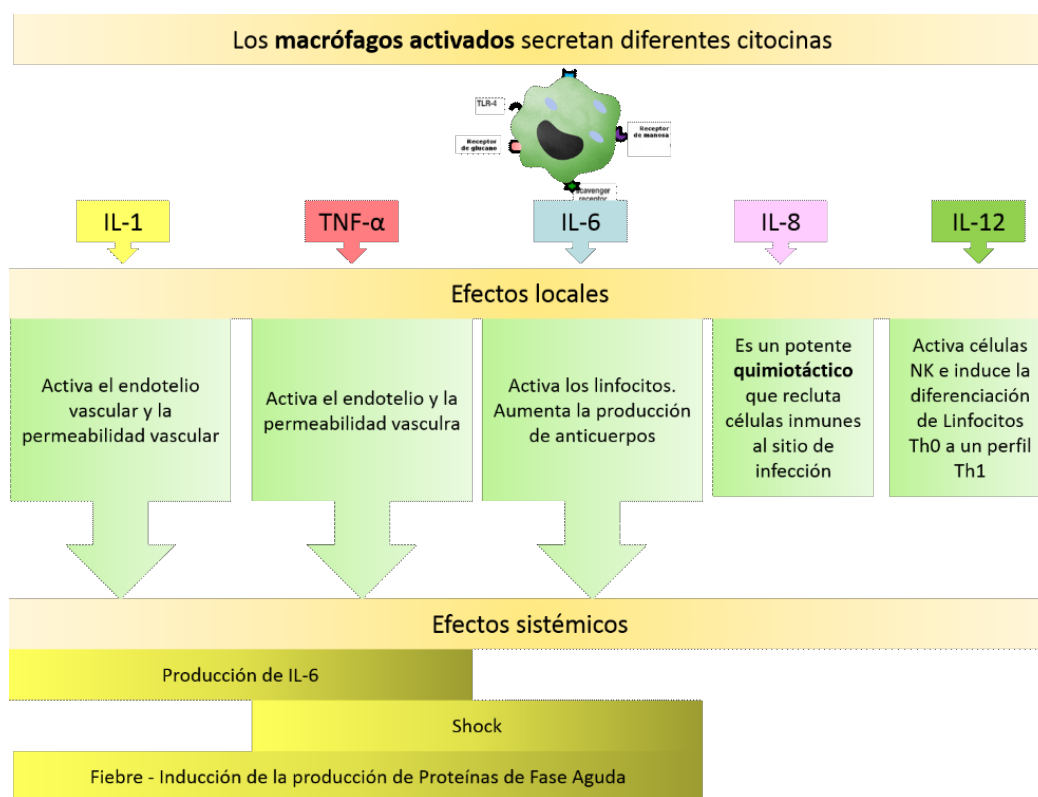
## Citocinas pro-inflamatorias

Los macrófagos residentes y las células dendríticas inmaduras son los encargados de secretar las diferentes citocinas que iniciarán y participarán en el proceso inflamatorio. Algunas de las principales citocinas producidas son la *Interleuquina 1* (IL-1), el *Factor de Necrosis Tumoral  $\alpha$*  (FNT- $\alpha$ ), la *IL-6*, la *IL-8* y la *IL-12*. Estas citocinas tienen efectos locales y algunas de ellas también sistémicos, es decir alejados del sitio de injuria. La IL-1 a nivel local tiene la función de activar el endotelio vascular aumentando así el acceso de células efectora al sitio de injuria; y a nivel sistémico produce fiebre e induce la síntesis de IL-6. Por su parte el FNT- $\alpha$  también activa el endotelio vascular y aumenta la permeabilidad vascular a nivel local lo que permitirá una mayor entrada de IgG, moléculas del sistema del complemento y células hacia los tejidos injuriados. Todo esto ayudará a que haya un mayor drenaje linfático hacia los nódulos linfáticos regionales, lo cual es muy importante para poner en marcha la respuesta inmune adaptativa. A

nivel sistémico, será responsable de cuadros febriles y puede llegar a generar cuadros de shock. La IL-6 es responsable de activar a los linfocitos, de aumentar la producción de anticuerpos, también induce fiebre y es una de las principales citocinas responsables de inducir a nivel hepático la producción de *proteínas de fase aguda* (PFA). La IL-8 tiene un potente efecto quimiotáctico por lo que será una de las responsables de reclutar neutrófilos y macrófagos principalmente al sitio de infección, y por último la IL-12 activa a las células NK e induce la diferenciación de Linfocitos T helper a un perfil Th1 en los órganos linfáticos secundarios. A su vez las citocinas IL-1, IL-6 y FNT- $\alpha$  tienen efectos directos sobre ciertos órganos: en el hígado inducen la secreción de las PFA; en la médula ósea inducen la movilización de neutrófilos y por consiguiente favorecen la fagocitosis; a nivel del hipotálamo inducen un aumento de temperatura corporal lo que provoca una disminución de la replicación de patógenos, y un aumento del procesamiento de antígenos y de la respuesta inmune adaptativa. Sobre la grasa y el músculo promueven la movilización de proteínas y la obtención de energía para el incremento de la temperatura. El FNT- $\alpha$ , además, tiene una importante función sobre las células dendríticas ya que estimula la maduración y migración de las mismas hacia los ganglios linfáticos, induciendo así el inicio de la respuesta inmune adaptativa (Figura 2.3).

**Figura 2.3**

*Citocinas pro-inflamatorias: principales efectos locales y sistémicos*



*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images



Como consecuencia de la secreción de *citocinas pro-inflamatorias*, se producirán también cambios metabólicos que se ven reflejados en una pérdida de masa muscular y aumento de la lipólisis, cambios neuroendócrinos como fiebre y anorexia, aumento del cortisol, y en un análisis de sangre se evidenciará anemia, leucocitosis, y trombocitosis. Otro parámetro que podría medirse en sangre, y que nos indicaría la presencia de un proceso infeccioso y/o inflamatorio es la producción de PFA.

## Proteínas de Fase Aguda

Las PFA son indicadores tempranos de infección / inflamación, debido a que a las 8 horas de haber comenzado este proceso ya son detectables en sangre, y en general su mayor producción es en las primeras 72 horas. Algunas de ellas pueden aumentar su concentración en sangre 3 a 5 veces, pero otras como la proteína C reactiva y el amiloide A sérico lo pueden hacer hasta 1000 veces comparado con un animal sano.

Hay dos grandes grupos de PFA: por un lado, aquellas que cuentan con acción *microbicida* como la proteína C reactiva, el amiloide A sérico, el fibrinógeno, la transferrina y las fracciones del complemento C3/C5 que facilitarán la eliminación de patógeno, o *microbiostática*, que frenan la proliferación de los patógenos. Por otro lado, están aquellas que protegen a los tejidos del daño causado por la respuesta inflamatoria como la haptoglobina,  $\alpha$ 1-antitripsina,  $\alpha$ 2-macroglobulina y la ceruloplasmina. Dentro del primer grupo, pueden distinguirse aquellas que tienen función de *opsoninas* (recubren al patógeno para hacerlo más apetecible para las células fagocíticas) como la proteína C reactiva, la proteína fijadora de manosa y la proteína fijadora de lipopolisacáridos, que promoverán la endocitosis, a su vez son RRP solubles, y a su vez también pueden activar el sistema del complemento favoreciendo la eliminación del patógeno. A nivel pulmonar se secretan localmente dos proteínas llamadas surfactantes pulmonares A Y D, que también son opsoninas. Las PFA que intentan eliminar al patógeno frenando su replicación son las proteínas fijadoras de hierro, como la haptoglobina y la ferritina que secuestran el hierro, privándoselo así a ciertas bacterias que lo necesitan para su crecimiento. Por su parte el fibrinógeno se verá aumentado ante un proceso infeccioso, donde por medio de la cascada de la coagulación formará microtrombos que evitara la diseminación de los patógenos. Las fracciones C3 y C5 del complemento, se ven también aumentadas y favorecerán la activación de este sistema, y una vez activadas también funcionan como opsoninas. Dentro del segundo grupo, están las PFA que intentan reparar el daño que produce cualquier proceso inflamatorio, como la ceruloplasmina que tiene efecto antioxidante neutralizando a los radicales libres, y las  $\alpha$ 1-antitripsina y  $\alpha$ 2-macroglobulina, ambas inhibidoras de proteasas.

## Endocitosis

Otro mecanismo efector de la inmunidad innata es la endocitosis, que consiste en la incorporación de sustancias particuladas y macromoléculas hacia el interior de la célula, por medio de la formación de evaginaciones de la membrana celular que se internalizan conteniendo el material ingerido. Existen dos tipos de endocitosis: la *fagocitosis*, que es el proceso por el cual se incorporan elementos particulados en vesículas de más de 100 nm de tamaño y que se lleva a cabo por células especializadas llamadas fagocitos; y la *pinocitosis* que es la incorporación de líquidos y solutos en vesículas pequeñas de entre 50 y 100 nm y es una función que pueden llevar a cabo todas las células del organismo.

### Células fagocíticas

Dentro de las células fagocíticas se encuentran células del sistema mieloide como los polimorfonucleares *neutrófilos* y *eosinófilos*, y las células del sistema fagocítico mononuclear, donde podemos nombrar los *macrófagos* y otras células específicas de los tejidos como los monocitos en la sangre, células mesangiales del glomérulo renal, células de la microglía del sistema nervioso central y células de Kupffer en el hígado.

Los *neutrófilos* tienen algunas características particulares: salen maduros de la médula ósea, no se multiplican, tienen organoides poco desarrollados, viven alrededor de 10 horas en sangre y luego migran a los tejidos, donde tienen también una vida media corta, y presentan un núcleo multilobulado con gran plasticidad. Además, presentan en su interior gránulos repletos de sustancias bactericidas. Los *gránulos primarios* poseen en su interior mieloperoxidasa (MPO), péptidos antimicrobianos como defensinas, proteína incrementadora de permeabilidad bacteriana, catelicidinas, catepsina G y lisozima; mientras que los *gránulos secundarios* contienen en su interior lisozima, lactoferrina, NADPH oxidasa (NOX), colagenasa y elastasa.

Los *macrófagos*, por su parte, salen de la médula ósea como promonocitos, luego maduran a monocitos mientras se encuentran en la circulación, y pasan a llamarse macrófago cuando están en los tejidos. Los macrófagos son células redondeadas, de 20  $\mu\text{m}$  de tamaño, que presentan un núcleo arrifonado y una gran cantidad de organoides. Tienen la capacidad de dividirse una vez que se encuentran en los tejidos y presentan una vida media de más de 20 días, con una intensa, repetida y persistente actividad fagocítica.

### Pasos de la endocitosis

La *endocitosis* consta de 4 pasos: 1- *quimiotaxis*: es la dirección de las células fagocíticas al sitio de la injuria mediante la acción de quimiocinas, como por ejemplo la IL-8, que genera en las células fagocíticas, especialmente neutrófilos, la migración a favor de un gradiente de

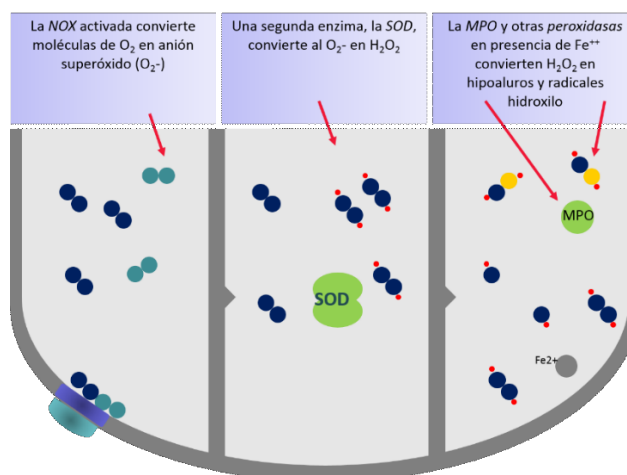
concentración; 2- *adherencia*: este paso está mediado por los RRP de superficie como los receptores de glucano, de manosa, y de LPS, entre otros, que reconocen a los PAMP en los microorganismos; y por opsoninas como la fracción C3b del sistema del complemento, la proteína C reactiva, la proteína fijadora de manosa y la inmunoglobulina G, las cuales recubren a los patógenos y se unen a receptores presentes en los fagocitos, lo cual favorece su internalización; 3- *ingestión*: permite la formación de los *fagosomas* que posteriormente se unirán con los lisosomas formando así los fagolisosomas, y 4- *digestión*: donde los fagocitos destruyen a los microorganismos a los que se unieron, por mecanismos que se describen a continuación.

## Mecanismos de destrucción

Existen dos tipos de mecanismos de eliminación de patógenos en los fagocitos: los *dependientes e independientes del oxígeno ( $O_2$ )*. El *mecanismo dependiente de  $O_2$* , también llamado *estallido respiratorio*, recibe su nombre por utilizar grandes cantidades de moléculas de  $O_2$  para la generación de moléculas tóxicas denominadas *radicales libres*, que intentarán destruir a los microorganismos. El estallido respiratorio se inicia por activación de la enzima NADPH oxidasa (NOX), que está compuesta por diferentes subunidades, y se activa sólo cuando se ha formado el fagolisosoma, o ante la presencia de citocinas como el FNT- $\alpha$ . La NOX actúa sobre las moléculas de  $O_2$ , transformándolo en *un anión superóxido ( $O_2^-$ )*, que es un metabolito muy tóxico pero muy inestable. Es por eso que hay una segunda enzima, la *superóxido dismutasa (SOD)*, que convierte al  $O_2^-$  en peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) que es mucho más estable, en radicales oxidrilos, aniones hipoclorito y cloraminas. El  $H_2O_2$ , a su vez es atacado por enzimas como MPO y otras peroxidasas que, en presencia de hierro, convierten al  $H_2O_2$  y los iones halógenos intracelulares ( $Cl^-$ ,  $Br^-$ ,  $I^-$  o  $SCN^-$ ) en hipohaluros y radicales hidroxilo. Estos metabolitos son altamente tóxicos para los patógenos, aunque también para el propio organismo del individuo en el que se lleve a cabo este proceso (Figura 2.4).

**Figura 2.4**

*Activación del estallido respiratorio en células fagocíticas*



El otro mecanismo que forma parte del estallido respiratorio, involucra la activación de la enzima *óxido nítrico sintetasa inducible*, presente principalmente en el macrófago, que para ser activada necesita de la presencia de citocinas como el FNT- $\alpha$  y el IFN- $\gamma$  y. Una vez que se activa esta enzima, generará grandes cantidades de *óxido nítrico*, que en sí mismo no es tóxico, pero puede reaccionar con el  $O_2^-$  para producir oxidantes muy reactivos y tóxicos, como es el peroxinitrito y el radical dióxido de nitrógeno.

Los *mecanismos independientes de  $O_2$*  están formados por todas las sustancias presentes dentro de los gránulos de los fagocitos: la catepsina G, defensinas, proteína incrementadora de la permeabilidad bacteriana y proteínas catiónicas que causan daño en las membranas microbianas; la lisozima, que es una enzima que escinde mucopéptidos de la pared bacteriana, la lactoferrina que secuestra hierro, y otras enzimas proteolíticas e hidrolíticas que favorecen en la digestión de microorganismos destruidos.

# CAPÍTULO 3

## Sistema del Complemento, Linfocitos de la Inmunidad Innata, Interferones

*Magdalena Rambeaud*

### Sistema del complemento

Anteriormente hemos mencionado los procesos que se ponen en marcha en las primeras etapas luego de que los microorganismos logran vencer las barreras naturales, con el eventual desarrollo de un foco infeccioso. Los cambios vasculares y tisulares que ocurren con la respuesta inflamatoria, permiten la extravasación de células efectoras y proteínas plasmáticas hacia el sitio de injuria. Dentro de estas proteínas, se encuentra el sistema del complemento, otro de los mecanismos efectores de la inmunidad innata.

El sistema del complemento es un conjunto de más de 30 proteínas plasmáticas y de membrana importantes en la defensa contra los microorganismos. Muchas de las proteínas del sistema del complemento son enzimas proteolíticas que se activan en forma de cascada, es decir, secuencialmente. Durante su activación se forman complejos multimoleculares y péptidos con diferentes funciones biológicas, relacionadas con diferentes procesos de la inmunidad, como la inflamación, la opsonización de microorganismos, la lisis directa de células y microorganismos, la depuración de inmunocomplejos y la potenciación de la respuesta inmune adaptativa humoral.

### Vías de activación del sistema del complemento

El sistema del complemento puede activarse por tres vías diferentes: la vía clásica, la vía de las lectinas, y la vía alterna. Todas las vías confluyen en la formación de una enzima central de la cascada del complemento, denominada convertasa C3, la posterior formación de la convertasa C5 y luego, como producto final de la cascada del complemento, la generación del complejo de ataque de membrana (CAM), un poro multiproteico que se forma en la superficie del patógeno o célula infectada, generando su lisis osmótica y consecuente eliminación.

La *vía clásica* es activada por la presencia de inmunocomplejos, es decir, inmunoglobulinas (de isotipo M o G) unidas a su antígeno específico. Los inmunocomplejos son reconocidos por una proteína del sistema del complemento denominada C1q, la cual da inicio a la cascada

enzimática. Es importante destacar que la única forma en que las inmunoglobulinas pueden activar el sistema del complemento es unidas a su antígeno específico, ya que cuando se encuentran en forma libre (no unidas a su antígeno) no exponen en su estructura los sitios de unión a la proteína C1q que inicia la cascada de activación.

La *vía de las lectinas* es activada por ciertos hidratos de carbono presentes en la superficie de los patógenos, como la manosa o el lipopolisacárido. Algunos de estos hidratos de carbono pueden estar presentes en la superficie de las células propias del animal, pero no activan al sistema del complemento por estar recubiertos por otras moléculas como el ácido siálico, que los enmascaran y evitan que este mecanismo se active en células propias. Las proteínas que inician la cascada de activación por esta vía, son la lectina fijadora de manosa, la lectina fijadora de lipopolisacárido, y las ficolinas. La estructura de estas proteínas es muy similar a la proteína C1q, pero reconocen componentes microbianos directamente sobre la superficie de los patógenos.

La *vía alterna* se activa de forma espontánea sobre la superficie de los microorganismos, mediante el depósito de la fracción C3 del complemento, que es escindida por proteasas de baja actividad. A partir de esta activación se genera una convertasa C3 alterna, y la cascada continúa su secuencia de activación. Esta vía sólo se activa sobre la superficie de los patógenos y no sobre las células propias del animal gracias a la expresión de proteínas reguladoras presentes en la superficie de células del animal, que inhiben la formación de la convertasa C3 alterna.

## Funciones del sistema del complemento

Las tres vías convergen en la formación de la convertasa C3, uno de los pasos centrales de amplificación y regulación del sistema del complemento. Esta enzima actúa sobre la proteína C3, escindiéndola en dos fragmentos: un fragmento de mayor tamaño, el C3b, y uno de menor tamaño, el C3a. A partir de la acción de esta convertasa, se forman las principales moléculas con acciones biológicas responsables de los efectos del sistema del complemento (Figura 1).

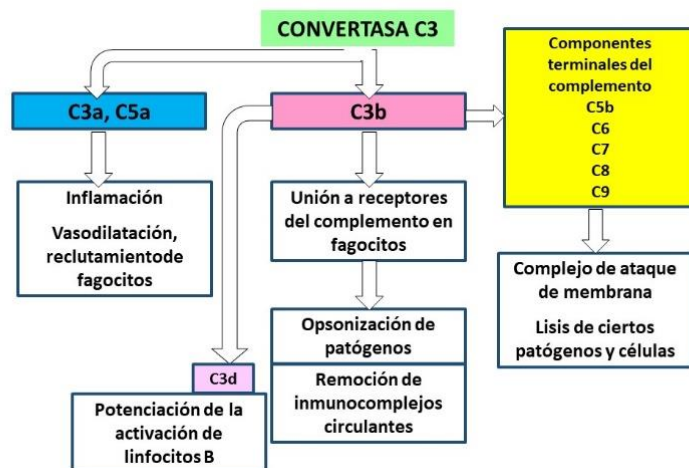
Las fracciones “a” (C3a, C5a) son aquellas que favorecen la inflamación, causando vasodilatación, quimiotaxis y activación de los fagocitos. Pasan a la circulación, pudiendo tener efectos sistémicos. Son denominadas anafilotoxinas, ya que activan a los mastocitos, causando su degranulación lo cual potencia los efectos proinflamatorios de estas moléculas. Las fracciones “b”, cuyo componente predominante en cantidad es el C3b, funcionan como opsoninas, favoreciendo la fagocitosis. A partir de la formación de la convertasa C3, se forman además los componentes terminales de la cascada del complemento, desde C5b hasta C9, con la formación del CAM que resulta en la lisis osmótica del patógeno o célula infectada.

Otra importante función del sistema del complemento es potenciar la respuesta inmune adaptativa humoral, específicamente, la activación de los linfocitos B. Esto ocurre gracias a un subproducto de la fracción C3b, el C3d, que recubre también a los patógenos e interactúa con

un correceptor de linfocito B, el complejo CD19/CD21 el cual envía una señal intracelular que aumenta significativamente la señalización del receptor del linfocito B y su posterior activación.

**Figura 3.1**

*Fracciones terminales de la cascada del complemento y sus funciones*



## Linfocitos de la inmunidad innata

Dentro de los mecanismos efectores de la inmunidad innata, encontramos una población celular particular, denominada linfocitos de la inmunidad innata, que incluye las células NK, las células NKT, los linfocitos T $\gamma\delta$  y los linfocitos B1.

### Células NK

Las células NK forman parte de la primera línea de defensa contra los microorganismos de vida intracelular y las células tumorales, y también son un importante nexo entre la inmunidad innata y la inmunidad adaptativa por su capacidad de producir determinadas citocinas. Se encuentran fundamentalmente en la circulación sanguínea, y en menor medida en los órganos linfáticos secundarios. En su interior, presentan gránulos con enzimas, que le confieren su capacidad citotóxica. Estas células presentan en su superficie ciertos receptores característicos: el CD56, marcador específico de esta población, los receptores de activación y de inhibición y el receptor CD16, un receptor que reconoce la porción Fc de los anticuerpos.

Las células NK pueden activarse por tres mecanismos:

- 1- Por acción de *receptores de inhibición y de activación*: cuando una célula está infectada o tiene características tumorales, empieza a expresar en su superficie

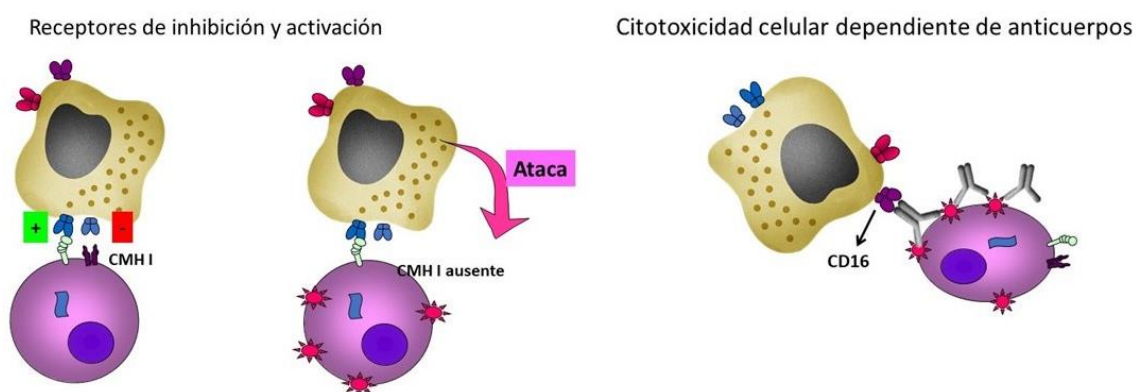
proteínas anormales, las cuales activarán receptores de activación en las células NK. Sin embargo, las células NK tienen un mecanismo de control dado por receptores de inhibición, los cuales reconocen ligandos específicos en la célula blanco. Uno de los principales receptores de inhibición reconoce moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) tipo 1 (CMH I), expresadas en todas las células nucleadas del organismo, que actúan como un marcador de “normalidad” en células sanas. Entonces, la célula NK al reconocer al CMH I en la célula blanco a través de sus receptores de inhibición, no la ataca. En cambio, cuando una célula está infectada o presenta características tumorales, pierde expresión de los ligandos de los receptores de inhibición, especialmente las moléculas del CMH I, y al mismo tiempo expresa proteínas anormales (de antígenos virales, tumorales) que activan a los receptores de activación, por lo cual la célula NK se activa y ataca a dicha célula (Figura 3.2).

2- Por *citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos*: las células infectadas o tumorales expresan en su superficie antígenos extraños, hacia los cuales el sistema inmune adaptativo puede desarrollar anticuerpos específicos. Los anticuerpos se unen a dichos antígenos y luego las células NK, a través de sus receptores CD16 para la porción Fc de los anticuerpos, reconocen a esta célula anormal para eliminarla (Figura 3.2).

3- Por acción directa de *citocinas inflamatorias* producidas en el sitio de infección, especialmente la IL-12 y los interferones.

**Figura 3.2**

*Mecanismos de activación de las células NK*



*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

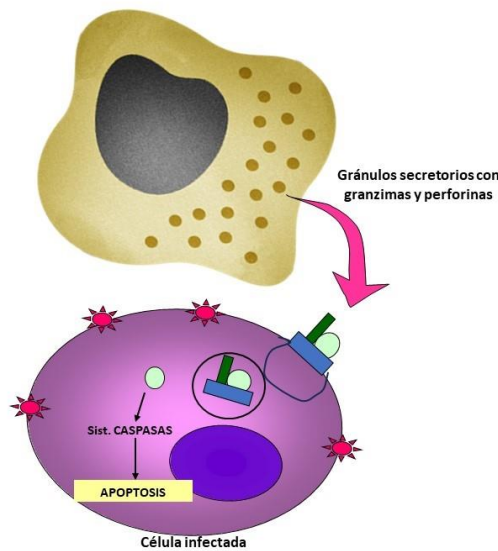
Las células NK ejercen su acción mediante un mecanismo secretor, produciendo citocinas como el interferón  $\gamma$  y el FNT- $\alpha$ , y un mecanismo citotóxico, que causa la muerte de la célula blanco por apoptosis (Figura 3). Este mecanismo está mediado por enzimas presentes en los gránulos de la célula NK denominadas *granzimas* y *perforinas*, que son transportadas a la célula blanco por una proteína transportadora denominada serglicina, e ingresan a la célula blanco en



una vacuola. Dentro de la célula blanco, las perforinas desestabilizan la membrana de la vacuola, permitiendo la liberación de las granzimas al citoplasma, las cuales activarán el sistema de caspasas de la célula blanco causando su muerte por apoptosis. El mecanismo citotóxico también puede ser activado por moléculas del sistema Fas- FasL, el cual también resulta en la activación del sistema de caspasas.

**Figura 3.3**

*Mecanismo de acción citotóxico de las células NK*



*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

**Células NKT**

Las células NKT son otro grupo de células de la inmunidad innata, que poseen un receptor TCR adquirido durante su pasaje por el timo, pero, a diferencia de los TCR de los linfocitos T tradicionales posee poca variabilidad, es decir, es poco específico. Estas células se encuentran principalmente en los órganos linfáticos secundarios y el hígado, y tienen la capacidad de reconocer, a través de su TCR, glucolípidos presentados por moléculas CD1d en la superficie de células infectadas. Las células NK son capaces de producir una enorme variedad de citocinas, que cumplen una función clave ayudando a dirigir la polarización de la respuesta inmune adaptativa en los órganos linfáticos secundarios.

**Linfocitos T  $\gamma\delta$**

Estos linfocitos de la inmunidad innata también hacen un pasaje por el timo durante su maduración, donde adquieren su receptor TCR con cadenas de tipo  $\gamma\delta$  poco variables y poco específicas, a diferencia de los linfocitos T de la inmunidad adaptativa, cuyo TCR está formado por cadenas de tipo  $\alpha\beta$  y posee alta especificidad. Los linfocitos T  $\gamma\delta$  poseen un tropismo particular por las superficies epiteliales, especialmente las mucosas, donde se encuentran en mayor cantidad, y reconocen a través de su TCR moléculas presentes en células “estresadas” o dañadas. Pueden tener función citotóxica, causando la muerte de la célula blanco por apoptosis mediante un mecanismo similar al de las células NK, o función reparadora, mediante la producción de citocinas que favorecen la regeneración de los epitelios.

## Linfocitos B1

Los linfocitos B1 se originan en el hígado fetal, y se ubican principalmente en las cavidades peritoneal y pleural. Son células autorrenovables, no precisan la colaboración de los linfocitos T para activarse, no generan memoria y su BCR es una inmunoglobulina de isotipo M de baja especificidad, por lo tanto, su BCR puede reconocer distintos antígenos relacionados entre sí. Pueden producir anticuerpos “naturales”, es decir, de forma espontánea, sin haber contactado con su antígeno específico. Estos linfocitos son importantes en la respuesta a antígenos con estructuras repetitivas, como los polisacáridos de las cápsulas bacterianas. Estas estructuras repetitivas, activan a los linfocitos B1 que se diferencian a células plasmáticas productoras de anticuerpos de isotipo M, los cuales luego se unen al microorganismo ayudando a su eliminación mediante la activación del sistema del complemento.

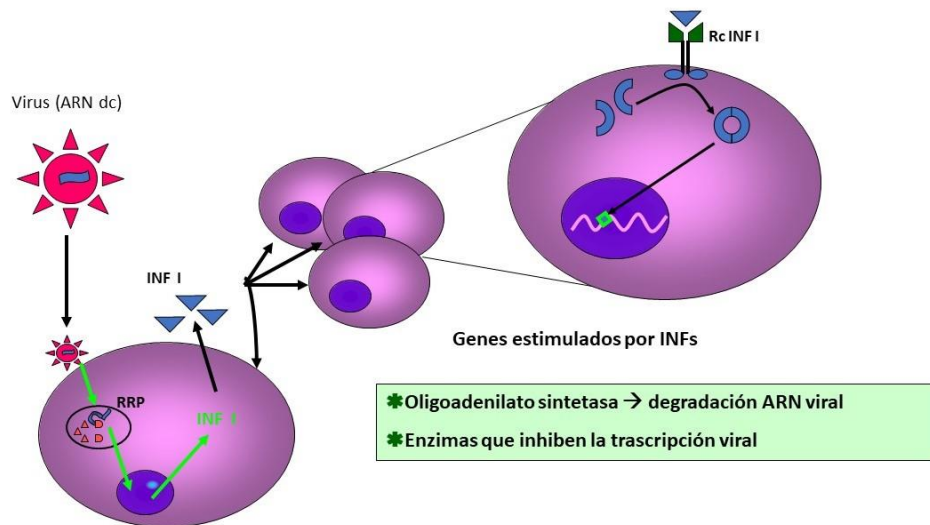
## Sistema del Interferón

El sistema del interferón (IFN) es una familia de citocinas con dos grandes funciones: por un lado, conforman un potente sistema antiviral, y por otro modulan la respuesta inmune innata y adaptativa. Este sistema está formado por dos grandes grupos, los IFN de tipo I y los IFN de tipo II. Los IFN tipo I son un grupo de citocinas, siendo las principales el IFN  $\alpha$  y el IFN  $\beta$ , y poseen una función antiviral directa. Son producidos por todas las células nucleadas al ser infectadas por virus. Merecen mención especial las células dendríticas plasmocitoides, una población particular de células dendríticas, que poseen una elevadísima capacidad de producción de IFN tipo I (hasta 1000 veces más que otras células nucleadas). La aparición de los IFN tipo I es temprana, ocurre en las primeras horas o días luego de una infección viral. El IFN tipo II es uno solo, el IFN  $\gamma$ , y posee una función inmune. Esta citocina puede ser producida por un grupo acotado de células: las células NK, NKT, linfocitos T $\gamma\delta$ , linfocitos Th1 y linfocitos T citotóxicos. Su aparición es temprana cuando es producido por las células de la inmunidad innata y tardía cuando es producido por las células de la inmunidad adaptativa.

Los mecanismos de acción de los IFN tipo I incluyen la inducción de la transcripción de genes denominados “genes estimulados por interferones”, como por ejemplo el gen de la oligoadenilato sintetasa, una enzima que favorece la degradación del ARN viral, y otros que codifican para enzimas que inhiben la replicación viral (Figura 4). Los IFN tipo I también incrementan la expresión de moléculas del CMH tipo I, lo cual favorecerá la respuesta inmune adaptativa, y también son potentes activadores de las células NK.

**Figura 3.4**

*Mecanismo de inducción y de acción de los interferones tipo I*



La función principal del IFN y es la activación de los macrófagos. Los macrófagos activados ejercen ciertas funciones de una forma mucho más eficiente; especialmente se potencia su estallido respiratorio, con la consecuente generación de radicales libres y óxido nítrico, lo cual le permite eliminar patógenos presentes en su interior, como también secretan mayor cantidad de citocinas pro-inflamatorias. El IFN y también estimula la maduración de las células dendríticas y su posterior migración desde el foco infeccioso hacia los órganos linfáticos secundarios para iniciar la respuesta inmune adaptativa.

# CAPÍTULO 4

## Órganos y células de la inmunidad

*Mariana Bernstein y Betiana Elizabeth Alvarez*

### Órganos linfáticos primarios y secundarios

El sistema inmune está formado por múltiples órganos y tejidos que se hallan en diferentes lugares del organismo; sin embargo, la comunicación es posible a través de las células de la inmunidad que mantienen patrones de circulación definidos entre ellos.

En los *órganos linfáticos primarios, centrales o de mando*, se lleva a cabo la capacitación y diferenciación de los progenitores de los linfocitos T y linfocitos B, mientras que, en los *órganos linfáticos secundarios, periféricos o de respuesta*, se produce el contacto del linfocito capacitado con un antígeno específico dando inicio a la respuesta inmune, proceso que se conoce como activación de linfocitos.

Existen órganos linfáticos primarios T y B, en función del tipo de linfocito que allí se capacita. Los linfocitos T se denominan así porque su capacitación ocurre en el timo, en cambio los linfocitos B se capacitan en órganos como la médula ósea (en la mayoría de los mamíferos), la bolsa de Fabricio (en las aves), y las placas de Peyer ileales (en rumiantes y cerdos).

Por otra parte, los órganos linfáticos secundarios incluyen a los ganglios linfáticos, el bazo, la médula ósea, el tejido linfático asociado a las mucosas (sistema inmune común de las mucosas), y grupos celulares de la piel (sistema inmune de la piel). Los ganglios linfáticos y tejidos linfoides asociados a la piel y mucosas se encuentran intercalados en la circulación linfática lo que permite controlar las infecciones por regiones, impidiendo la diseminación de los agentes infecciosos como virus, bacterias, parásitos y hongos al organismo en general, mientras que el bazo está interpuesto en la circulación sanguínea, filtrando los antígenos que viajan por la sangre.

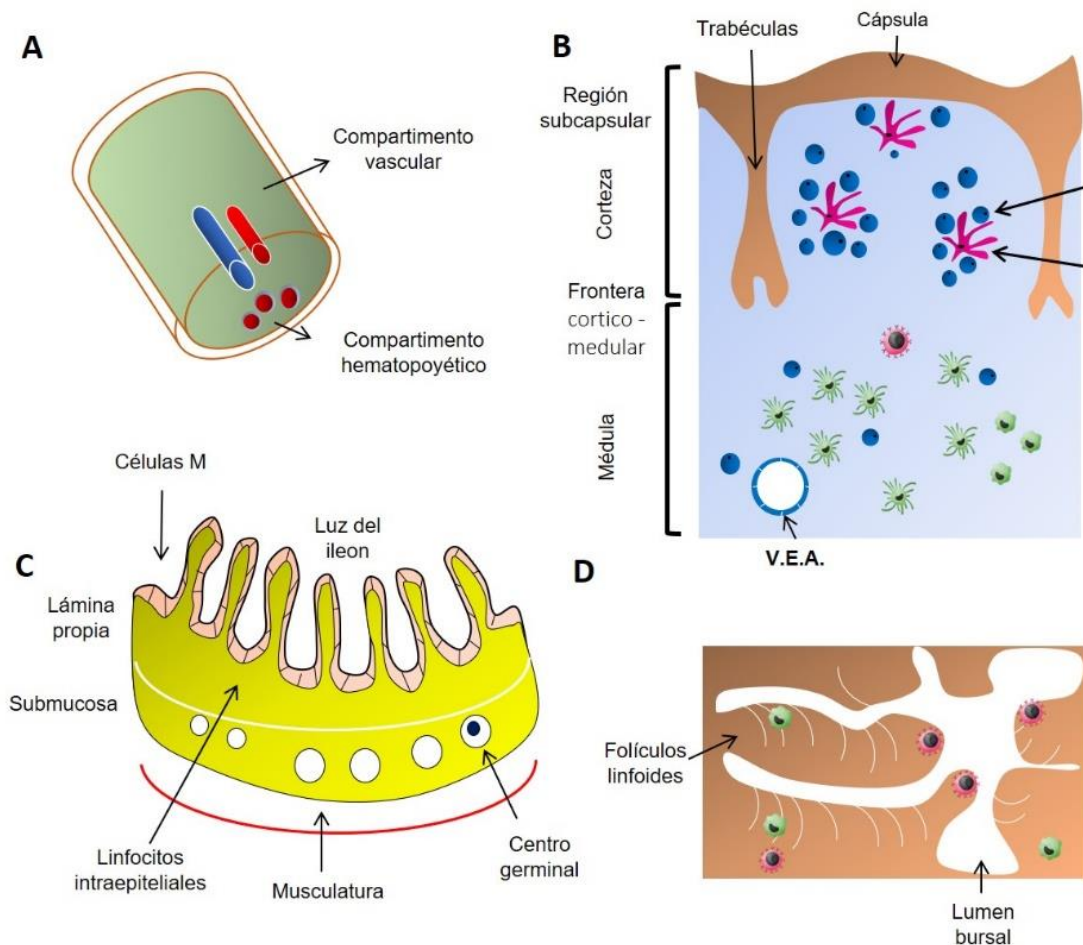
### Órganos linfáticos primarios

La **médula ósea** es considerada como un órgano linfático primario por excelencia por ser el sitio donde se capacitan, multiplican, maduran y llevan a cabo su selección negativa los prolinfocitos B. También se la describe como órgano secundario ya que posee nichos para contener a las células plasmáticas secretoras de anticuerpos.

Funcionalmente se organiza en dos compartimentos alternados: el hematopoyético, que contiene las células troncales (*stem cells*) y los progenitores de las células sanguíneas, además de linfocitos, macrófagos, células cebadas y plasmáticas, entre otras; y el vascular, constituido por capilares sinusoides con endotelio fenestrado donde se encuentran células con actividad fagocítica llamadas pericitos (Figura 4.1.A). La lentitud de la corriente sanguínea en el sector, facilita el ingreso de los precursores celulares a la circulación y la fagocitosis de diferentes sustancias vehiculizadas por la sangre.

**Figura 4.1**

Órganos linfáticos primarios. A: Médula ósea. B: Timo. C: Placas de Peyer ileales. D: Bolsa de Fabricio



*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

El **timo** es el órgano linfoide primario encargado de la selección, diferenciación y maduración de linfocitos T; de hecho, la letra inicial de su nombre (timo) identifica a esta población celular. Es el primer órgano inmune detectado en el feto, y alcanza su máximo desarrollo en la pubertad, para luego involucionar. En algunas especies permanecen remanentes torácicos en la edad avanzada (bovino y canino). Es un órgano bilobulado rodeado por una cápsula de tejido conectivo de la cuál derivan trabéculas que se extienden hacia el interior dividiéndolo parcialmente en

lobulillos y brindándole sostén (Figura 4.1.B). En estas trabéculas, además de tejido conectivo, se hallan fibroblastos, adipocitos, eosinófilos, neutrófilos, células cebadas, plasmáticas y macrófagos. Cada lobulillo presenta tres zonas que se encuentran diferenciadas tanto por su histología como por su fisiología: corteza, zona córtico-medular y médula. El ingreso de los prolinfocitos T desde la médula ósea ocurre principalmente durante períodos cortos en los que el timo se hace receptivo, esto depende de factores quimiotácticos y de la presencia de receptores en las vénulas de endotelio alto de la zona córtico-medular que les permiten adherirse al endotelio e ingresar. Una vez en su interior, los prolinfocitos T se localizan en la corteza, donde inician un proceso de proliferación. De esta manera, se genera una gran cantidad de prelinfocitos T o timocitos, pero también se produce una elevada tasa de mortalidad celular. Por ende, de estos timocitos sobrevive sólo un pequeño porcentaje. El componente epitelial del timo son las células nodrizas, involucradas en los procesos de selección de los linfocitos. Por otro lado, encontraremos los macrófagos corticales que pueden expresar moléculas de clase II del CMH que participan en la eliminación de células muertas que no han sido seleccionadas para continuar su maduración. Concentradas en proximidades de la zona córtico-medular hay células dendríticas con moléculas superficiales de clase II del CMH, formando una malla o red que debe ser atravesada por los timocitos en su camino hacia la médula. En la zona medular hay pocos macrófagos, raramente fagocíticos y con baja densidad de moléculas de clase II del CMH, células dendríticas y abundantes células epiteliales medulares que expresan principalmente moléculas de clase I del CMH y algunos timocitos.

La **Bolsa de Fabricio** únicamente se encuentra en las aves, es un órgano linfoepitelial en forma de saco con pliegues en su interior, que se abre en la región dorsal de la cloaca (Figura 4.1.D). Alcanza su máximo desarrollo en la 2da o 3ra semana de vida para luego involucionar. Los pliegues presentan folículos linfáticos esparcidos y organizados en tres zonas: la corteza, poblada por linfocitos, células plasmáticas y macrófagos; la zona córtico-medular, con una membrana basal y una red de capilares que incluyen células epiteliales, entre las que se encuentran las dendríticas bursales secretoras; y una médula, con linfoblastos y linfocitos. En este órgano se lleva a cabo la maduración y selección negativa de los linfocitos B.

Las **Placas de Peyer ileales** conforman un órgano linfoide localizado en las paredes del intestino delgado. Su estructura y función varía dependiendo de la especie animal. En rumiantes jóvenes y porcinos las Placas de Peyer ileales pueden llegar a medir 2 metros de longitud. Son folículos grandes y alargados densamente empaquetados donde hay presencia de linfocitos B (Figura 4.1.C). Durante la vida fetal de los rumiantes y porcinos, los prolinfocitos B se localizan en las placas de Peyer del yeyuno, para luego colonizar las ileales. Estas placas se desarrollan en los primeros tres meses de vida para luego involucionar y desaparecer alrededor de los 18 meses. Su microambiente especializado soporta una alta tasa de proliferación de linfocitos B que promueve un fenómeno esencial para su caracterización como órgano primario, el reagrupamiento de los genes que codifican la expresión de los BCR. Histológicamente, cada folículo de las Placas de Peyer se encuentra organizado en corteza y médula. En la misma se hallan los macrófagos y es el sitio donde existe una alta tasa de proliferación celular. En la

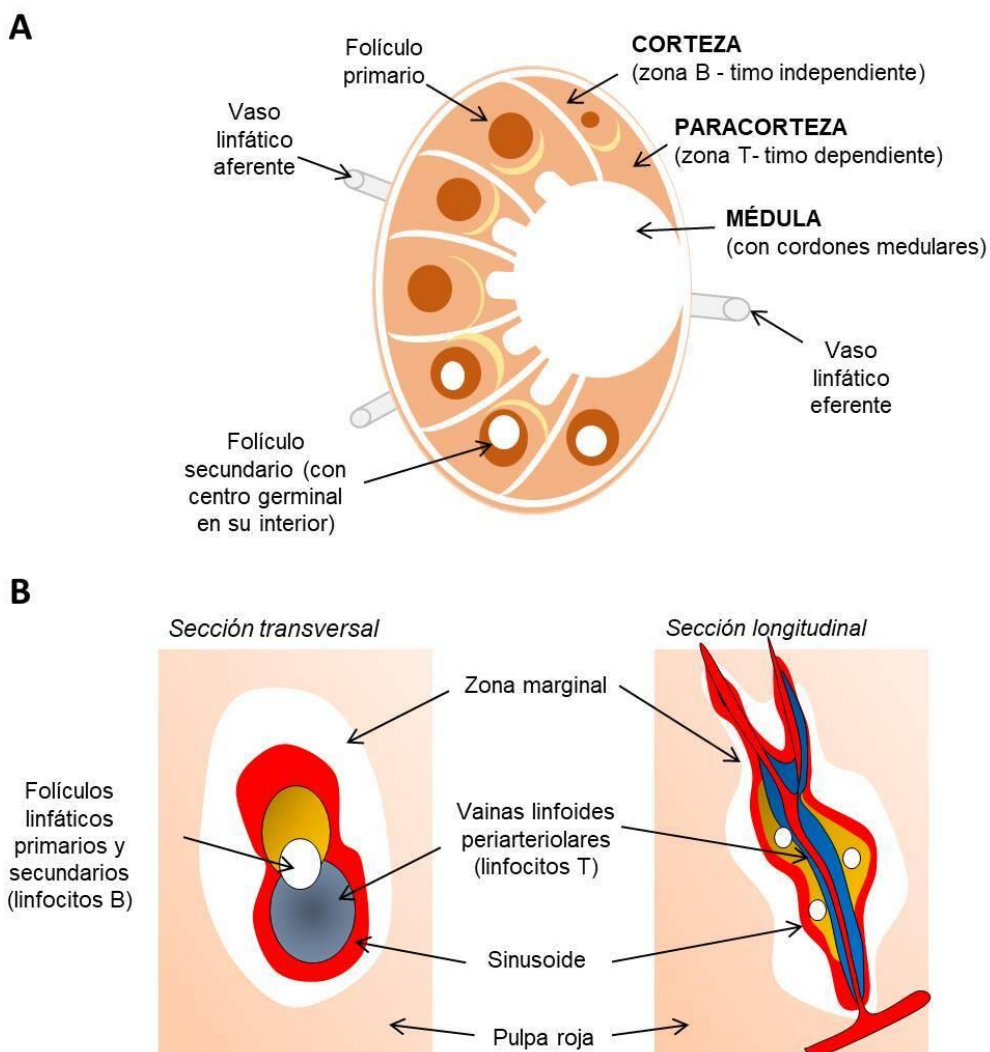
corteza, por otro lado, se lleva a cabo la selección negativa de los linfocitos B. Durante su actividad, desde la vida fetal y hasta que manifiestan los primeros signos de involución, contactan con la luz intestinal a través de una población celular semejante a las células M, propias de las placas yeyunales, de las que se diferencian por contener vacuolas en forma de cuerpos multivesiculares en donde se internalizan antígenos para ser procesados por los lisosomas. Estos cuerpos multivesiculares transportan partículas hacia los espacios intercelulares, se filtran en el folículo y son tomadas por linfocitos, por lo que representan un mecanismo de muestreo ambiental.

## Órganos linfáticos secundarios

Los **ganglios linfáticos** (o **linfonodos**) son órganos de filtración distribuidos en el recorrido de la circulación linfática, de manera que captan los antígenos que transporta la linfa. Están rodeados por una cápsula de tejido conectivo que emite trabéculas hacia el interior del órgano (Figura 4.2.A). Los ganglios linfáticos se dividen en corteza, paracorteza (zona córtico-medular) y médula. La *corteza* está formada por *folículos* que cuando se encuentran en estado de reposo se denominan *primarios* y están constituidos por una malla de células dendríticas foliculares rodeadas de linfocitos B recirculantes, que llegan desde la circulación sanguínea, y algunos macrófagos. Los folículos que evidencian actividad por estímulo inmunogénico se conocen como *secundarios*. Éstos presentan un centro germinativo, que se desarrolla transitoriamente por la proliferación clonal de los linfocitos B activados luego de reconocer su epitopo específico. Los centros germinativos además contienen macrófagos y células dendríticas foliculares. Los linfocitos B recirculantes que no han sido estimulados por su epitopo son excluidos y se agrupan en la superficie, rodeando el centro germinativo, en una formación conocida como manto. En los centros germinativos se produce la hipermutación somática, el cambio de isotipo y la selección positiva de los linfocitos B, que serán desarrollados en detalle en el capítulo 7. La *paracorteza* es una zona poco delimitada, donde se observan células dendríticas interdigitantes, derivadas de las células de Langerhans de la piel y mucosas, que como vimos anteriormente, tienen la capacidad de fagocitar antígenos, procesarlos y presentar sus epitopos para que sean reconocidos por los TCR de los linfocitos T vírgenes. En esta zona se localizan las *vénulas de endotelio alto* a las que se adhieren los linfocitos vírgenes para acceder al interior del ganglio desde la circulación sanguínea. La *médula* está compuesta por senos y cordones medulares, en los que se observan linfocitos T y B, macrófagos y gran cantidad de células plasmáticas. La médula se relaciona con el hilio del ganglio por el que ingresa la sangre arterial y egresan la linfa y la sangre venosa.

### Figura 4.2

Órganos linfáticos secundarios. A: Ganglio linfático. B: Bazo.



El **bazo** es un órgano especializado en filtrar sangre, de donde remueve células sanguíneas dañadas, viejas o partículas extrañas mediante la fagocitosis. También se desarrollan respuestas inmunes contra antígenos vehiculizados por la sangre. Macroscópicamente se divide en dos compartimientos relacionados: la pulpa roja, rica en macrófagos y glóbulos rojos, y la pulpa blanca, donde se generan las respuestas inmunes (Figura 4.2.B). En la pulpa blanca, se distinguen tres sectores: los anillos linfoides periarteriolares, los folículos linfáticos (primarios o secundarios, de acuerdo a su estado evolutivo) y la zona marginal, que la separa de la pulpa roja. Los anillos linfoides periarteriolares rodean a la arteriola central, presentan una zona T, interna o timo-dependiente, que contiene principalmente linfocitos T CD4<sup>+</sup> y células dendríticas interdigitantes, y una zona externa con linfocitos T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup>, linfocitos B, células plasmáticas y macrófagos. Los folículos linfáticos son estructuras globulares incluidas en los anillos linfoides periarteriolares y poseen mayoritariamente linfocitos B, células dendríticas foliculares y escasos linfocitos T CD4<sup>+</sup>. La zona marginal, que delimita externamente a los anillos linfoides periarteriolares y a los folículos linfáticos, es una red de células reticulares que contiene linfocitos B, células plasmáticas, macrófagos, células dendríticas y escasos linfocitos T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup>.



En las mucosas de los órganos, aparatos y sistemas que tengan contacto con el medio externo se ubica el **sistema linfoide asociado a las mucosas**. Está formado por estructuras linfáticas con diferente grado de organización que están relacionados entre sí gracias a la migración de linfocitos. Las estructuras más simples son difusas y las más complejas compactas (estructura de lámina propia), se ubican en lugares de la mucosa que están en contacto directo con la luz de los órganos como los folículos linfáticos que están en los bronquios, las placas de Peyer y las tonsilas, cuya función es la de inducir y generar una respuesta inmune celular y/o humoral. El tejido linfoide asociado a las mucosas se encarga de proteger las mucosas de los diferentes ataques de los agentes patógenos a nivel local. Sus mecanismos de acción están mediados principalmente por inmunoglobulinas de isotipo IgA, excepto en las tonsilas donde la inmunoglobulina sintetizada de forma mayoritaria es la IgG, seguida de la IgA.

El **sistema linfoide asociado a la piel** presenta diferentes tipos celulares que le permiten reconocer agentes extraños y estimular en los ganglios linfáticos regionales una respuesta inmune. En la epidermis podemos encontrar queratinocitos secretores de citocinas y de factores quimiotácticos, linfocitos T  $\gamma\delta$ , células de Langerhans, y en la dermis linfocitos T migratorios y macrófagos.

## Ontogenia linfocitaria y células presentadoras de antígeno

El origen de todas las células sanguíneas (hematopoyesis) tiene un precursor común: la célula troncal, capaz de autorrenovarse o autorreplicarse asegurando el abastecimiento de todos los tipos celulares. Esta célula se ubica tempranamente en el saco vitelino del embrión en desarrollo, luego en el hígado fetal, y desde el final de la gestación y durante la vida postnatal, en el compartimiento hematopoyético de la médula ósea. Su fisiología está regulada por factores estimulantes e inhibitorios que condicionan su diferenciación en célula pluripotencial, de la que derivan los *progenitores mieloides*, que dan origen a las plaquetas, eritrocitos, basófilos, eosinófilos, neutrófilos, mastocitos, macrófagos y células dendríticas; y los *progenitores linfoides*, que dan origen a las células NK, NKT y los prolinfocitos T y B, quienes luego migran a los órganos primarios, donde bajo la influencia de cada microambiente proliferan, se diferencian y generan el repertorio o variedad de receptores específicos de los linfocitos T y linfocitos B para los epitopos.

Otro modo de catalogar a las células de la inmunidad es en células específicas e inespecíficas. Las células específicas se llaman así porque se activan exclusivamente al reconocer su epitopo específico. Incluyen a los linfocitos T, linfocitos B y su progenie. Dentro de los linfocitos T se encuentran los colaboradores o CD4<sup>+</sup> y citotóxicos o CD8<sup>+</sup>, cada uno de ellos con sus subpoblaciones efectoras y de memoria. Dentro de los linfocitos B tenemos a las células plasmáticas y linfocitos B de memoria. Las células inespecíficas se llaman así porque participan en el procesamiento de los antígenos y presentación de los epitopos lineales a los linfocitos T, entre las que se destacan los macrófagos, los linfocitos B y las células dendríticas, todas ellas conocidas como células presentadoras de antígeno (CPA). Además, están las células que

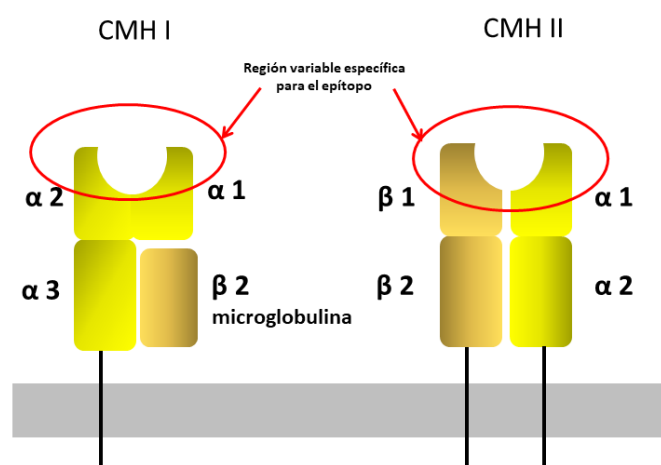
suplementan y amplifican las funciones de las células específicas y de sus mediadores: como neutrófilos, eosinófilos y células NK.

Cuando se da comienzo a una respuesta inmune adaptativa, los antígenos son fragmentados dentro de las CPA y esos fragmentos que se generan (epitopos) se unen a receptores que van a ser los encargados de presentar los epitopos a los linfocitos T. Esos receptores, denominados **moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH)**, son glucoproteínas de membrana codificadas por un conjunto de genes llamados complejo mayor de histocompatibilidad. Los linfocitos T, a través de su complejo TCR, sólo podrán reconocer a los epitopos específicos si estos están unidos a moléculas de CMH; ese requisito es lo que se llama “Restricción por el CMH”.

Existen 2 moléculas de CMH: tipo I y tipo II. Ambas tienen una estructura similar dado que son glucoproteínas que pertenecen a la familia de las inmunoglobulinas (Figura 4.3). El CMH I está formado por 2 cadenas polipeptídicas llamadas  $\alpha$  y  $\beta$  que se asocian en forma no covalente. La cadena  $\alpha$  tiene 3 dominios llamados  $\alpha 1$ , 2 y 3 que son extra-citoplasmáticos, y una porción que atraviesa la membrana plasmática como una proteína integral de membrana. La cadena  $\beta 2$  microglobulina tiene un solo dominio sin porción transmembrana. El CMH II también está formado por 2 cadenas  $\alpha$  y  $\beta$ , cada una con 2 dominios llamados 1 y 2, respectivamente. A diferencia del CMH I, en el tipo II ambas cadenas poseen anclaje a membrana. En ambas moléculas encontraremos una región variable formada por  $\alpha 1$  y 2 en el CMH I y  $\alpha 1$  y  $\beta 1$  en el CMH II; estos dominios se combinan para ensamblar un surco o fosa acanalada que aloja al péptido específico. La función esencial de las moléculas del CMH es presentar péptidos antigénicos a los linfocitos T. El CMH I es expresado en todas las células nucleadas, mientras que el CMH II es expresado únicamente por las CPA.

**Figura 4.3**

*Esquema de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad*



## Células presentadoras de antígeno

Existen tres tipos de CPA que describiremos a continuación. Los *macrófagos* provienen de células precursoras de la médula ósea que se diferencian en monocitos, atraviesan las paredes de los capilares para alojarse en el tejido conectivo y transformarse en macrófagos. Son mononucleares, miden aproximadamente 10-30  $\mu\text{m}$ , poseen en la superficie numerosas prolongaciones digitiformes, en el citoplasma presentan vacuolas, lisosomas y fagolisosomas relacionados con su principal función que es fagocitar y destruir microorganismos. Al ser CPA, con la ingestión de microorganismos se inducen los procesos de procesamiento y presentación que se describirán en el capítulo 5, expresando mayor cantidad de moléculas del CMH.

Las *células dendríticas* tienen prolongaciones digitiformes largas llamadas dendritas que les dan su nombre. Las células dendríticas inmaduras migran desde la médula ósea a través del torrente sanguíneo y se ubican en los tejidos del organismo, especialmente en el tejido conectivo de piel (células de Langerhans) y mucosas. Captan materia particulada por medio de fagocitosis, y además ingieren de modo continuo grandes cantidades de líquido extracelular y su contenido mediante un proceso denominado macropinocitosis. Al igual que los macrófagos, degradan los microorganismos patógenos que captan, pero su principal participación en el sistema inmunitario no es la eliminación de microorganismos, sino la activación de linfocitos T vírgenes. Para ello, la célula dendrítica inmadura debe madurar para ser capaz de procesar y presentar epitopos específicos. Las células dendríticas inmaduras y maduras difieren fenotípicamente y funcionalmente. Las células dendríticas inmaduras tienen alta capacidad endocítica y de procesamiento, pero bajos niveles de expresión de CMH y de moléculas de co-estímulo (CD80-86) en su superficie. Sin estos dos elementos las células dendríticas no pueden activar a los linfocitos T vírgenes. Cuando ocurre una infección, las células dendríticas migran a los ganglios linfáticos regionales y a lo largo de su recorrido se transforman en células dendríticas maduras, que comienzan a expresar alta cantidad de receptores CMH y moléculas de co-estímulo necesarias para activar a los linfocitos T, y disminuyen su capacidad de endocitosis y procesamiento.

Los **linfocitos B** se describirán en profundidad en el capítulo 7; se especializan en reconocer a través de su receptor específico, una Ig de su superficie, epitopos de antígenos tal como se presentan en la naturaleza. Su función como CPA es fundamental para su activación, ya que a partir de la presentación de epitopos a linfocitos T colaboradores, recibirá la segunda señal necesaria para su posterior diferenciación a célula plasmática productora de anticuerpos y linfocitos B de memoria.

## Receptores de la inmunidad adaptativa

Una forma de caracterizar a las distintas poblaciones leucocitarias es a través de su grupo de diferenciación (*cluster of differentiation* en inglés [CD]). Los CD son moléculas marcadoras que

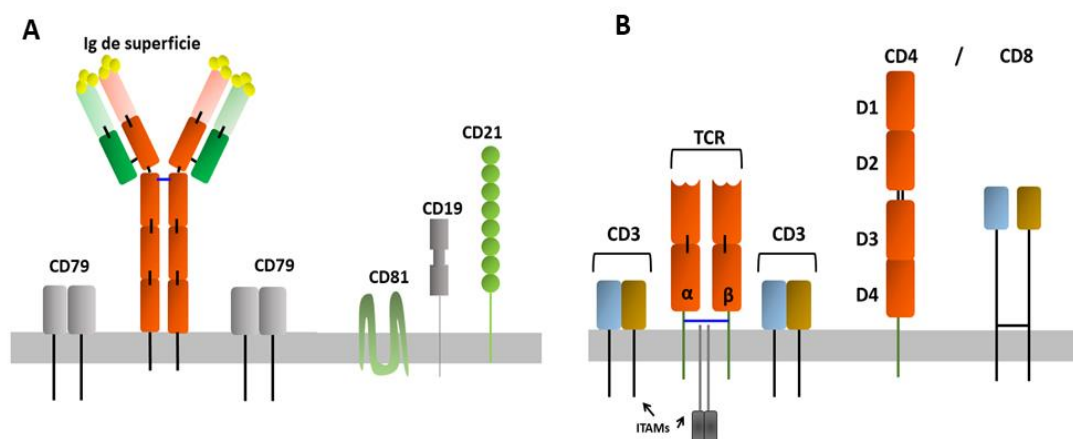
se encuentran en la superficie celular, usadas para la identificación del tipo de célula, estadio de diferenciación celular y actividad de la misma. Son un sistema de antígenos de superficie celular de los leucocitos, que fueron caracterizados mediante anticuerpos monoclonales, permitiendo la categorización de los distintos leucocitos y otras células hematopoyéticas. Se les denomina marcadores de *diferenciación* porque le dan a las células características fenotípicas únicas del estadio de diferenciación en que estén.

Los linfocitos T y linfocitos B se originan en la médula ósea a partir de un precursor común. Durante el desarrollo los linfocitos T y linfocitos B adquieren los receptores para reconocer los antígenos específicos denominados TCR y BCR, respectivamente. En cada individuo existen centenares de millones de linfocitos diferentes que reconocen a antígenos específicos únicos y forman lo que se denomina “repertorio linfocitario”.

El **complejo BCR** está formado por una Ig de superficie asociada con 2 heterodímeros formados por una cadena de Ig $\alpha$  y otra cadena Ig $\beta$ , también llamados CD79 (Figura 4.4A). La Ig de superficie es la encargada de reconocer los antígenos solubles y el heterodímero por un lado traduce la señal al interior de la célula y también permite el transporte y la expresión de la Ig en la superficie celular en el momento de la ontogenia. También forman parte del complejo BCR las moléculas correceptoras CD19, 21 y 81 que estimulan la activación del linfocito B.

#### Figura 4.4

Receptores celulares de la inmunidad adaptativa. A: Complejo BCR. B: Complejo TCR



El **complejo TCR** está formado por el receptor TCR, formado por dos cadenas peptídicas que forman un heterodímero anclado a la membrana celular (**Figura 4.4B**). Estas cadenas, denominadas  $\gamma$  y  $\delta$  en los linfocitos T de la inmunidad innata (desarrollados en capítulos anteriores) y  $\alpha$  y  $\beta$  en los linfocitos T de la inmunidad adaptativa, pertenecen también a la superfamilia de las Ig, y tienen porciones variables que representan el sitio de unión al epítopo y porciones constantes que se anclan a la membrana celular y se unen por puentes disulfuro intracatenarios. Nos centraremos a continuación en la descripción del complejo TCR  $\alpha\beta$ . Esta

estructura posee un complejo CD3 asociado, que se encarga de traducir la señal de activación al interior de la célula luego del reconocimiento del epitopo específico, es esencial su presencia para que esto ocurra y también juega un importante papel en el ensamblaje, transporte y estabilización del TCR en la membrana celular. A su vez el complejo TCR incluye otro marcador o correceptor que definirá a la población linfocitaria CD4<sup>+</sup> / colaboradora o CD8<sup>+</sup> / citotóxica.

Los linfocitos TCD8<sup>+</sup> o citotóxicos reconocen epitopos presentados por moléculas del CMH I, esta molécula es reconocida por el correceptor CD8<sup>+</sup>. Por su parte, los linfocitos TCD4<sup>+</sup> o colaboradores reconocen epitopos presentados por las moléculas del CMH II ya que éstas son reconocidas por el correceptor CD4<sup>+</sup>.

## Selección positiva y negativa de los linfocitos T

La linfopoyesis T o timopoyesis comienza cuando los prolinfocitos T arriban al timo; en este momento no expresan moléculas de superficie que permitan identificarlos y se llaman dobles negativos. En la corteza del timo se producen los primeros reordenamientos genéticos de los TCR y se originan dos líneas celulares a partir del mismo precursor. Una de ellas presenta el receptor  $\gamma\delta$ , de los cuales no se sabe si sufren algún proceso de selección y darán origen a los linfocitos  $\gamma\delta$  de la inmunidad innata, y la otra el receptor  $\alpha\beta$ , que dará origen a los linfocitos T de la inmunidad adaptativa (colaboradores y citotóxicos).

Las células con TCR  $\alpha\beta$  comienzan a expresar simultáneamente en su superficie las moléculas CD4 y CD8 (CD4<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> o doble positivos), y antes de abandonar el timo deben ser seleccionadas. Los procesos de selección, positiva y negativa, se desarrollan mediante contactos y mensajes moleculares entre los timocitos y las células epiteliales del timo.

En la **selección positiva**, los timocitos que a través de su complejo TCR se unen a moléculas del CMH, sobreviven, en cambio los que no lo hacen son inducidos a morir por apoptosis para luego ser endocitados por los macrófagos corticales. Así se eliminan todas las células cuya actividad no está restringida por el CMH propio, porque si no son capaces de reconocerlo como tal durante la selección, tampoco lo serán cuando las células procesadoras de antígenos, en los órganos linfáticos secundarios, les presenten epitopos no propios asociados a moléculas del CMH durante la inducción de la respuesta inmune específica. Si el timocito reconoce a su epitopo específico en el contexto del CMH de tipo I es seleccionado positivamente, pierde el correceptor CD4, se queda con el CD8 y pasa a ser un linfocito TCD8<sup>+</sup> o citotóxico; si reconoce el epitopo en el contexto del CMH tipo II, pierde el correceptor CD8 y se queda con el CD4<sup>+</sup> siendo un linfocito TCD4<sup>+</sup> o colaborador.

En la **selección negativa**, los timocitos (ya seleccionados positivamente) cuyos TCR se unen con elevada afinidad a péptidos propios asociados a las moléculas de clases I o II del CMH son eliminados (delección clonal) o inactivados (anergia clonal), neutralizándose, de esta manera, a los clones potencialmente autorreactivos.

De este modo, los timocitos finalizan su proceso de selección y salen del timo como linfocitos T vírgenes restringidos por el CMH I o II (dependiendo si son CD8<sup>+</sup> o CD4<sup>+</sup>, respectivamente) y autotolerantes (no reconocen lo propio como extraño).

Los linfocitos B primero sufren una selección negativa que se lleva a cabo en los órganos primarios (médula ósea, bolsa de Fabricio y Placas de Peyer ileales), donde se eliminan los clones potencialmente autorreactivos, y luego sufren una selección positiva que se desarrolla en los órganos secundarios; ambos procesos se describirán en el capítulo 7.

## CAPÍTULO 5

# Antígenos y procesamiento antigénico

*Lais Luján Pardini y Alejandra Edith Larsen*

## Antígenos

Un antígeno o inmunógeno es toda macromolécula ajena al organismo que, introducida en un vertebrado superior por cualquier vía, induce una respuesta inmune mediada por células y/o anticuerpos, y con cuyos productos interactúa específicamente, dando reacciones observables *in vivo* o *in vitro*. Ejemplos de ellos son los virus, bacterias, hongos y parásitos unicelulares o multicelulares como son los protozoos y los helmintos respectivamente. Las reacciones observables *in vitro* las veremos en los capítulos de inmunodiagnóstico.

En este capítulo nos referiremos a antígenos e inmunógenos de forma indistinta, sin embargo, es útil diferenciarlos para sentar las bases en otras temáticas como son la inmunización/vacunación, el inmunodiagnóstico y la inmunoterapia.

Definiremos como inmunógeno a toda sustancia extraña al organismo, reconocida por los inductores del sistema inmune adaptativo (linfocitos B o T), capaz de desencadenar una respuesta inmune completa (innata y adaptativa) e interactuar con sus productos o efectores. Un antígeno es una sustancia o molécula extraña al organismo, capaz de unirse en forma específica al producto de la respuesta inmune, anticuerpos y/o células, pero no es la que indujo la respuesta inmune. Entonces, podemos decir que todo inmunógeno se comportará como antígeno, pero no todo antígeno puede ser considerado como inmunógeno. Cuando hablamos de los componentes de una vacuna, el principio activo de la misma se denomina inmunógeno, en cambio llamamos antígeno al reactivo utilizado en inmunodiagnóstico, por ejemplo, para el diagnóstico serológico de brucelosis por la prueba de BPA, Antígeno Bufferado para Placa, que utiliza como antígeno bacterias enteras, muertas por calor y coloreadas.

Cualquier sustancia reconocida como no propia por el sistema inmune es capaz de actuar como antígeno – inmunógeno. Pueden ser de origen infeccioso como proteínas, lípidos, ácidos nucleicos e hidratos de carbono provenientes de bacterias, virus, parásitos, hongos o levaduras, o bien de origen ambiental, como parte de los componentes de ciertos alimentos, polen, venenos de arañas y serpientes. Otros ejemplos de antígenos son los derivados de ciertas drogas, tejidos u órganos trasplantados y transfusiones.

Debemos referirnos a los antígenos/inmunógenos como unidades de un mosaico antigénico (bacteria, virus, etc.), es decir que poseen en su estructura una gran cantidad y variedad de

antígenos capaces de ser reconocidos con mayor o menor intensidad por el sistema inmune. Podemos citar algunos ejemplos como las diferencias existentes entre las paredes de las bacterias Gram positivas y Gram negativas, parte de pili y flagelos, las neuraminidasas y hemaglutininas, y/o proteínas de la cápside en los virus.

## Estructura de los antígenos

Si tomamos una parte de un pili o flagelo bacteriano, encontraremos varias proteínas y en estas, diversos epitopos que serán reconocidos por los receptores específicos del sistema inmune adaptativo (BCR o TCR). Estos receptores pueden reconocer una gran diversidad de epitopos.

Los antígenos/inmunógenos poseen dos características fundamentales: **inmunogenicidad** y **especificidad**. La inmunogenicidad es la capacidad de ese inmunógeno de inducir una respuesta inmune. La especificidad les otorga la capacidad de ser reconocidos por determinado receptor de acuerdo con una estructura química y disposición espacial determinada que les es propia.

La inmunogenicidad tiene atributos propios que se relacionan con

- *Exogenicidad*: es decir el carácter de extraño para el hospedador, cuanto más lejano filogenéticamente, será más fácilmente reconocido como extraño.
- *Tamaño*: a mayor tamaño puede haber una mayor variedad y número de epitopos, a diferencia de los *haptenos*, para los cuales es necesario que se unan a proteínas propias del hospedador que actúan como *Carrier*.
- *Estructura química compleja*: por su composición, por ejemplo, las proteínas son de los mejores inmunógenos, a diferencia de los hidratos de carbono en los que la estructura química suele ser muy simple y repetitiva.
- *Estabilidad estructural o rigidez y degradabilidad o estabilidad metabólica*: cuanto más fácilmente degradables sean, algunos inmunógenos no funcionarán bien como tales y otros, por su rigidez, para ser degradados o procesados, harán imposible su exposición y presentación como es el caso del acero quirúrgico.

Los inmunógenos también poseen *atributos no propios*, es decir que no dependen de ellos sino del hospedador. Algunos agentes patógenos solo pueden afectar a determinadas especies o a determinada edad o categoría de animales - lactantes, destete, hembras preñadas- siendo en general más susceptibles los individuos muy jóvenes o de mayor edad, ya sea por la inmadurez del sistema inmune o por el deterioro del mismo. Algunos antígenos son altamente inmunogénicos en pequeñas dosis (alergenos), o bien dependiendo de la vía de inoculación o puerta de entrada ya que, por ejemplo, al ingresar por las mucosas o la piel entran en estrecho contacto con las células presentadoras dendríticas, que monitorean el lugar de ingreso. Los adyuvantes favorecerán una más potente y duradera respuesta inmune frente a los inmunógenos

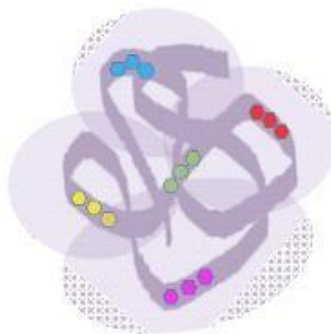


inoculados en combinación con estos, lo que es muy importante cuando se utilizan formulaciones de inmunógenos como vacunas o en la producción de sueros hiperinmunes.

Al referirnos a los antígenos/inmunógenos podemos decir que pueden contener en su estructura varios y diversos *epitopos*. Podemos definirlos como una secuencia de la unidad funcional que componen proteínas, ácidos nucleicos, polisacáridos, glicoproteínas, lípidos, lipopolisacáridos o de otras macromoléculas, que tienen una configuración espacial y una composición química definida, y que son reconocidos por los receptores de la inmunidad adaptativa (BCR y TCR).

### Figura 5.1

*Esquema de la estructura general de un antígeno*



### Clasificación de epitopos

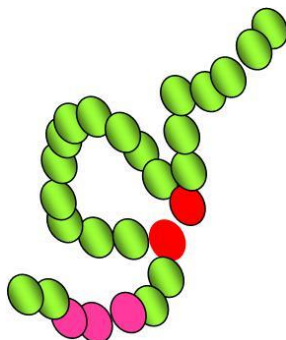
Por su *ubicación*, pueden ser SUPERFICIALES, aquellos expuestos en la superficie más externa del antígeno (accesibles e inaccesibles) y PROFUNDOS en el interior de la estructura antigénica, siendo necesario el procesamiento de los mismos para que puedan ser reconocidos.

De acuerdo con la *magnitud de la respuesta* que inducen, pueden ser INMUNODOMINANTES como por ejemplo proteínas de superficie, esenciales para el ingreso del patógeno en las células del hospedador, generando una fuerte respuesta inmune, o bien, INMUNOSILENTES los que producen una respuesta inmune menor.

Por su origen podemos clasificarlos en CONFORMACIONALES, NATIVOS O DISCONTINUOS, que se encuentran en la estructura original tridimensional de la proteína, es decir, que dependen del plegamiento de la proteína, donde los aminoácidos que los conforman pueden estar alejados en la secuencia lineal pero yuxtapuestos en la secuencia de la estructura tridimensional. Son reconocidos por los BCR de los linfocitos B.

**Figura 5.2**

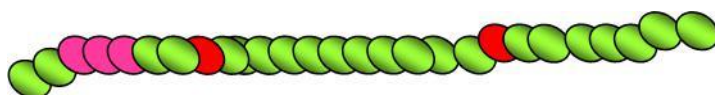
*Esquema de un epítipo conformacional, nativo o discontinuo (rojo)*



Los epítipos LINEALES, SECUENCIALES O CONTINUOS deben ser procesados previamente a ser presentados. Están constituidos por aminoácidos, uno al lado del otro, en la estructura primaria de la proteína y son expuestos asociados al CMH para ser reconocidos por los linfocitos T. Cuando se pierde la estructura tridimensional de hoja plegada, por ejemplo, los epítipos lineales son los únicos que se conservan.

**Figura 5.3**

*Esquema de un epítipo lineal secuencial o continuo (rosa)*



Según *el número y variedad*, se clasifican en MONOVALENTES Y MONOESPECÍFICOS, un epítipo único, haptenos (metales, fármacos de bajo peso molecular inferior a 4kDa); POLIVALENTES MONOESPECÍFICOS que consisten en un número variable de epítipos que son idénticos entre sí como los hidratos de carbono y POLIVALENTES POLIESPECÍFICOS, parecidos a los anteriores en número, pero con epítipos diferentes entre sí como las proteínas.

Por *su complejidad*, EPITOPOS TIMOINDEPENDIENTES, estructuralmente de baja complejidad y de secuencia repetitiva, por ejemplo: hidratos de carbono, provenientes de micobacterias, o la cadena "O" del LPS capaces de activar a los linfocitos B para así diferenciarse a células plasmáticas e inducir una respuesta inmune humoral con producción de IgM, en un proceso independiente del estímulo del linfocito T. En el caso de los TIMODEPENDIENTES es necesaria la interacción de los linfocitos B y T, proceso denominado colaboración T-B, induciendo

una respuesta inmune adaptativa más compleja y completa con diferenciación a células plasmáticas, síntesis de IgM e IgG y linfocitos B de memoria.

## Procesamiento antigénico y presentación de epitopos

Los antígenos, como indicamos anteriormente, no siempre pueden ser reconocidos tal como se presentan en la naturaleza, como es el caso de los epitopos *conformacionales*. Los linfocitos T sólo reconocen epitopos previamente procesados, *lineales*, también llamados péptidos antigénicos, que les son presentados por las células dendríticas a través de las moléculas del CMH.

El sistema inmune puede reconocer a los agentes extraños, es decir “lo no propio”, de diferentes maneras y con distintos receptores. Los RRP's presentes en células de la inmunidad innata, como por ejemplo los monocitos, macrófagos, neutrófilos y células dendríticas interactúan con los PAMP's presentes en los patógenos, en cambio las células de la inmunidad adaptativa lo hacen mediante los receptores BCR y los TCR de los linfocitos. Estos últimos son receptores de gran diversidad y de muy alta especificidad capaces de reconocer epitopos conformacionales y secuenciales respectivamente, asociados al CMH, para que con posterioridad a su activación se produzca la expansión clonal.

El procesamiento antigénico, que ocurre en las CPA, es necesario para lograr la fragmentación de proteínas más complejas en péptidos antigénicos más pequeños, que puedan asociarse en forma específica a las moléculas del CMH y expresarse en la superficie de las CPA. En ese contexto de unión CMH-epitopo se produce la presentación ante los linfocitos T que, sumado a otros mecanismos, finalizará con la activación de los mismos. Como se indicó previamente tanto el CMH I, presente en todas las células nucleadas, como el CMH II, presente solo en las CPA, poseen una región variable específica para la unión con el epitopo.

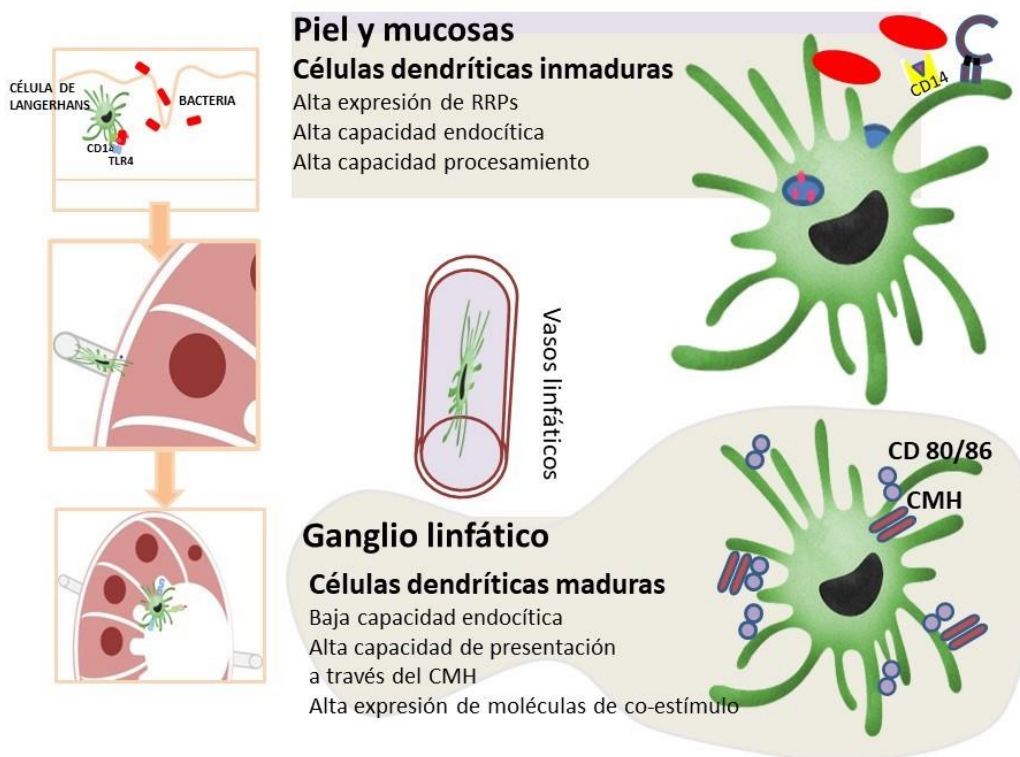
Las células procesadoras y presentadoras están representadas por los macrófagos, los linfocitos B y las células dendríticas. Estas últimas son las CPA por excelencia, por su altísima capacidad endocítica, siendo las únicas capaces de activar a los linfocitos T vírgenes. Se las suele considerar las células “reinas” de la inmunidad ya que constituyen un importante nexo entre la inmunidad innata y adaptativa.

Tomaremos como ejemplo el proceso llevado a cabo por las células dendríticas desde el ingreso de un microorganismo hasta que se completa la presentación y activación de los linfocitos T. Al producirse una lesión en la piel, pueden penetrar bacterias que serán reconocidas y endocitadas por las células dendríticas locales, células de Langerhans, que se encuentran como centinelas, monitoreando la presencia de sustancias extrañas. Durante su migración por vía linfática hacia el ganglio linfático regional, pueden diferenciarse de acuerdo a sus características y funciones en inmaduras y maduras. Las células dendríticas inmaduras poseen alta capacidad endocítica y de procesamiento, expresan receptores CD14 y TLR4 a diferencia de las células dendríticas maduras que tienen alta capacidad de presentación, capacidad para activar linfocitos

T vírgenes debido a que expresan gran cantidad de CMH unido a epitopos, en asociación con moléculas de co-estímulo como CD80/CD86 y receptores de quimiocinas como el CCR7, que dirige su migración hacia el ganglio linfático (Figura 5.4).

**Figura 5.4**

*Características y funciones de la célula de Langerhans en su recorrido desde la piel hasta el ganglio linfático*



*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

**Vías de procesamiento antigénico**

Cuando nos referimos al procesamiento antigénico podemos describir tres tipos principales, *vías exógena, endógena* y *cruzada*. Una cuarta forma es la *vía Cd1* que es específica para glucolípidos y lipopéptidos y relacionada a la inmunidad innata.

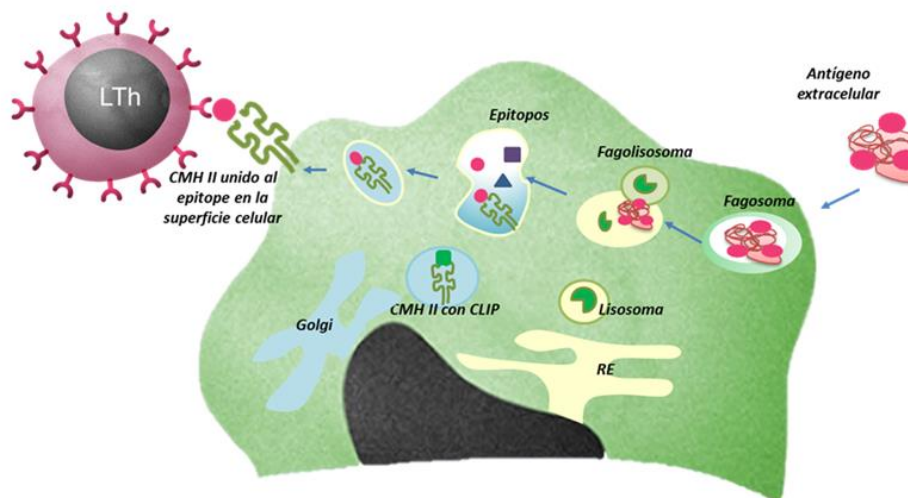
La vía exógena solo pueden realizarla las CPA y permite procesar y presentar bacterias y toxinas extracelulares, así como, bacterias y parásitos de vida intracelular o intravacuolar como *Micobacterium, Brucella, Listeria, Leishmania, Toxoplasma*. La vía endógena pueden hacerla todas las células nucleadas, incluidas las CPA. Su función fisiológica es el procesamiento de proteínas propias y en el contexto de activación inmune, es la vía de procesamiento de proteínas

extrañas de origen viral, u otros microorganismos de vida intracitoplasmática. Por último, la vía cruzada, solo pueden llevarla a cabo las células dendríticas.

**Vía Exógena:** Como se describió previamente las CPA como las células dendríticas y los macrófagos pueden realizar endocitosis de un antígeno extracelular como una bacteria, con la formación de un fagosoma que, al fusionarse con un lisosoma, degrada el microorganismo con enzimas proteolíticas, dentro de una nueva estructura vesicular, el fagolisosoma. Algunos de los fragmentos obtenidos como pequeños péptidos, serán epitopos que podrán ser presentados en el contexto del CMH II. La vesícula conteniendo los epitopos y la vesícula que contiene al CMH II, que está unido a una *cadena invariante (Li)*, se fusionarán ocurriendo cambios de pH (bajo) en el interior de los endosomas, lo que favorecerá la degradación de la cadena *Li* por proteasas, quedando solo un péptido denominado *clip* que será finalmente desplazado, permitiendo la unión con el epitopo específico. Finalmente, el CMH II unido a su epitopo específico migrarán hacia la superficie de la célula para ser presentado a los linfocitos T colaboradores o *helper (Th)*.

**Figura 5.5**

*Esquema de la vía de procesamiento exógena*



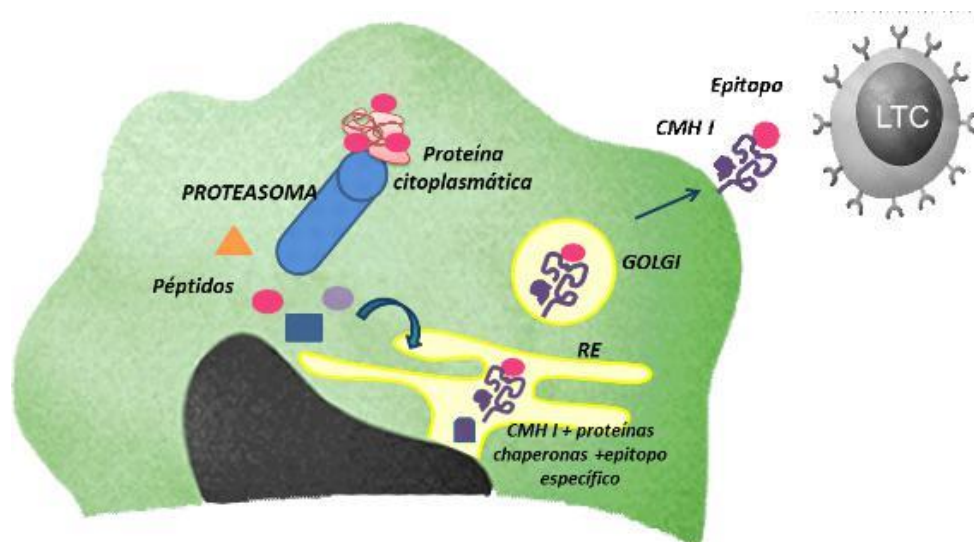
*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

**Vía Endógena:** Es importante en el procesamiento de proteínas virales y citoplasmáticas anormales o envejecidas. Éstas serán marcadas con una proteína llamada ubiquitina y quedarán “señaladas” indicando que es necesaria su degradación. La fragmentación en pequeños péptidos ocurrirá en el *proteasoma*, que es una estructura citoplasmática catalítica a la cual ingresarán proteínas enteras y se transformarán en pequeños péptidos. Los epitopos unidos a las proteínas TAP (transportadoras) atravesarán la pared de retículo endoplasmático rugoso (RER) hacia el interior donde se estarán sintetizando simultáneamente las cadenas polipeptídicas del CMH I.

Gracias a las *proteínas chaperonas* y de acuerdo a su especificidad, el epitopo se unirá a la porción variable del CMH I en el interior del RER, y así atravesará el aparato de Golgi para finalmente ser expuesto a los linfocitos Tcitotóxicos (LTc) en la superficie de la célula, quienes lo reconocerán a través del TCR.

### Figura 5.6

*Esquema de la vía de procesamiento endógena*

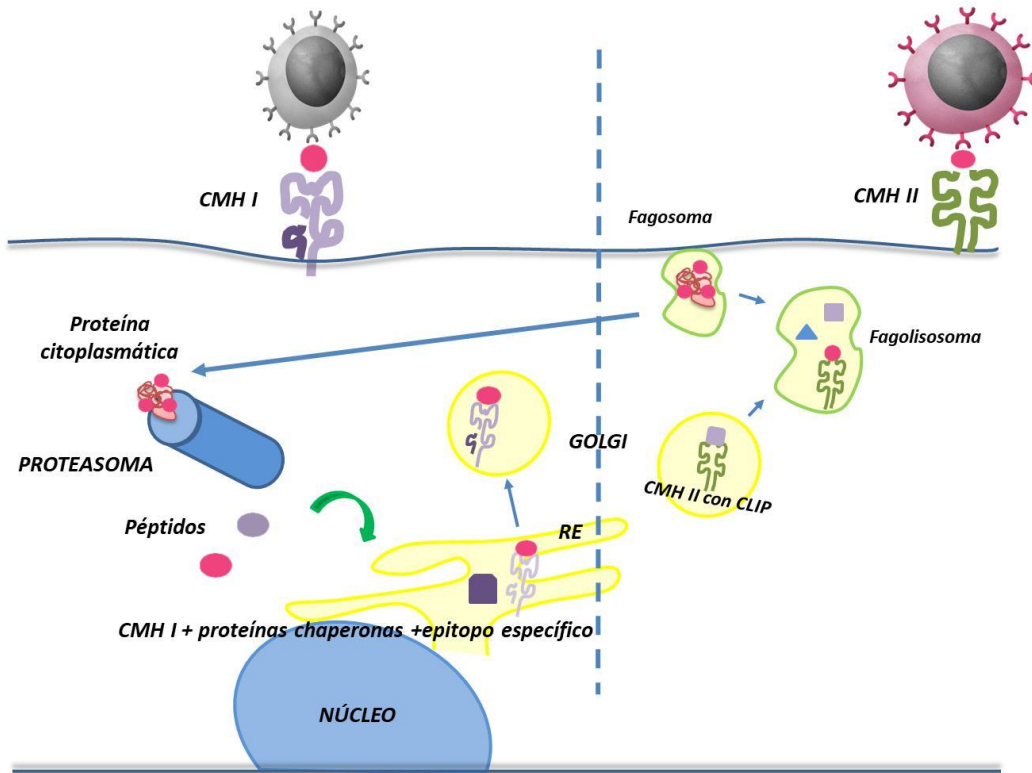


*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

La *vía de procesamiento cruzada* sólo puede ser realizada por las células dendríticas, siendo una vía importante para los patógenos de vida intracelular que viven en vacuolas y de esa forma están protegidos siendo capaces de evadir los mecanismos comunes de degradación/eliminación. La célula dendrítica inicia esta vía de procesamiento como una *vía exógena*. Por ejemplo, los cuerpos apoptóticos resultantes de células infectadas por microorganismos de vida intracelular pueden ser internalizados por esta vía. Ciertas proteínas escapan desde el endosoma temprano hacia el citosol y este salto representa la *vía cruzada*, nexa entre la *vía exógena* y la *vía endógena*. Estas proteínas traslocadas al citoplasma son señaladas para ser degradadas en el *proteasoma* (vía endógena). De este modo algunos microorganismos pueden ser presentados asociados por un lado al CMH II y por otro al CMH I permitiendo la activación de los linfocitos LTh y LTc simultáneamente induciéndose una respuesta inmune celular muy importante para los microorganismos de estas características.

**Figura 5.7**

*Esquema del desarrollo de la vía cruzada en una célula dendrítica*

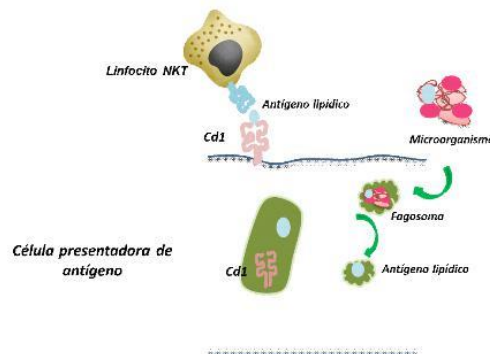


*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

*Presentación con Cd1:* Esta vía solo puede ser realizada por las CPA con el fin de degradar antígenos compuestos por glucolípidos y lipopéptidos en los fagolisosomas, que se asociarán en el interior del RER con una molécula denominada Cd1 (estructura compuesta por una cadena  $\alpha$  asociados a  $\beta 2m$ , sintetizada en el RER del mismo modo que los CMH I y CMH II pero que reconoce específicamente antígenos con una porción lipídica y otra hidrofóbica) para ser presentados a las células NKT.

**Figura 5.8**

*Esquema del procesamiento por vía Cd1*



*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images



## CAPÍTULO 6

### Inmunidad mediada por células

*Magdalena Rambeaud y María Cecilia Venturini*

Ya hemos mencionado en capítulos anteriores, que cuando un patógeno (virus, bacteria, parásito, hongo) ingresa al organismo, se ponen en marcha de forma inmediata mecanismos de la inmunidad innata que intentarán frenar esa infección, generalmente de forma muy eficiente. Sin embargo, si estos mecanismos no logran contener el proceso infeccioso, debe ponerse en marcha la respuesta inmune adaptativa. A diferencia de las células de la inmunidad innata, las células de la inmunidad adaptativa (tanto los linfocitos T como los linfocitos B), poseen receptores extremadamente diversos y de altísima especificidad. Cada linfocito T o B, expresa en su superficie múltiples copias de un mismo receptor (TCR y BCR, respectivamente), es decir, con similar especificidad, distinta de la del resto de los linfocitos. Debido a que existen muy pocos linfocitos específicos para cada epitopo, es necesario que, ante el ingreso de un antígeno determinado, ocurra la proliferación de la población de linfocitos específica para ese antígeno, proceso denominado expansión clonal (ver más adelante).

#### Encuentro de los linfocitos T con su epitopo específico

Al establecerse un foco infeccioso, junto con la puesta en marcha de los distintos mecanismos efectores de la inmunidad innata, las células dendríticas allí presentes toman contacto con los patógenos y sufren un proceso de *maduración* y migración hacia los órganos linfáticos secundarios. Durante este proceso de maduración, van procesando al antígeno endocitado, para luego presentarlo a los linfocitos T en dichos órganos. Es allí, en los órganos linfáticos secundarios, donde ocurre el contacto del antígeno (más específicamente, de los epitopos) con los linfocitos T para su activación y puesta en marcha de la respuesta inmune mediada por células.

Las células dendríticas cumplen un rol esencial en la puesta en marcha de la respuesta inmune adaptativa. Cuando se encuentran en los tejidos periféricos son denominadas *células dendríticas inmaduras*. Ellas contactan con el patógeno en los tejidos, donde presentan una alta capacidad endocítica, gran expresión de RRP's y alta capacidad de procesamiento de antígenos. Una vez que internalizan al patógeno y comienzan a procesarlo, migran hacia los órganos linfáticos secundarios. Durante este proceso de migración sufren una diferenciación a *células*



*dendríticas maduras*, las cuales presentan una alta capacidad de presentación de epitopos a través del CMH en su superficie, y, sobre todo, alta expresión de moléculas de co-estímulo, indispensables para la activación de los linfocitos T (Figura 5.4).

Ahora bien, la probabilidad de que un linfocito T específico para determinado epitopo, se encuentre con la célula dendrítica madura que lo esté expresando en cierto ganglio linfático regional, es extremadamente baja. Para maximizar esta probabilidad, ocurren dos procesos: por un lado, la recirculación constante de los linfocitos a través de la sangre, y su extravasación continua en distintos órganos linfáticos secundarios, a través de las *vénulas de endotelio alto*. Estas estructuras vasculares especializadas, le permitirán al linfocito T virgen ingresar al parénquima del órgano linfático secundario, ya que expresan en su endotelio moléculas de adhesión especiales (GlyCAM1, CD34), conocidas como *adresinas* vasculares (de la palabra en inglés “address”, direccionar) que permiten a los linfocitos T vírgenes adherirse y extravasarse en ese lugar. Por otro lado, una vez una vez ubicados en el parénquima del órgano, los linfocitos T estarán sensando continuamente la superficie de las células dendríticas maduras allí presentes, en busca de su epitopo específico. Este proceso se ve favorecido por moléculas de adhesión de la familia de las integrinas presentes en la superficie de los linfocitos T (LFA-1) y de las células dendríticas (ICAM 1 y 2), cuya interacción permite al linfocito T “enlentecer” su marcha sobre la superficie de la célula dendrítica y constatar, a través de su TCR, si dicha célula expresa su epitopo específico.

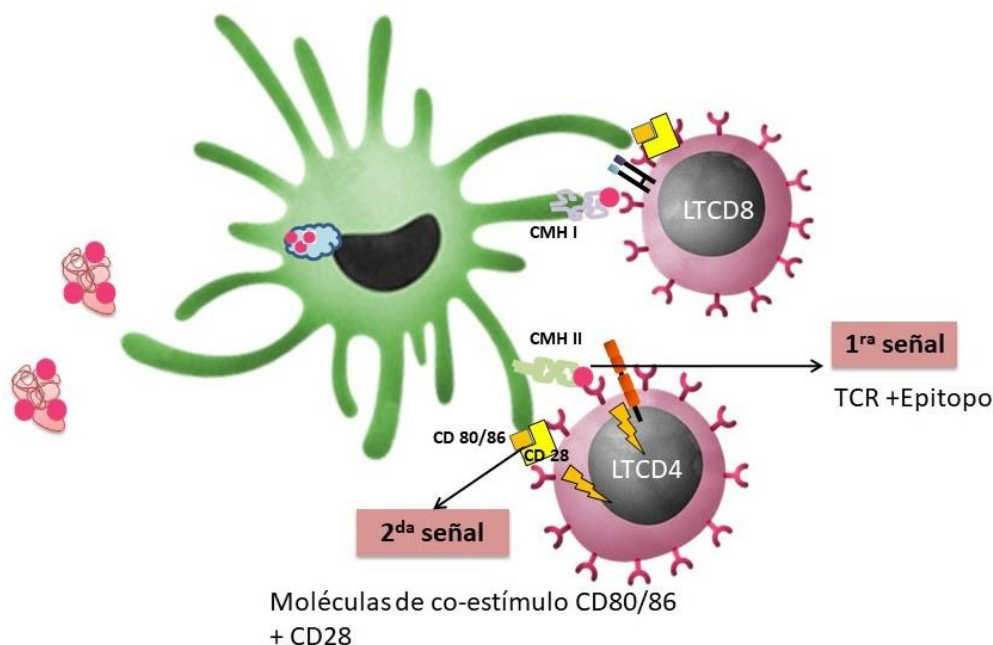
## Activación de los linfocitos T vírgenes

Para ejercer su función, los linfocitos T vírgenes deben sufrir un proceso de activación, el cual es esencial para montar una respuesta inmune adaptativa completa. Ocurre en los órganos linfáticos secundarios, y tiene tres grandes consecuencias: 1- la *expansión clonal* del linfocito activado: si bien existen millones de linfocitos con diferente especificidad en su TCR, no existen muchos linfocitos específicos para cada epitopo, por lo cual ante el ingreso de un antígeno determinado, deben proliferar puntualmente los linfocitos específicos para ese antígeno; 2- la generación de *linfocitos T efectoras*, es decir, las células que van a cumplir la función específica; y 3- la generación de *linfocitos T de memoria*, una población celular que ante un posterior contacto con el antígeno estará lista para responder de forma más rápida y eficiente.

La activación de los linfocitos T vírgenes requiere de 2 señales (Figura 6.1). La primera señal está dada por el contacto del TCR con su epitopo específico presentado por el CMH en la célula dendrítica. La segunda señal ocurre por contacto entre las moléculas de co-estímulo CD80/86 presentes en la célula dendrítica con la molécula CD28 presente en el linfocito T. A partir de esta segunda señal, ocurre primeramente la expansión clonal del linfocito, y su posterior diferenciación a células efectoras y de memoria. Es importante destacar que la célula dendrítica madura, es la única célula presentadora de antígeno capaz de activar a los linfocitos T vírgenes gracias a su elevada expresión de moléculas de co-estímulo.

**Figura 6.1**

*Señales necesarias para la activación de los linfocitos T vírgenes*



*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

Para que la expansión clonal no ocurra de forma desmedida o exacerbada, existe un mecanismo de regulación negativa que involucra la expresión de una molécula en la superficie de los linfocitos T activados, denominada CTLA-4, que es expresada luego de 3 o 4 días desde la activación. Esta molécula interactúa con las moléculas de co-estimulo expresadas en la célula dendrítica y envía una poderosa señal inhibitoria al linfocito, frenando la expansión clonal. Tiene, además, mayor afinidad por CD80/86 que la molécula CD28, compitiendo con ésta, deteniendo así la proliferación.

## Generación de linfocitos T efectores

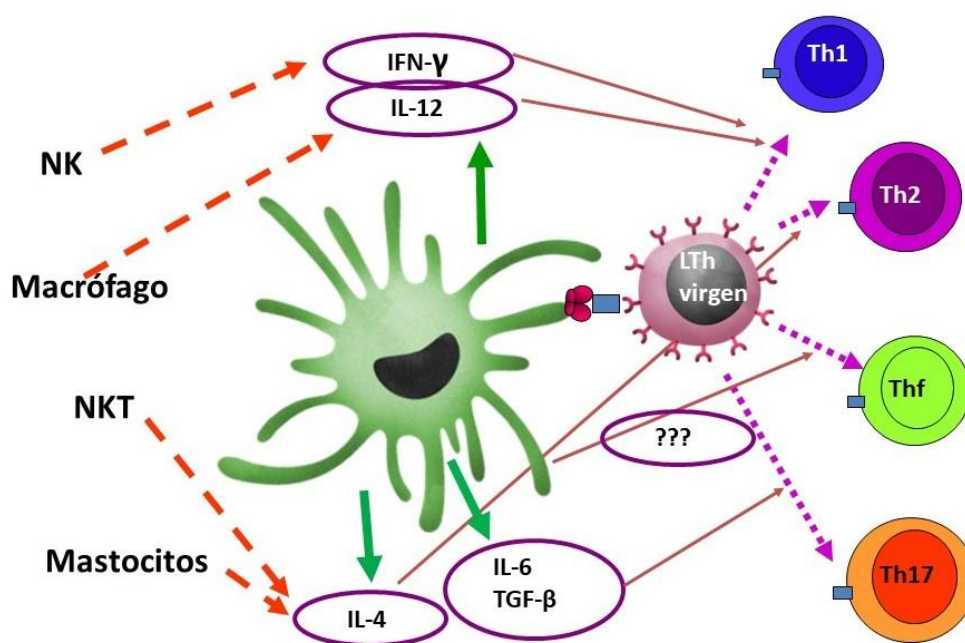
### Linfocitos T CD4 o helper (LTh) efectores

Existen distintas subpoblaciones de LTh efectores: LTh1, LTh2, LT17, LTh foliculares (LThF), y LTh reguladores. Todos los LTh efectores cumplen su función mediante la producción de citocinas. La diferencia entre las distintas subpoblaciones es el patrón de citocinas, es decir, el grupo de citocinas que cada una produce, lo cual determina distintas funciones en la respuesta inmune.

La diferenciación hacia una u otra subpoblación luego de la activación del Linfocito Th virgen, dependerá principalmente de las citocinas producidas por la célula dendrítica que contacta con ese linfocito Th (y de otras células accesorias presentes en el foco infeccioso y en el órgano linfático secundario, como las células NK, NKT, macrófagos, mastocitos) Esto último, a su vez estará relacionado con el tipo de patógeno que esté causando la infección, mediante la activación de distintos RRP's según los PAMPs presentes en ese microorganismo (Figura 6.2). Así, en el caso de que la citocina secretada por la célula dendrítica sea la IL-12, se generarán LTh efectores con un perfil Th1; si predomina la producción de IL-4 se generará un perfil Th2, y si predomina la IL-6 se generará un perfil LTh17. Aún no se conoce claramente cuál es la citocina que induce la diferenciación a un perfil ThF; se cree que esta diferenciación está relacionada con la intensidad de la unión del TCR con el epítipo presentado por el CMH en la célula dendrítica, y luego en el momento de su acción efectora, cuando el LTh efector contacta con el linfocito B.

**Figura 6.2**

*Generación de las distintas subpoblaciones de linfocitos T helper efectores*



*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

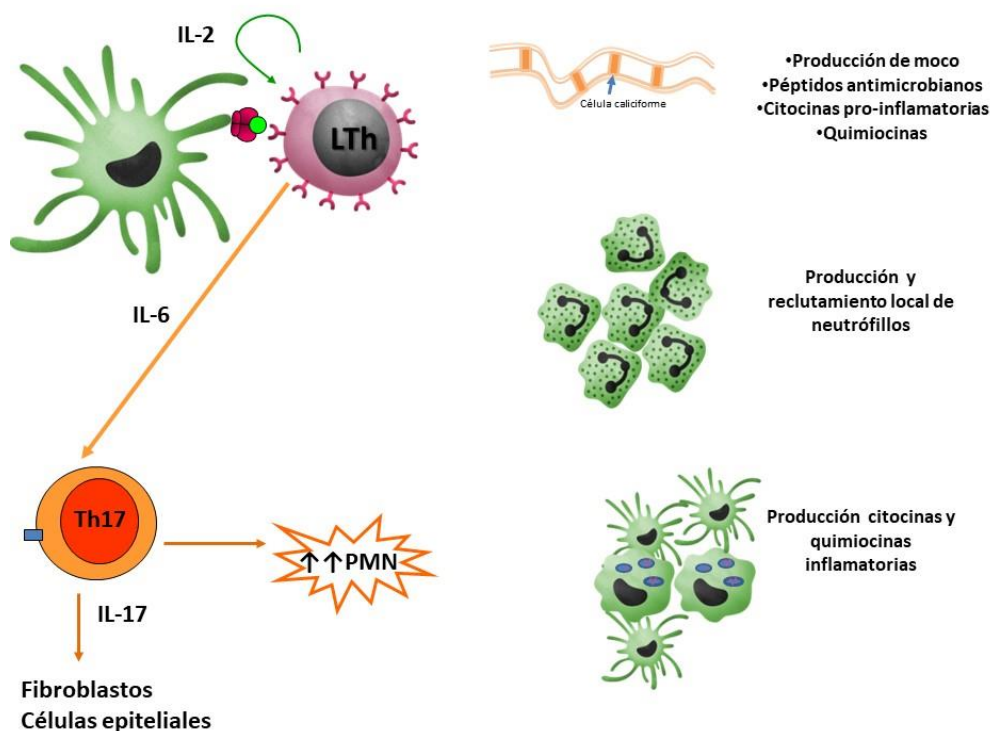
### Linfocitos Th17

Bajo influencia de la IL-6, ocurre la diferenciación del LTh virgen a linfocitos Th17, los cuales salen del órgano linfático secundario para dirigirse al foco infeccioso. Al contactar con su epítipo específico presentado por células dendríticas y macrófagos allí presentes, producen distintas citocinas, principalmente IL-17, que actuará sobre los fibroblastos y células epiteliales, potenciando distintos mecanismos proinflamatorios (Figura 6.3). La IL-17 y otras citocinas producidas por los LTh17 estimulan la producción de mucus por las células caliciformes, la

generación de péptidos antimicrobianos, y la producción de citocinas proinflamatorias y de quimiocinas por las células epiteliales, los macrófagos y células dendríticas, que favorecerán la migración de fagocitos al foco infeccioso. También estimulan la producción y liberación de neutrófilos a desde la médula ósea y su reclutamiento a nivel local. Por lo tanto, la función principal de esta población de linfocitos es favorecer, sobre todo en los estadíos iniciales de la infección, distintos mecanismos de la respuesta inflamatoria.

**Figura 6.3**

*Mecanismo de acción de los linfocitos Th17*



*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

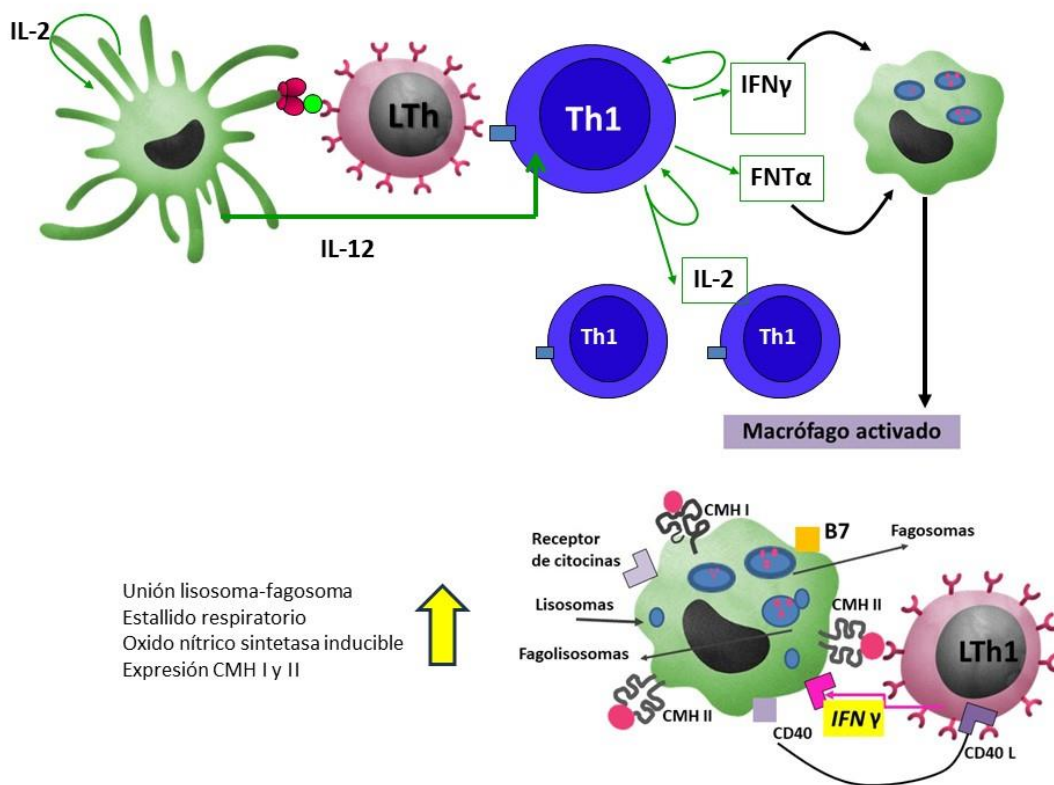
### Linfocitos Th1

Si el LTh activado se diferencia a un perfil Th1, principalmente bajo la influencia de la IL-12 generada por las células dendríticas que causaron su activación, producirá fundamentalmente IL-2, FNT- $\alpha$  e interferón  $\gamma$ , siendo esta última, la citocina emblemática de este perfil linfocitario. Dentro de sus numerosas funciones, se destaca particularmente la capacidad de *activación del macrófago*, la cual es necesaria para la eliminación de ciertos patógenos de vida endocelular, y más especialmente, de vida intravacuolar, como por ejemplo *Brucella abortus*, *Mycobacterium bovis*, *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Leishmania* spp., entre otros. Por lo tanto, los LTh1 efectores, llegan al foco infeccioso y contactan nuevamente con su epitopo específico

presente en los macrófagos infectados, liberando las citocinas mencionadas anteriormente. El macrófago activado por estas citocinas, sobre todo el interferón  $\gamma$ , sufre una potenciación de distintos mecanismos microbicidas: incrementa su capacidad de unión de lisosomas con el fagosoma, aumenta notablemente el estallido respiratorio, la generación de radicales libres y de metabolitos derivados del nitrógeno, mediante la activación del óxido nítrico sintetasa inducible. Los macrófagos activados también expresan gran cantidad de moléculas del CMH I y II, lo cual favorece la continua interacción con los linfocitos Tefectores (Figura 6.4).

**Figura 6.4**

*Mecanismo de acción de los linfocitos Th1*



*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

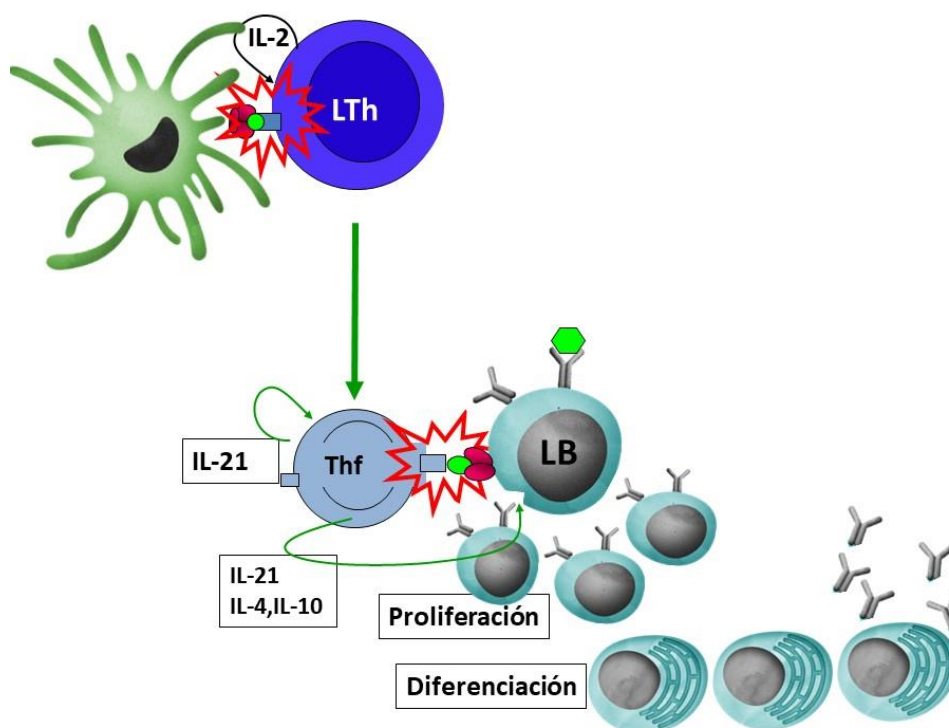
### Linfocitos Th foliculares

El LTh activado puede diferenciarse también a un perfil Th folicular (ThF). No se conoce exactamente el estímulo responsable de la diferenciación a este perfil; se cree que está relacionado con la intensidad de la unión del TCR con el epítopo presentado por el CMH en el momento de la activación por parte de la célula dendrítica, y también, cuando el mismo epítopo es presentado por el linfocito B. Los linfocitos ThF efector, son los responsables de generar el fenómeno conocido como *colaboración T-B*, esencial para el desarrollo de la respuesta inmune

mediada por anticuerpos. Para que ocurra este fenómeno, el linfocito B contacta con su antígeno específico a través de su BCR, lo internaliza y lo procesa por vía exógena, para luego presentar al epítopo a través del CMH II. Entonces, el LThF reconoce a través de su TCR al epítopo, produciendo las citocinas que favorecen la proliferación y diferenciación de los linfocitos B a células plasmáticas productoras de anticuerpos específicos para ese antígeno (Figura 6.5).

### Figura 6.5

*Mecanismo de acción de los linfocitos Th foliculares*



*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

### Linfocitos Th2

La presencia de IL-4 favorece la diferenciación de los LTh a un perfil Th2, productores de IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13, que cumplen un importante rol en las infecciones por parásitos helmintos y en procesos alérgicos (Figura 6.6).

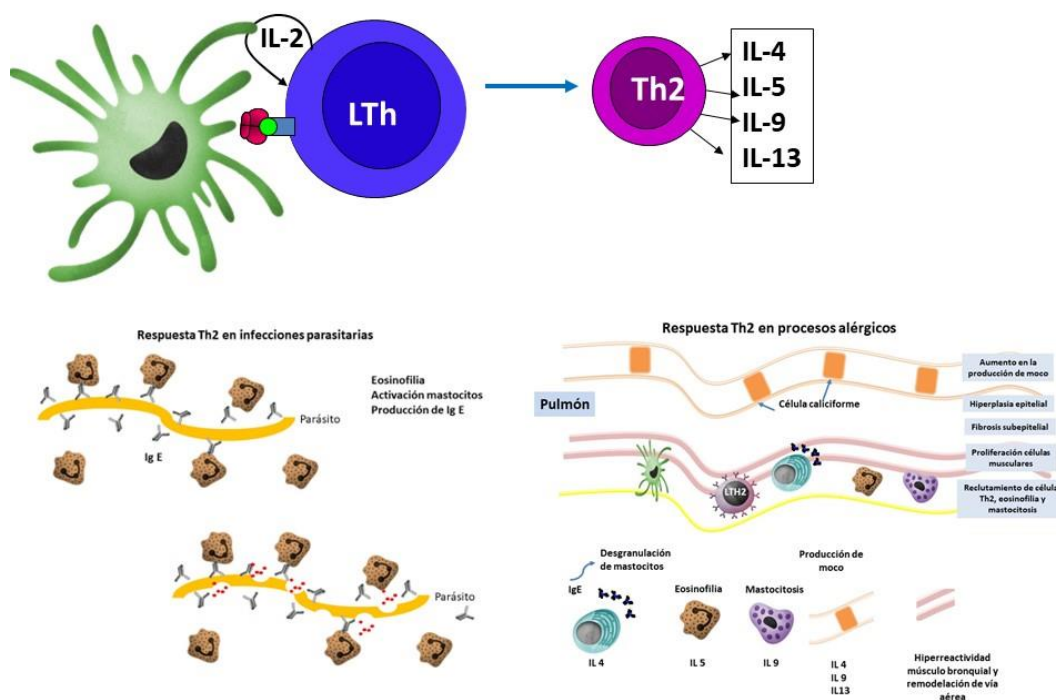
Los LTh2 favorecen la producción de eosinófilos desde la médula ósea, su posterior activación, y también estimulan en los linfocitos B activados, un cambio de isotipo a inmunoglobulina de isotipo E. En las infecciones parasitarias, la inmunoglobulina E se une a la superficie de los parásitos, y luego los eosinófilos contactan con ella a través de receptores Fcε presentes en su membrana, lo cual desencadena la liberación de sus gránulos que contienen enzimas y radicales libres, sobre el parásito. Los LTh2 tienen particular relevancia en los procesos alérgicos (ver capítulo 9), ya que las citocinas producidas por ellos estimulan la producción de inmunoglobulina E y la consecuente activación y degranulación de los mastocitos,



y otros mecanismos como la activación de eosinófilos, producción de mucus por las células caliciformes y contracción del músculo liso de vías respiratorias y digestiva.

**Figura 6.6**

*Mecanismo de acción de los linfocitos Th2*



*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

### Generación de linfocitos T CD8 o citotóxicos (LTc) efectores

Las señales necesarias para la activación de los LTc son las mismas que para la activación de los LTh; pero en el caso de los LTc, la segunda señal, dada por las moléculas de co-estímulo, debe ser de mayor magnitud. Al igual que en el caso de los LTh, luego de su activación, ocurre la expansión clonal y la diferenciación a LTc efectores y de memoria. Los LTc efectores, salen del órgano linfático secundario y se dirigen a los tejidos infectados para cumplir su función, mediante un mecanismo *secretor* (producción de citocinas, especialmente interferón  $\gamma$ ), y un mecanismo *citotóxico* (generando la muerte por apoptosis de la célula infectada). Para ello, el LTc deberá reconocer a la célula infectada contactando nuevamente con su epítopo específico presentado por el CMH I, en la superficie celular.

El mecanismo citotóxico utilizado por los LTc es similar al empleado por las células NK (ver capítulo 3). Luego del contacto entre el TCR y el epítopo, se liberan gránulos presentes en el LTc

efector, que contienen en su interior granzimas y perforinas, las cuales, unidas a una proteína transportadora denominada serglycina, penetran en la célula blanco. Una vez allí, las perforinas desestabilizan la membrana de la vacuola, permitiendo la salida de las granzimas al citoplasma, que activan el sistema de caspasas, las cuales a su vez activan una DNAsa que fragmentará el ADN y resultará en la muerte por apoptosis. También los LTc pueden generar la muerte por apoptosis mediante el sistema Fas- FasL. Una vez que el LTc descargó el contenido de sus gránulos en una célula blanco, se separa de ésta y puede volver a reconocer y matar otras células infectadas. Por lo tanto, un solo LTc efector puede inducir la muerte de muchas células infectadas, conformando un mecanismo muy eficaz de eliminación.



# CAPÍTULO 7

## Inmunidad mediada por anticuerpos

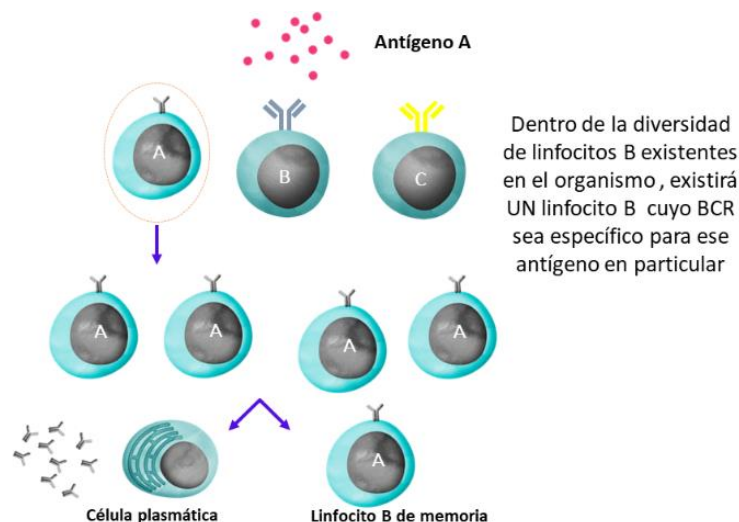
*Lucía María Campero*

### Generalidades: especificidad y origen del BCR

La respuesta inmune adaptativa es específica frente a una gran diversidad de epitopos presentes en los microorganismos. La capacidad de un hospedador inmunocompetente de generar una respuesta adaptativa específica para un epítipo en particular refleja uno de los enunciados de la *Teoría de Selección Clonal* que postula que cada linfocito B posee múltiples copias de un mismo receptor BCR que es *único y específico* para una determinada sustancia extraña (Figura 7.1). Sobre la base de este postulado se sustenta la respuesta inmune mediada por anticuerpos, también denominada inmunidad humoral.

#### Figura 7.1

*Representación de la teoría de selección clonal*



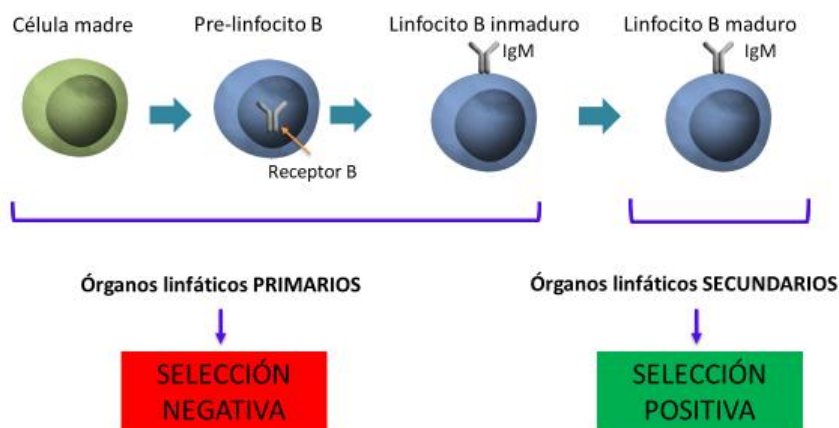
*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

Las células de la inmunidad humoral comprenden a los linfocitos B (B2). Se originan en la médula ósea, a partir de una célula madre proveniente de la línea linfoide, que derivará en la formación de un *prelinfocito B*. En su interior se sintetiza el receptor BCR que será expresado en

su superficie, denominándose al estadio como *linfocito B inmaduro*. Deberá atravesar un proceso de **SELECCIÓN NEGATIVA** que ocurrirá en la misma médula ósea (Figura 7.2). Durante este proceso se expondrán epitopos propios al BCR recientemente sintetizado y se evaluará el tipo de respuesta generada. En caso de que el BCR reconociera al epitopo propio, implicaría que su BCR es autorreactivo y, por ende, incapaz de discriminar lo propio de lo no propio (extraño). Sin embargo, el sistema inmune le otorgará una nueva oportunidad al linfocito para re-editar su BCR y se evaluará nuevamente el tipo de respuesta generada frente al epitopo propio. Si continuara reconociendo como extraño a epitopos propios, ese linfocito B será eliminado por apoptosis, ya que su presencia en circulación podría resultar en daño al desencadenar una respuesta autoinmune. Este proceso de eliminación de linfocitos potencialmente autorreactivos tiene como principal objetivo garantizar la circulación de linfocitos B con receptores BCR funcionales. Una vez que el linfocito B atraviese el proceso de selección negativa, pasará al estadio de *linfocito B maduro* y se dirigirá por sangre a los órganos linfáticos secundarios, siendo estos sitios en donde cumplirá la función de contactar con el antígeno que exprese el epitopo específico para su BCR, y generar de este modo una respuesta inmune. Un hospedador posee tantos linfocitos con BCRs específicos como epitopos pudiera contactar a lo largo de su vida, reflejando de este modo la *especificidad* de la respuesta inmune adaptativa.

**Figura 7.2**

*Origen y edición del BCR*



*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

## Circulación del linfocito B en el ganglio linfático

La respuesta inmune humoral se desencadenará cuando un linfocito B virgen contacte con su epitopo a través de su BCR. A continuación, se describirá la respuesta inmune humoral generada en el ganglio linfático, siendo similar para el resto de los órganos linfáticos secundarios.

El ganglio linfático (Figura 4.2.A) posee zonas delimitadas funcionalmente con tipos celulares característicos. La *corteza*, ubicada en la zona externa del ganglio linfático, es una zona B o timoindependiente, donde los linfocitos B representan el principal tipo celular. Éstos se encuentran organizados en *folículos primarios*, donde aguardan contactar con su epítopo específico, condicionado exclusivamente por su BCR. La *paracorteza*, ubicada inmediatamente por debajo de la corteza, es una zona T o timodependiente, y allí predominan los linfocitos T y las células dendríticas maduras. En la paracorteza se encuentran las vénulas de endotelio alto, que permiten el ingreso exclusivo de linfocitos B y T vírgenes a los órganos secundarios. Constantemente ocurren procesos quimiotácticos denominados *homing* o recirculación, donde los linfocitos vírgenes circulan ingresando por las vénulas de endotelio alto en los órganos linfáticos secundarios en búsqueda de su epítopo específico. La zona más interna del ganglio linfático es la *médula*, donde se encuentra el hilio del órgano por el cual salen la vía linfática eferente y los vasos sanguíneos.

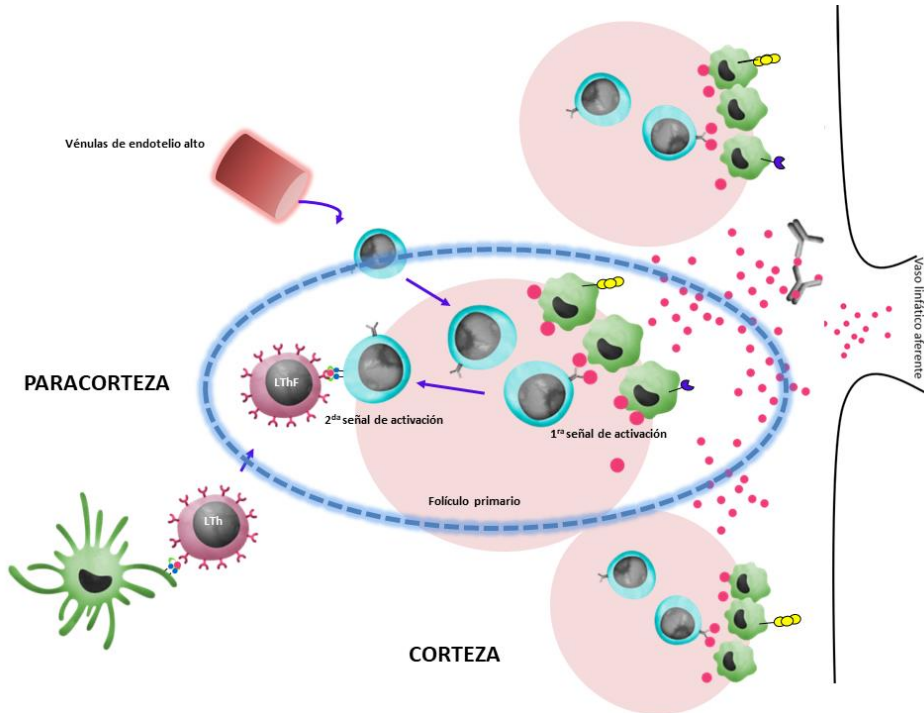
Mientras que los linfocitos B vírgenes ingresan al ganglio linfático por las vénulas de endotelio alto y para ubicarse en los folículos primarios de la corteza, los antígenos lo harán por las vías linfáticas aferentes. Desde allí, tomarán contacto con los *macrófagos subcapsulares* encargados de filtrar la linfa. Los antígenos de pequeño tamaño podrán atravesar esta malla de macrófagos sin dificultad, sin embargo, aquellos antígenos de mayor tamaño deberán hacerlo adhiriéndose a la superficie de los macrófagos (quienes están dotados de una gran diversidad de receptores para tal fin). Estos macrófagos subcapsulares carecen de capacidad fagocítica y no expresan moléculas del CMH II.

## Activación de los linfocitos B vírgenes

El contacto del BCR de un linfocito B con su epítopo específico desencadenará la *primera señal de activación* (Figuras 7.3- 7.4). El linfocito B reconocerá epítopos en su conformación nativa, es decir, tal como están presentes en la naturaleza, ya sean epítopos conformacionales o lineales (estos últimos, sólo si se están expuestos en la superficie del patógeno). A diferencia de la activación de un linfocito T, los linfocitos B no requerirán de una célula presentadora de antígeno para su activación. Al recibir esta señal, el linfocito B procesará el antígeno por vía exógena y lo presentará bajo la forma de epítopo lineal (ya procesado) a un linfocito ThF. Esta interacción se denomina *segunda señal de activación* o *colaboración T-B* (Figuras 7.3- 7.4).

**Figura 7.3**

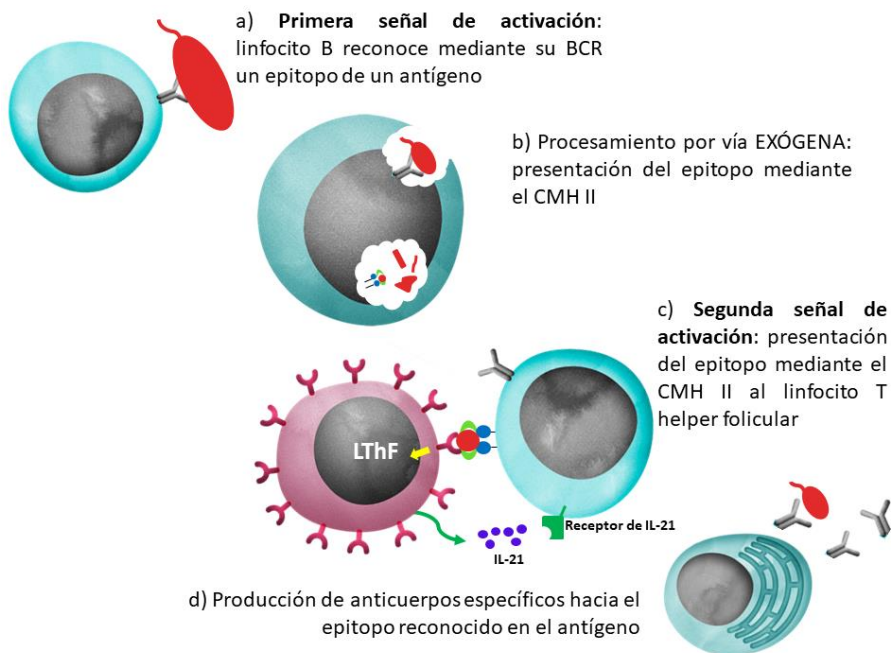
*Activación del linfocito B en la corteza*



*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

**Figura 7.4**

*Detalle de las 2 señales de activación del linfocito B*



*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

Esta colaboración estará dada por una cooperación mutua: el linfocito B le presentará el epítipo al LThF y consecuentemente, el LThF secretará citocinas (ej. IL-21) que permitirán la activación completa del linfocito B. Es necesario que se desencadenen las dos señales para que un linfocito B virgen se active. La colaboración T-B ocurrirá en el borde del folículo primario a través de procesos quimiotácticos que aseguran la interacción entre ambas células. Cabe recordar que un LThF se diferenció en dicho perfil a partir de un contacto inicial con una célula dendrítica (ver capítulo 6), que procesó y presentó un epítipo lineal idéntico a aquel que le está presentando el linfocito B en la colaboración T-B, fenómeno que nuevamente refleja la especificidad de la respuesta inmune adaptativa.

### Procesos que ocurren dentro del centro germinativo

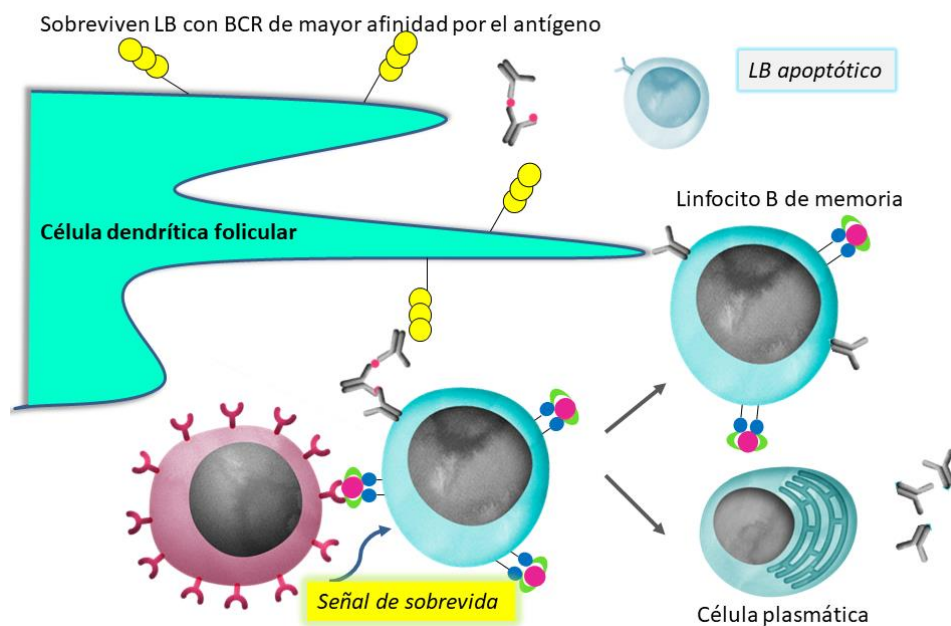
La mayoría de los linfocitos B activados atravesarán un conjunto de procesos que conllevarán a la diferenciación en células plasmáticas secretoras de anticuerpos, o en linfocitos B de memoria. El primer proceso que sucederá a la activación del linfocito B es la **expansión clonal**, donde se generarán clones idénticos al linfocito B recientemente activado, con BCR específicos para un epítipo determinado (aquel que lo activó en la primera señal de activación). Tras múltiples procesos mitóticos, se generará un *centro germinativo* y con ello la formación del *folículo secundario*. Estos clones atravesarán el proceso de **hipermutación somática**, que afectará a las regiones hipervariables de las cadenas pesadas y livianas del BCR. Éstas mutaciones a nivel genético son azarosas, y generarán la modificación en la expresión de los aminoácidos presentes en la región hipervariable del BCR. Así, podrá ocurrir que la mutación favorezca la unión del BCR al epítipo aumentando de este modo su afinidad, o bien podrá ser una mutación perjudicial que impida una correcta unión del receptor BCR al epítipo.

Toda célula plasmática producirá anticuerpos idénticos al receptor BCR del linfocito B del cual se diferenció. Por ello, un linfocito B que sufrió una mutación perjudicial en la conformación de su BCR durante el proceso de hipermutación somática deberá ser eliminado, ya que si se diferenciase a célula plasmática produciría anticuerpos que no se unirían con afinidad al epítipo e implicaría un gasto energético en la economía celular del hospedador. Entonces ocurre el proceso de **selección positiva**, donde se pondrá a prueba al BCR tras haber sufrido las mutaciones (Figura 7.5). Este proceso estará mediado por una célula dendrítica folicular presente en los centros germinativos que, a diferencia de la célula dendrítica “convencional”, no procesará antígenos, sino que éstos están adheridos en su superficie. El linfocito B censará sobre la superficie de las células dendríticas foliculares su epítipo y si su BCR sufrió una mutación beneficiosa tendrá una elevada afinidad hacia el epítipo, y será capaz de capturarlo y procesarlo nuevamente por vía exógena para volver a presentarlo a un LThF. Es decir que ocurre una *segunda colaboración T-B*, donde el LThF le otorga una señal de supervivencia al linfocito B. En cambio, si la mutación ocurrida en el BCR resultó perjudicial, el linfocito B será incapaz de

reconocer el epítopo y procesarlo, por lo que no recibirá la señal de supervivencia al no interactuar con un LThF, y está destinado a morir por anergia y apoptosis.

**Figura 7.5**

*Selección positiva o segunda colaboración T-B*



*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

Los linfocitos B que son seleccionados positivamente atravesarán el último proceso denominado **cambio de isotipo** donde se modificará la región constante de las cadenas pesadas del BCR. Esta región determinará las funciones del anticuerpo que se secretará. El BCR de un linfocito B virgen es una IgM monomérica con cadenas pesadas  $\mu$ , pero el cambio de isotipo provocará un cambio en esta secuencia. Por ejemplo, si ocurriese un cambio de isotipo hacia la IgG, la cadena  $\mu$  será reemplazada por una cadena  $\gamma$ . Si el cambio de isotipo fuera hacia una IgA, la cadena  $\mu$  será reemplazada por una cadena  $\alpha$ . En última instancia, el cambio de isotipo dependerá del microorganismo en cuestión que determinará qué isotipo que es necesario sintetizar.

Si bien la mayoría de los linfocitos B activados atravesarán los procesos recientemente descritos, cuando ocurre una primoinfección, es decir, un primer contacto con el antígeno, un porcentaje de linfocitos B activados escaparán de ellos y se diferenciarán a células plasmáticas productoras de IgM. De este modo se garantiza una rápida producción de anticuerpos en los

estadios iniciales de la infección, que serán de isotipo M, debido a que el BCR en dichos linfocitos no sufrió cambio de isotipo.

## Diferenciación a célula plasmática secretora de anticuerpos

Tras haber atravesado los 4 procesos recientemente descritos en el centro germinativo, el linfocito estará en condiciones de diferenciarse a *célula plasmática* o a *linfocito B de memoria*. Si se diferenciara a célula plasmática egresará del ganglio linfático por los vasos sanguíneos y se dirigirá a la médula ósea. Este sitio es el único que está dotado de nichos tróficos que garantizan su supervivencia. Ubicados allí secretarán a circulación las inmunoglobulinas que serán idénticas al BCR del linfocito B del cual se diferenció, es decir: de elevada afinidad hacia el epitopo como consecuencia del proceso de hipermutación somática y de un isotipo que fue determinado en el centro germinativo. Esta célula plasmática tendrá un RER hiperdesarrollado ya que su principal función será la síntesis y secreción de anticuerpos. Carecerá de BCR y de capacidad de expresar moléculas del CMH de tipo II.

## Diferenciación a linfocito B de memoria

Si el linfocito B se diferenciara a linfocito B de memoria, la principal función será la de recircular mediante *homing* entre los órganos linfáticos secundarios en constante búsqueda de su epitopo específico. El linfocito B de memoria tendrá un BCR hipermutado que además cambió de isotipo, por lo que, si en algún momento de la vida del animal volviese a contactar con ese mismo antígeno que determinó su diferenciación, se generará una respuesta inmune humoral mucho más eficiente y rápida, produciendo anticuerpos de isotipo y afinidad elevadas para ese epitopo en particular.

## Respuesta inmune primaria y secundaria

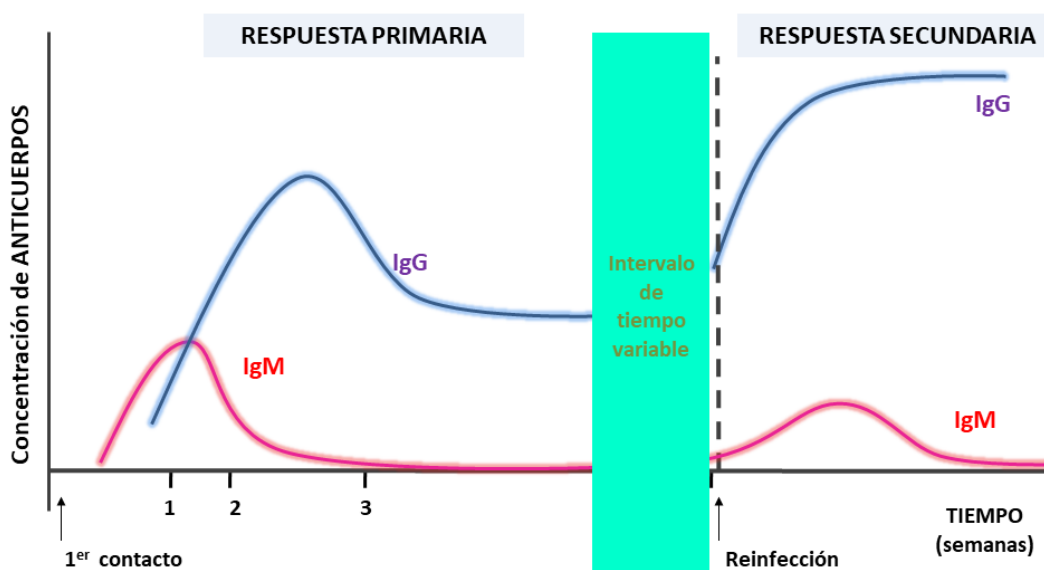
La *respuesta inmune primaria* se genera cuando un agente extraño ingresa por primera vez al hospedador (Figura 7.6). En una curva de producción de anticuerpos en la respuesta primaria, se detectará un pico de IgM alrededor de una semana posterior al contacto inicial con el antígeno. Esto se debe principalmente a los linfocitos B que, una vez activados, no atraviesan los procesos en el centro germinativo y se diferencian rápidamente a células plasmáticas productoras de IgM (idéntica al BCR que no hipermutó ni cambio de isotipo). De este modo, el hospedador tendrá anticuerpos que, si bien no son de elevada afinidad, cumplen una función protectora mientras que el resto de los linfocitos B activados están atravesando la hipermutación somática, selección

positiva y cambio de isotipo. Entre la 2<sup>da</sup> y 3<sup>er</sup> semana posterior al contacto inicial, se detectará un pico de inmunoglobulina de otro isotipo. Esto se deberá al resto de los linfocitos activados que sufrirán el proceso de cambio de isotipo, diferenciados a células plasmáticas productoras de anticuerpos. El isotipo de inmunoglobulina que se detectará, dependerá netamente del proceso de cambio de isotipo y en última instancia, del microorganismo causante de la infección.

La *respuesta inmune secundaria* es aquella generada frente a una reinfección o un nuevo contacto con un agente extraño (Figura 7.6). En una respuesta secundaria, a diferencia de la primaria, existirá una gran concentración de anticuerpos de isotipo distinto a M (si bien habrá niveles basales de producción de IgM). Este fenómeno estará dado por la presencia de linfocitos B de memoria, cuyo BCR hipermutó y cambió de isotipo, y por ello la respuesta generada es más rápida y eficiente comparada con la respuesta primaria.

**Figura 7.6**

*Curva de concentración de anticuerpos en la respuesta primaria y secundaria*





# CAPÍTULO 8

## Anticuerpos o Inmunoglobulinas

*Mariana Bernstein y Marina Runco*

En este capítulo, se describirán a los anticuerpos, también llamados inmunoglobulinas (nombre dado debido a su naturaleza glucoproteica). Los anticuerpos son el producto de las células plasmáticas, derivadas de la activación y diferenciación de los linfocitos B, y son uno de los principales mediadores humorales de la inmunidad adaptativa. A lo largo del capítulo, y de aquí en adelante, tanto anticuerpos como inmunoglobulinas se encuentran abreviados como Ac e Ig, respectivamente, y se utilizarán ambos términos de modo indistinto.

### Estructura de los anticuerpos

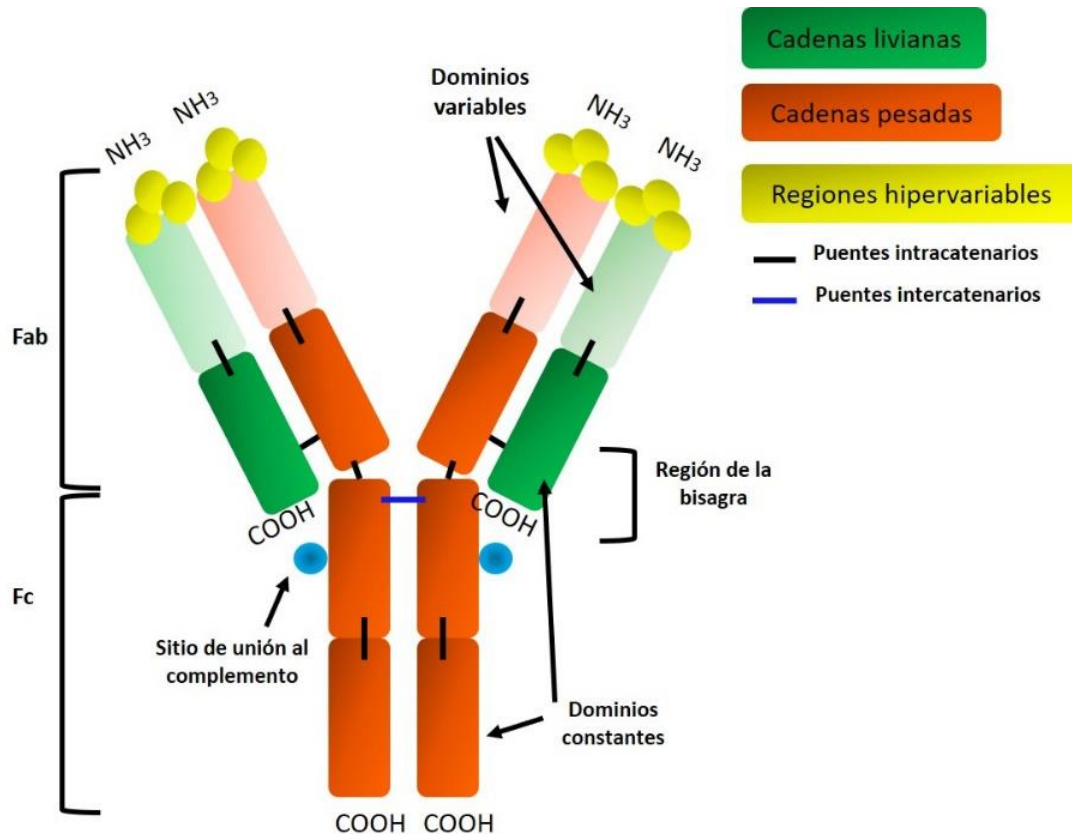
Describiremos a continuación la estructura de un monómero de Ig, cuyos detalles se visualizan en la Figura 8.1. Un monómero de Ig está formado por 4 cadenas peptídicas: 2 cadenas pesadas (50 kDa) idénticas entre sí y 2 cadenas livianas (25 kDa) idénticas entre sí. Las cadenas livianas pueden ser de tipo  $\kappa$  o  $\lambda$  según la secuencia de aminoácidos. Cada cadena pesada tiene una porción constante (que puede tener 3 o 4 dominios dependiendo de la clase de Ig) y otra porción variable. Cada cadena liviana también posee una porción constante y otra variable, ambas del mismo tamaño (igual cantidad de aminoácidos). Las 4 cadenas tienen un extremo amino terminal ( $\text{NH}_3$ ) correspondiente a la porción variable y que participa en el reconocimiento antigénico, y un extremo carboxilo terminal ( $\text{COOH}^-$ ) opuesto, correspondiente a la porción constante y que participa en la unión a los receptores para Ac. Además, en la región variable de las 4 cadenas existe una región hipervariable o *región determinante de complementariedad*. Las regiones entre estas secuencias de aminoácidos muestran un gran grado de conservación y forman un armazón que permitirá reconocer al epítopo específico.

La unión de las 2 cadenas pesadas y de cada cadena pesada con las cadenas livianas se realiza a través de puentes disulfuro intercatenarios (entre las diferentes cadenas) e intracatenarios (dentro de la misma cadena). Estos puentes son importantes porque otorgan estabilidad al monómero de Ig. Además, las Ig poseen una región bisagra que los divide en 2 porciones y permite el plegamiento. La porción superior se denomina Fab (del inglés *antigen binding fraction*) y es capaz de unirse al antígeno; la porción inferior se denomina Fc (del inglés

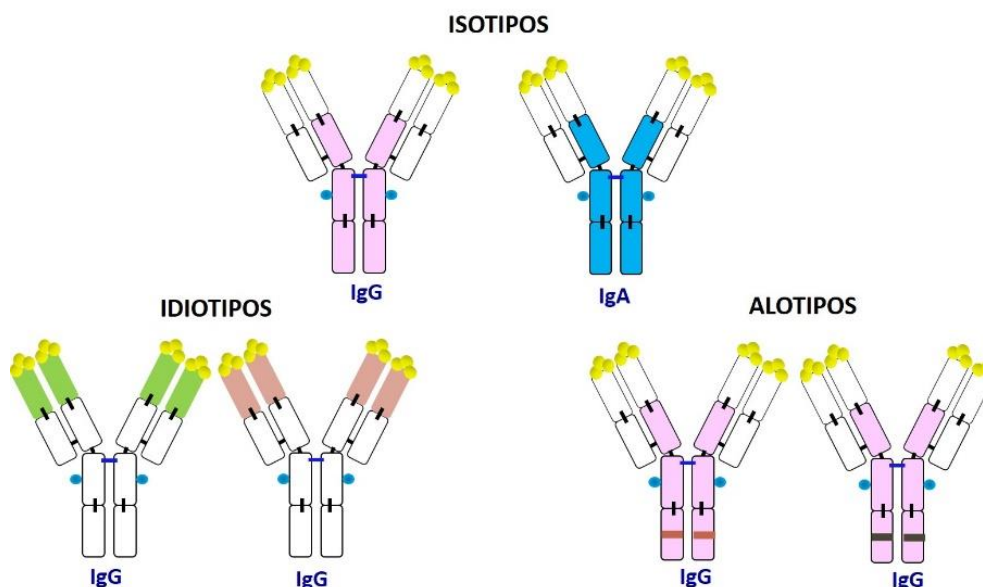
*crystallizable fraction*) y posee diversas funciones biológicas. También, existe un sitio de unión para el sistema del complemento, debajo de la zona de pliegue de la región bisagra. Este sitio usualmente está tapado o inactivado dado que la porción Fab se pliega sobre la porción Fc, quedando al descubierto únicamente cuando se realiza el reconocimiento del antígeno específico.

**Figura 8.1**

*Estructura de un monómero de inmunoglobulina*



Existen distintas variantes estructurales de la molécula básica de Ig. Cuando las diferencias se encuentran en las porciones constantes de las cadenas pesadas hablamos de diferencias isotópicas y tendremos diferentes isotipos de Ig, que se describirán a continuación. Cuando las diferencias son en el mismo isotipo, pero en distintos individuos de la misma especie se conocen como diferencias alotípicas. Por último, encontraremos las diferencias idiotípicas en la región variable de un mismo isotipo, por lo tanto, cada idiotipo es exclusivo para un clon determinado de Ac (Figura 8.2).

**Figura 8.2***Variantes estructurales de la molécula básica de inmunoglobulina***Isotipos de anticuerpos**

Existen 5 isotipos de Ac que pueden observarse en la Figura 8.3. La acción efectora y la localización de cada uno de ellos estará definida por la porción constante de sus cadenas pesadas.

La **IgM** (cadena pesada tipo  $\mu$ ) tiene estructura monomérica cuando actúa como BCR. Sin embargo, su estructura una vez secretada como Ac por las células plasmáticas es pentamérica (5 monómeros unidos a través de una cadena J que le da estabilidad). Es la primera Ig en producirse ante un primer contacto con un antígeno, en consecuencia, es poco específica ante un epítopo ya que las células que la producen no atraviesan los 4 procesos que se llevan a cabo en el centro germinativo (ver capítulo 7). Sus funciones principales son: neutralización de toxinas y microorganismos y activación del sistema del complemento (unida a su epítopo específico). Debido a su gran tamaño tiene relevancia en las pruebas de inmunodiagnóstico de aglutinación (ver capítulo 13).

La **IgG** (cadena pesada tipo  $\gamma$ ) tiene estructura de monómero típico y es la más pequeña de las Ig. Su pequeño tamaño le permite migrar del compartimento vascular a los tejidos (en los caninos y felinos, una pequeña cantidad de IgG puede incluso atravesar la placenta, aunque este pasaje tiene poca relevancia protectora en dichas especies). Es la segunda Ig que aparece en sangre un primer contacto con un antígeno, presentando mayor especificidad hacia el antígeno, ya que sus células productoras han sufrido la hipermutación somática y la selección positiva en

el centro germinativo. Es la Ig que se encuentra en mayor concentración en el suero y con mayor vida media (21 días aproximadamente). Sus principales funciones son: neutralización, opsonización, citotoxicidad celular dependiente de Ac y activación del sistema del complemento (unida a su epitopo específico y siempre y cuando haya más de un monómero de IgG presente). Debido a su pequeño tamaño es muy eficaz en las pruebas de inmunodiagnóstico de precipitación (ver capítulo 13).

La **IgA** (cadena pesada tipo  $\alpha$ ) se localiza de modo característico en todas las mucosas (genitourinaria, digestiva, respiratoria, ocular). Tiene una estructura de dímero (2 monómeros unidos y estabilizados a través de una cadena J). En circulación puede estar como un monómero, pero en las mucosas se encuentra siempre en forma dimérica. Como dímero posee una pieza secretoria que cubre y protege a la Ig y evita su destrucción por las enzimas proteolíticas.

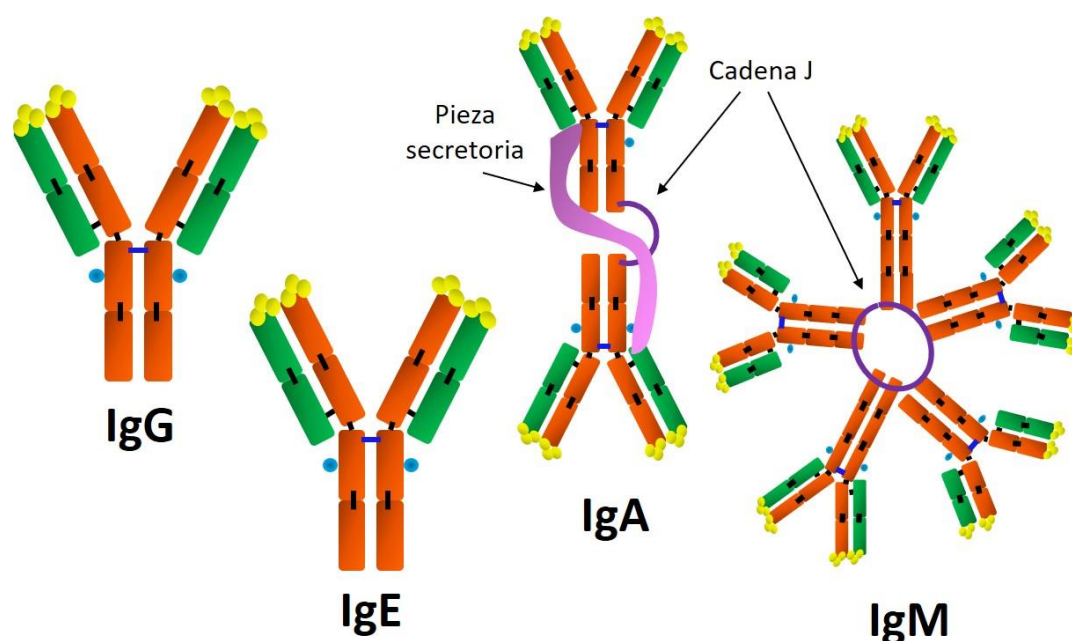
La **IgE** (cadena pesada tipo  $\epsilon$ ) también tiene estructura de monómero y actúa en las reacciones de hipersensibilidad generando la desgranulación de mastocitos y basófilos.

La **IgD** (cadena pesada tipo  $\delta$ ) es un monómero que se encuentra en primates, roedores y caninos. Tiene una bisagra muy larga que le otorga poca estabilidad y por ello es factible de ser destruida. No se sabe con certeza su función.

Hay dos propiedades que podemos reconocer en los Ac: la afinidad y la avidéz. La *afinidad* se define como la *fuerza* que posee un Ac para unirse a un antígeno, es la fuerza combinada de todas sus interacciones con el epitopo específico. La IgG es la más afín por ser la más específica. Por otro lado, la *avidéz* se define como la cantidad de sitios funcionales activos, la IgM al ser pentamérica posee muchos sitios de unión al antígeno (10), y aunque no todos son funcionales es la más ávida de las Ig.

### Figura 8.3

*Isotipos de inmunoglobulinas*



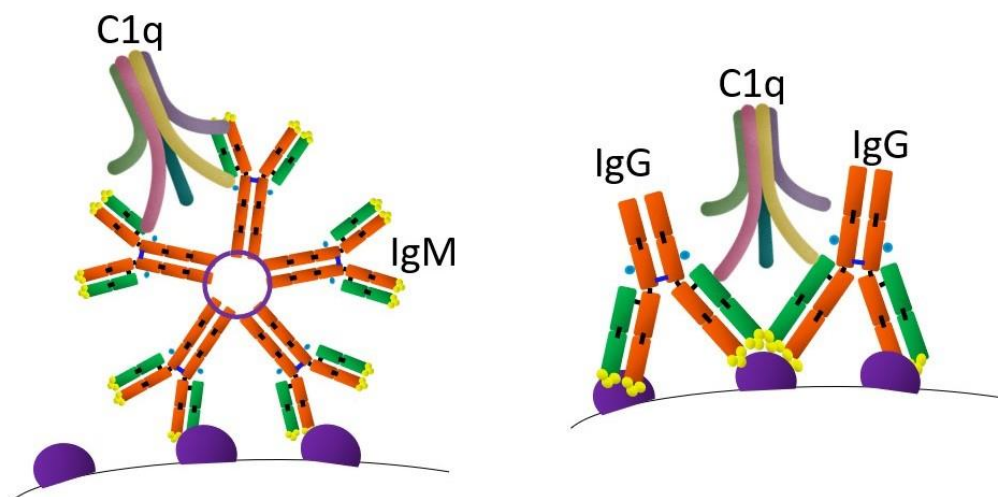
## Funciones de los anticuerpos

Los Ac confieren un importante mecanismo de defensa del organismo frente a múltiples organismos patógenos: microorganismos de vida extracelular (ej: bacterias) y sus productos (ej: toxinas), microorganismos de vida intracelular (ej: virus) antes de ingresar a la célula diana (estado de viremia) y microorganismos de vida intravesicular (ej: *Toxoplasma gondii*) antes de ingresar a la célula diana (estado de parasitemia).

Las funciones principales incluyen la **neutralización** (unión del Ac al microorganismo o toxina impidiendo su ingreso a la célula diana), la **opsonización** (reconocimiento de la Ig unida a su epítipo específico por células fagocíticas para dar comienzo al proceso de endocitosis) y la **activación del sistema del complemento** (reconocimiento por parte de la porción C1q de la vía clásica del complemento de una molécula de IgM unida a antígenos de la superficie bacteriana o, por el contrario, de al menos dos moléculas de IgG unidas al patógeno específico) (Figura 8.4). Además, la IgG posee la capacidad de generar **citotoxicidad celular dependiente de Ac**, descrita en el capítulo 3, en la cual una célula NK reconoce células infectadas que expresan epítipos del patógeno, y por lo tanto se encuentran recubiertas de IgG. La célula NK reconoce la porción Fc de la IgG mediante receptores específicos, lo cual la activa y genera la muerte por apoptosis de la célula infectada (Figura 3.2).

### Figura 8.4

*Activación del complemento por la vía clásica*

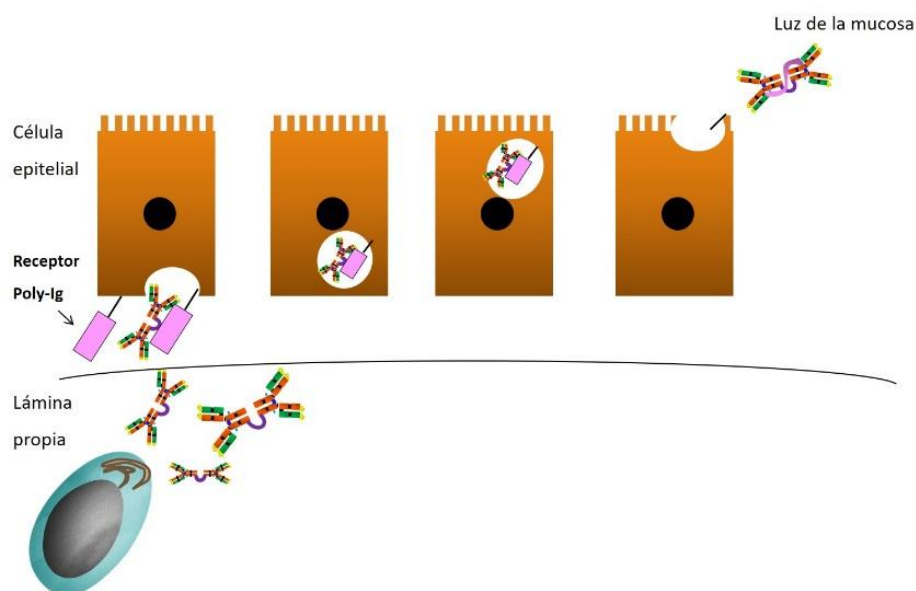


## Funciones específicas de la IgA: inmunidad en mucosas

La función principal de la IgA es encargarse de la inmunidad en las mucosas corporales. Es una Ig **antiadherente**, dado que evita precisamente la adhesión de los patógenos a las células de la mucosa para su posterior ingreso. La IgA es producida de forma dimérica por las células plasmáticas de la lámina propia que se ubican debajo de la membrana basal de la mucosa. Una vez secretada, la IgA se une a un receptor llamado Poly-Ig que se expresa en la superficie basolateral de las células epiteliales. De este modo, el complejo Poly-Ig-IgA es internalizado en una vacuola y atraviesa la célula epitelial hacia la superficie apical a través de un proceso denominado *transcitosis* (Figura 8.5). Una vez en la luz de la mucosa se escinde el receptor Poly-Ig de la célula, quedando su región extracelular asociada a la IgA, cubriéndola a modo de *componente o pieza secretoria*. La función de la pieza secretoria es proteger a la IgA de la acción proteolítica de las enzimas presentes en la luz de la mucosa. La IgA actúa en superficies que están comunicadas directamente con el exterior del organismo, por eso no actúa generando la destrucción directa de los microorganismos, sino que impide su adhesión y favorece su eliminación a través de mecanismos físicos-químicos de la inmunidad innata (ej: cilias y movimientos peristálticos).

### Figura 8.5

*Proceso de transcitosis de la IgA en las mucosas*



*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

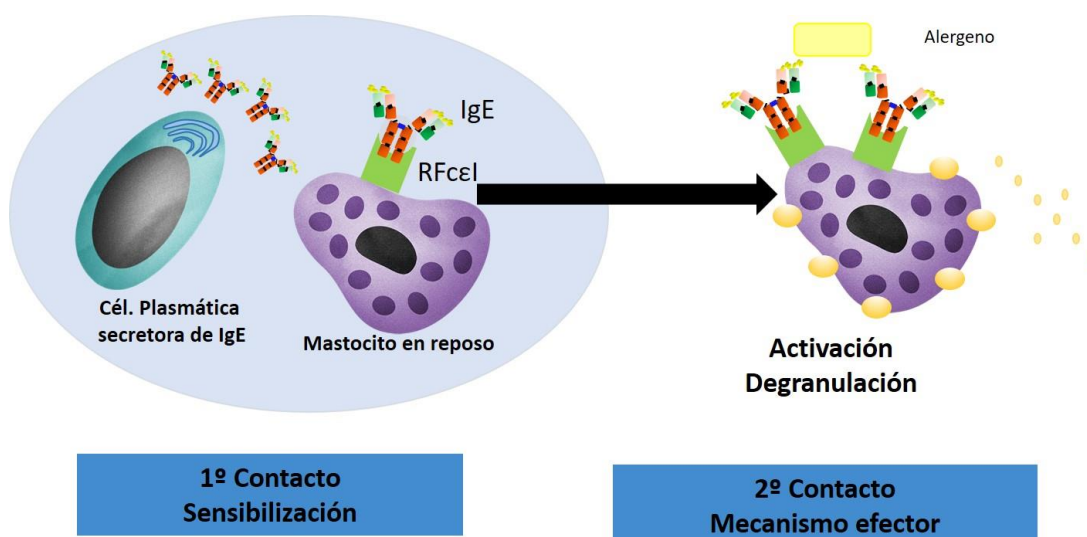
## Funciones específicas de la IgE: sensibilización de mastocitos

La IgE juega un rol fundamental en las reacciones de hipersensibilidad de tipo I (alergias). Su papel se centra en la capacidad de inducir la desgranulación de los mastocitos, células que encontramos en el tejido conectivo de las mucosas y de la piel. Este proceso involucra 2 etapas (Figura 8.6), y se describirá con mayor detalle en el capítulo 9. En la primera etapa la IgE producida en respuesta a un primer contacto antigénico se une con alta afinidad a los receptores Fc de la IgE de tipo I expresados por los mastocitos (estos receptores también pueden ser expresados por basófilos y eosinófilos). En este momento no se produce desgranulación del mastocito. En una segunda etapa, cuando el mismo antígeno vuelve a ingresar al organismo, éste es reconocido por las moléculas de IgE que están unidas a la membrana de los mastocitos. Esto induce un entrecruzamiento de receptores para la IgE y genera la desgranulación y liberación de diferentes mediadores químicos (puede ser histamina, prostaglandinas, entre otros). Esto sucede porque el individuo estaba previamente “sensibilizado”, proceso que sucedió en el primer contacto.

La IgE también se encuentra unida a mastocitos en la región intestinal y tiene la capacidad de reconocer antígenos parasitarios. Una vez que los reconoce, produce la desgranulación del mastocito generando un ambiente hostil, con cambios en el pH, activando eosinófilos, monocitos y plaquetas para la eliminación de los parásitos.

**Figura 8.6**

*Sensibilización de mastocitos por la IgE*



*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

## Anticuerpos monoclonales

Los investigadores Jerne, Kohler y Milstein, recibieron el premio Nobel en 1984 por realizar la primera descripción sobre la producción de anticuerpos monoclonales. Para comprender qué son los anticuerpos monoclonales es importante que recordemos la teoría de la selección clonal que se explica en el capítulo 7. Brevemente, cada clon de linfocitos B posee un BCR que es único y específico para un determinante antigénico (epitopo). Cuando ese clon se activa (al reconocer a su epitopo específico) sufre un proceso de expansión clonal y producirá células idénticas a aquella que le dio origen, con un BCR idéntico. Estos BCR específicos serán luego secretados por las células plasmáticas a modo de anticuerpos. Los anticuerpos monoclonales son anticuerpos que provienen de un mismo clon de linfocitos B, que tienen la misma porción variable y por lo tanto, la misma especificidad hacia el antígeno.

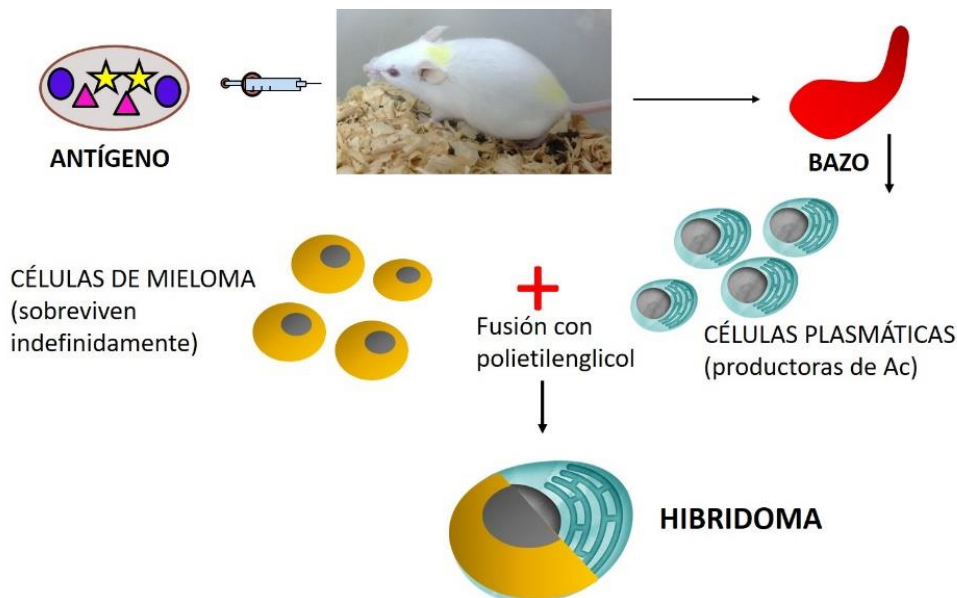
### Producción de anticuerpos monoclonales

La producción de anticuerpos monoclonales se inicia inmunizando un animal de experimentación (ej: un ratón) con un antígeno específico (recordemos que un antígeno es un mosaico antigénico y está formado de distintos determinantes antigénicos o epitopos, por ejemplo: a, b, y c). Generalmente, se utiliza un adyuvante (que refuerza la respuesta inmune) y se hacen varias inoculaciones con intervalos variables, en general de al menos 1 semana. Transcurrido cierto período de tiempo se obtiene el bazo del ratón inmunizado y se aíslan las células plasmáticas productoras de anticuerpos. Entre ellas habrá linfocitos B y sus clones que con diferente especificidad producirán Ig frente a los diferentes epitopos del antígeno específico. Por otra parte, es necesario una línea de células de mieloma. Esta línea celular se puede mantener en cultivo *in vitro* con las condiciones adecuadas. Su característica principal es que son células tumorales de células plasmáticas que tienen la capacidad de multiplicarse indefinidamente (línea celular inmortal). El proceso siguiente y clave para poder continuar es la fusión de las células del bazo del ratón (las células plasmáticas) con las células de mieloma que se hace en presencia de la droga polietilenglicol. Las células que se fusionan se denominan *hibridomas* (Figura 8.7).



**Figura 8.7**

Proceso de fusión de células plasmáticas de ratón con células de mieloma para formar hibridomas



*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

Los hibridomas son células plasmáticas que pueden producir anticuerpos contra el antígeno con el que inmunizamos al ratón y, además, tienen la capacidad de proliferar indefinidamente y ser mantenidas *in vitro*. Después de la fusión habrá diferentes tipos de células: a- Hibridomas que producen los anticuerpos específicos deseados; b- Hibridomas que producirán anticuerpos de irrelevante especificidad; c- Las células plasmáticas no fusionadas y d- las células de mieloma no fusionadas. Para separar estas poblaciones se transfieren las células a un medio especial que se llama HAT (de hipoxantina, aminopterina y timidina) en una microplaca de 96 pocillos. Las células de mieloma que no se fusionaron carecen de una enzima capaz de degradar componentes presentes en el medio HAT y por lo tanto mueren. Las células plasmáticas que no se fusionaron, no tienen la capacidad de vivir indefinidamente y morirán al poco tiempo. Solo sobreviven las células fusionadas del hibridoma, porque tienen la enzima necesaria para degradar componentes del medio HAT y la capacidad de replicarse indefinidamente. De este modo, se obtienen diferentes tipos de hibridomas en cada pocillo. Luego de 2 a 4 semanas de crecimiento se investiga la presencia de Ac en los sobrenadantes de los cultivos. Para identificarlos, se toman muestras de cada pocillo y se realiza una prueba serológica frente a los epitopos. Cuando se encuentran los Ac que reaccionan con un determinante antigénico de forma específica, se somete a las células del hibridoma del pocillo a un proceso que se denomina clonado, donde las células se diluyen hasta el punto de obtener en un pocillo una única célula híbrida. Los clones adecuados se hacen crecer masivamente en cultivo y se conservan para hacerlos crecer nuevamente cuando se necesite. Esta célula del hibridoma seleccionada y separada se multiplica dando copias idénticas a sí misma (clones) y produce anticuerpos específicos para un epitopo. Estos anticuerpos que provienen de un mismo clon de linfocitos B

los llamamos anticuerpos monoclonales. Su característica es que son de un único isotipo, son monoespecíficos, no cambian con el tiempo y pueden producirse indefinidamente.

Las aplicaciones y usos de los anticuerpos monoclonales son muchas y en constante ampliación, pero principalmente se utilizan en:

1- Investigación (por ejemplo: purificación de proteínas de microorganismos por unión a columnas de sefarosa en cromatografía de afinidad e Identificación de marcadores/receptores celulares CD4, CD8, citometría de flujo, preparación de conjugados para pruebas de diagnóstico).

2- Diagnóstico *in vitro* (por ejemplo: test de preñez, medición de drogas en sangre, estudios de histocompatibilidad, detección de antígenos tumorales) e *in vivo* (detección de antígenos tumorales).

3- Fines terapéuticos (por ejemplo: inmunotoxinas compuestas por Ac monoclonales específicos de células tumorales unidos a una toxina letal e inmunoterapia en perros y gatos).

# CAPÍTULO 9

## Síndromes de reactividad alterada: Hipersensibilidad

*Lais L. Pardini*

Al ingresar los patógenos al organismo se ponen en marcha los mecanismos de inmunidad innata y luego de su ingreso, cuándo estos no son suficientes para controlar la infección, se ponen en marcha aquellos relacionados con la inmunidad adaptativa.

Como mencionamos en capítulos anteriores, en la inmunidad innata es importante el rol que tiene la barrera cutáneo-mucosa, la inflamación, el sistema del complemento y del interferón, las proteínas de fase aguda, la endocitosis y entre los linfocitos de la inmunidad innata principalmente las células NK. En un 95-98% de los casos estos mecanismos son efectivos lo que permite recuperar la homeostasis del hospedador. Cuando la inmunidad innata no es suficiente, sin embargo, orienta y dirige la activación de la inmunidad adaptativa, que a través de la inmunidad mediada por anticuerpos o por células será capaz de generar productos que favorecerán la eliminación de los patógenos.

Cuando se produce una respuesta exagerada frente a antígenos extraños pueden ocurrir los denominados fenómenos de *hipersensibilidad* y si es frente a antígenos propios se denomina *autoinmunidad* (ver capítulo 10). La *hipersensibilidad* se define como una respuesta exagerada o inapropiada frente a antígenos extraños. Como consecuencia se produce un daño o efecto no deseado en los distintos tejidos, relacionados con el lugar donde se produjo el contacto y con los tipos celulares involucrados en la respuesta. De acuerdo a la clasificación de Gell y Coombs podemos dividir a la hipersensibilidad en cuatro tipos: I, II y III relacionadas con la inmunidad mediada por anticuerpos y IV vinculada a la inmunidad mediada por células. La hipersensibilidad de tipo I se la llama alergia o anafilaxia mediada por IgE, la de tipo II, mediada por anticuerpos citotóxicos (IgG), la de tipo III o mediada por inmunocomplejos y la de tipo IV llamada hipersensibilidad retardada o mediada por células.

### **Hipersensibilidad de tipo I: alergia o anafilaxia**

Este tipo de reacción ocurre cuando se genera una respuesta frente a un antígeno considerado inocuo para la mayoría de los individuos, pero que, sin embargo, en algunos puede determinar la producción de anticuerpos isotipo IgE que se unen a receptores de alta afinidad de

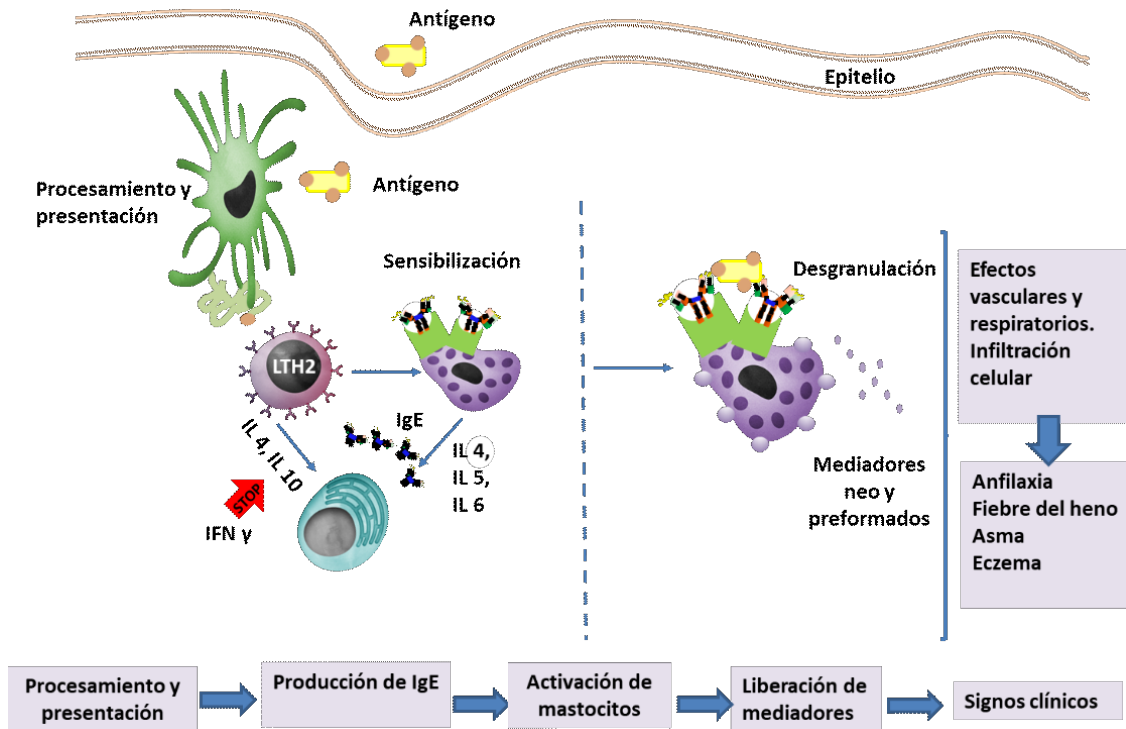
los mastocitos y basófilos. Este tipo de respuesta puede estar condicionada por factores genéticos (predisposición individual, atópicos), por el tipo de antígeno, que por su solubilidad puede ingresar fácilmente a través de las mucosas y de la piel, o bien por una puerta de entrada aerógena, con un peso molecular moderado, como en el caso de los haptenos y pequeñas dosis de alérgenos. Es importante el microambiente al que están expuestos los linfocitos B que se han activado en los centros germinales para que se produzca el cambio de isotipo IgM a isotipo IgE. Son importantes las señales locales (citocinas), en la zona de entrada del antígeno, generadas por células de la inmunidad innata y de la inmunidad adaptativa, presentes en la submucosa y tejido subcutáneo, que favorecerán la diferenciación de los linfocitos Th a un perfil Th2. Posteriormente, los linfocitos Th2 producirán ciertas citocinas como la IL-4 y IL-13, que estimulan un cambio de isotipo a IgE en los linfocitos B activados.

La hipersensibilidad de tipo I ocurre en dos fases o etapas (Figura 8.6); una primera etapa de *sensibilización*, que consiste en el primer contacto del antígeno con el sistema inmune del hospedador, y una segunda fase efectora que ocurre ante *un nuevo contacto* con el mismo antígeno. Entonces en un primer contacto el linfocito B se diferencia en una célula plasmática productora de anticuerpos IgE que son liberados y se fijan a los receptores de alta afinidad (RFc $\epsilon$ 1) de los mastocitos. En una segunda etapa, los mastocitos sensibilizados permanecen en reposo, pero cuando ingresa nuevamente el mismo antígeno, éste se unirá a la IgE y como consecuencia se activará la desgranulación del mastocito con liberación de histamina y serotonina. Además de histamina y serotonina preformadas, secretan prostaglandinas, leucotrienos, factor de activación plaquetario y citocinas sintetizadas *de novo*. Asimismo, se activan los eosinófilos por efecto de la IL-5 producida por los linfocitos Th2 y los mastocitos, liberando algunas sustancias como las peroxidasas y proteasas.

Algunos ejemplos de hipersensibilidad de Tipo I incluyen la fiebre del heno, el asma, la anafilaxia y el eczema. Los signos clínicos varían de acuerdo a las especies y los órganos afectados. A nivel del tracto gastrointestinal se desencadena un aumento de la secreción de fluidos y peristalsis con vómitos y diarrea (favoreciendo por ejemplo la eliminación de los parásitos); en el aparato respiratorio, se produce la reducción del diámetro de las vías aéreas por contracción del músculo liso bronquial y aumento de la secreción de moco por las células caliciformes con la consecuente congestión y bloqueo de las mismas, hiperplasia epitelial y en el largo plazo fibrosis subepitelial y proliferación de células musculares que favorecen la contracción del músculo liso bronquial; a nivel vascular se produce un aumento del flujo sanguíneo y de la permeabilidad con el edema resultante y el incremento de proteínas en los tejidos afectados, incluso pudiendo llegar a un shock hipovolémico (Figura 9.1).

**Figura 9.1**

*Mecanismos desencadenados en la hipersensibilidad tipo I ante un nuevo contacto con el antígeno*



*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

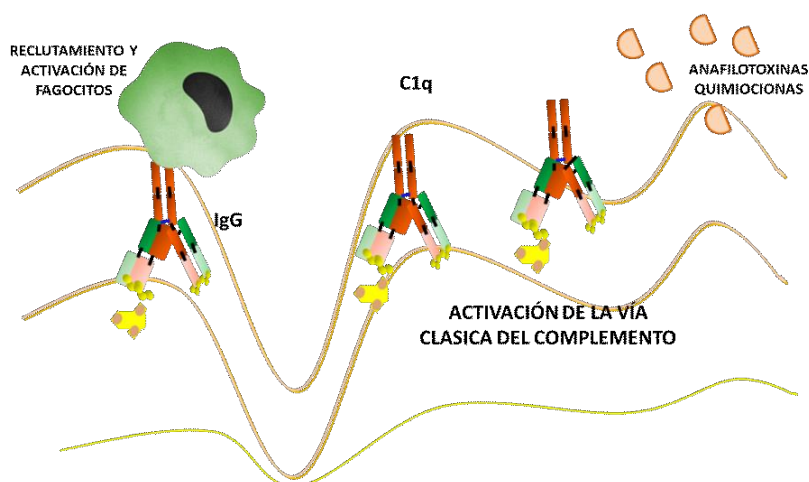
En la mayoría de las especies domésticas como bovinos, ovinos, suinos, equinos y felinos se observan manifestaciones principalmente respiratorias como edema, enfisema y hemorragias pulmonares con signos clínicos evidentes como tos y disnea; en suinos puede observarse cianosis y prurito. En los caninos, es frecuente la congestión de las venas hepáticas con aparición de hemorragias viscerales, vómitos y diarrea. Se pueden encontrar, no solo manifestaciones sistémicas, sino también algunos trastornos específicos como la dermatitis alérgica por pulgas, muy común en los caninos debido a los componentes de la saliva de la pulga, alergias alimentarias, alergias por picadura de insectos, a fármacos como la penicilina y algunas sustancias inhalables como el polen.

## Hipersensibilidad de tipo II: mediada por anticuerpos citotóxicos

En este tipo de hipersensibilidad los anticuerpos se unen a epítopos que están adosados a la superficie de las células propias, generando daño por acción del complemento (activado por la vía clásica), células fagocíticas como macrófagos y neutrófilos y células NK. El sistema inmune reconoce como extraños a los componentes celulares o de la matriz celular, induciendo una respuesta inmune mediada por anticuerpos citotóxicos de tipo IgG (Figura 9.2). Dentro de los ejemplos más comunes de este tipo de hipersensibilidad, se encuentra la enfermedad hemolítica del recién nacido, particularmente relevante en los equinos. En esta entidad, el sistema inmune de la madre reconoce como extraños a los antígenos de la superficie de los glóbulos rojos del feto o neonato, durante la gestación o el parto, considerando que en esta etapa se produce la sensibilización. Si ésta ocurriera durante la gestación, en el momento del parto cuando el neonato ingiere el calostro, absorbe los anticuerpos IgG citotóxicos producidos por la madre. Si en cambio ocurriera al momento del parto, en la siguiente gestación existirá el riesgo de que la próxima cría pueda verse afectada por los anticuerpos que ha generado la madre en la sensibilización de la gestación anterior. Luego de absorberse los anticuerpos IgG con el calostro pasan a la circulación del recién nacido y se unen a los antígenos específicos presentes en la superficie de sus glóbulos rojos, generando la activación de fagocitos y favoreciendo un mayor reclutamiento de los mismos, y activando al sistema del complemento por la vía clásica con producción de anafilotoxinas y quimiocinas que atraerán nuevos fagocitos y facilitarán la llegada de mediadores humorales como el complemento. El daño ocasionado dependerá de las células afectadas, observándose anemia por ejemplo en este caso y los signos asociados a la misma debido a la destrucción de los glóbulos rojos del neonato.

### Figura 9.2

*Esquema de la reacción de hipersensibilidad tipo II*



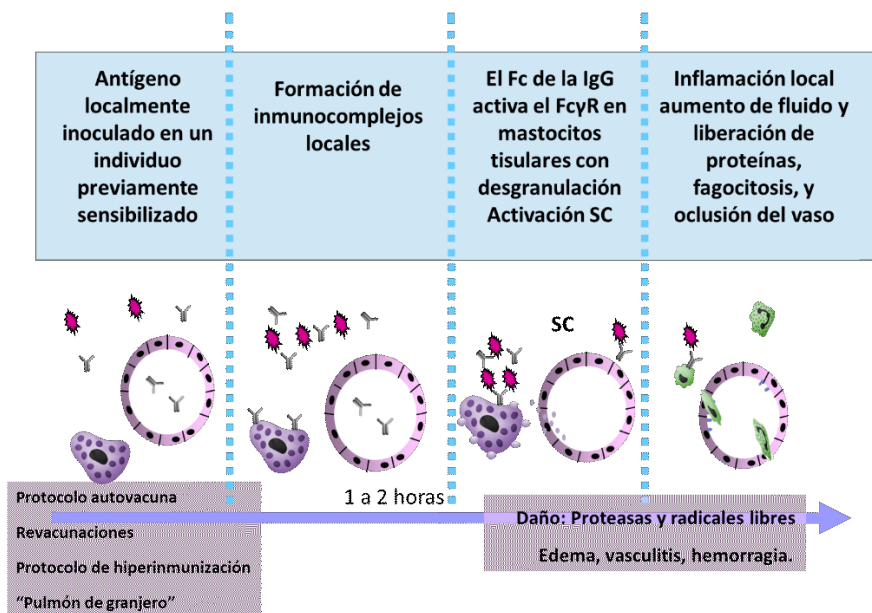
*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

## Hipersensibilidad de tipo III: mediada por inmunocomplejos

La hipersensibilidad de tipo III ocurre por la presencia abundante y persistente de inmunocomplejos. Para que se produzca el fenómeno de hipersensibilidad, deben darse ciertas condiciones, como son la presencia de antígenos solubles en un ligero exceso, y la formación de inmunocomplejos de pequeño tamaño, ya que los inmunocomplejos grandes son fácilmente depurables a nivel del bazo y por las células de Kupffer en el hígado. La puerta de entrada del antígeno en general es por vía sanguínea, con circulación persistente de los antígenos y de inmunocomplejos que se acumulan en zonas del organismo con alta presión de filtrado, como los capilares glomerulares, las membranas sinoviales o pequeños capilares de la piel. Al depositarse los inmunocomplejos, se produce la activación del complemento por vía clásica, generación de aminas vasoactivas y sustancias quimiotácticas con reclutamiento de fagocitos y la consecuente inflamación, daño tisular local y signos de glomerulonefritis o artritis y sus manifestaciones clínicas. Ejemplos de este tipo de hipersensibilidad son la reacción de Arthus (Figura 9.3) y la enfermedad del suero. Suele desarrollarse hipersensibilidad sistémica cuando la puerta de entrada del antígeno es endovenosa o persiste en circulación por largo tiempo, como por ejemplo casos de piómetra en las hembras caninas, endocarditis subaguda y hepatitis crónica. También puede observarse en especies animales que se utilizan para producir sueros hiperinmunes, por ejemplo, en los equinos utilizados para la producción de antitoxina tetánica.

**Figura 9.3**

*Esquema de la hipersensibilidad de tipo III: Daño local*



*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

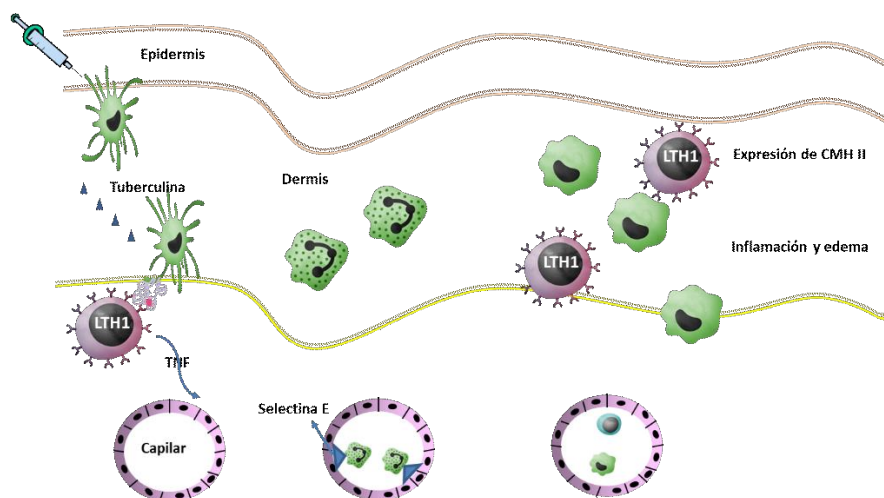
## Hipersensibilidad de Tipo IV: retardada o por contacto

Este tipo de hipersensibilidad es mediada por linfocitos Th1 y macrófagos o linfocitos T CD8. El ejemplo más conocido en veterinaria es la prueba de la tuberculina utilizada en los bovinos para detectar la infección por *Micobacterium* inducida por la inoculación de proteínas de esta bacteria (PPID) que ante un resultado positivo resulta en la hinchazón local de la piel e induración por infiltrado celular. Por otro lado, la hipersensibilidad por contacto, en la que los antígenos que la desencadenan son principalmente haptenos, metales como el níquel y ciertas resinas y colorantes; la reacción epidérmica local consistirá en prurito, eritema e induración por infiltrado celular con formación de vesículas.

En el primer caso, la hipersensibilidad retardada es inducida por la inoculación subcutánea en el animal de un derivado proteico purificado de *Micobacterium tuberculosis* que una vez procesado por las células presentadoras locales, se expresará en su superficie unido al CMH II y activará a linfocitos Th1 efectores. Luego de 24 a 72 hs se observa una respuesta celular local por liberación de citocinas como el IFN  $\gamma$  y que reclutará más células inflamatorias como neutrófilos, macrófagos y Linfocitos Th1, con extravasación de plasma ocasionando una lesión visible (Figura 9.4).

**Figura 9.4**

*Esquema de la hipersensibilidad tipo IV retardada*



*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

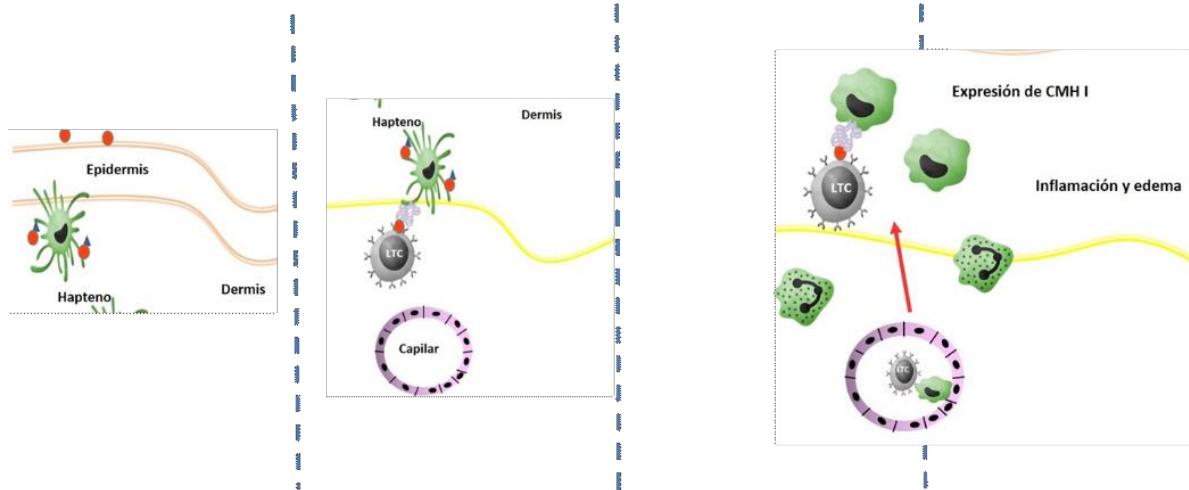
En la hipersensibilidad por contacto el agente sensibilizante ingresa por la piel, pudiendo en el caso de los haptenos unirse a proteínas propias, *carrier*, del hospedador y de este modo ser captados por las células de Langerhans de la piel, para luego ser procesados y presentados a los linfocitos T citotóxicos de memoria que se van a activar liberando citocinas, al igual que los



queratinocitos, que atraerán macrófagos, PMNN y otras células inflamatorias. Los productos secretados por los Linfocitos TCD8 y queratinocitos activan a los macrófagos que secretarán también citocinas proinflamatorias generando una reacción visible con prurito e hinchazón local (Figura 9.5).

**Figura 9.5**

*Esquema de la hipersensibilidad tipo IV, por contacto*



*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

# CAPÍTULO 10

## Autoinmunidad e Inmunodeficiencias

*Magdalena Rambeaud y Andrea Dellarupe*

### Autoinmunidad

La autoinmunidad se define como la respuesta inmune dirigida hacia antígenos propios. Es una consecuencia inevitable de la evolución de la inmunidad adaptativa, la cual, si bien permite diferenciar millones de epitopos presentes en la naturaleza, puede generar en ese amplísimo repertorio de especificidades, clones de células que reaccionen con elementos propios del animal. La autoinmunidad ocurre por una falla, generalmente de causa desconocida, en los mecanismos de tolerancia inmunológica tanto central como periférica.

La *tolerancia inmunológica* es la ausencia de respuesta hacia cierto antígeno; la autotolerancia, que consiste en la eliminación o inactivación de clones de linfocitos potencialmente autorreactivos, se adquiere durante el desarrollo de los linfocitos T y B. La *tolerancia central*, que se adquiere en los órganos linfáticos primarios durante la selección negativa de los linfocitos T y B, garantiza el **no** reconocimiento de antígenos propios mediante la eliminación de los clones autorreactivos. Sin embargo, este mecanismo no es infalible, y algunos linfocitos autorreactivos salen a la circulación. Por lo tanto, un segundo mecanismo de regulación, la *tolerancia periférica*, intenta inactivarlos. Los mecanismos de tolerancia periférica incluyen la anergia clonal, que consiste en la no respuesta de ciertos clones de linfocitos T, por ausencia de moléculas co-estimuladoras en la célula blanco; y la anergia clonal de los linfocitos B cuando reconocen antígenos propios, pero con baja afinidad, o que no reciben la segunda señal de activación dada por los linfocitos Th foliculares. La tolerancia periférica ocurre en los órganos linfáticos secundarios y en los tejidos periféricos. Los linfocitos Th reguladores juegan un rol importante en la tolerancia periférica ya que ayudan a modular las respuestas inmunes en general, y particularmente las respuestas autoinmunes.

Las enfermedades autoinmunes comparten ciertas características comunes: 1- son enfermedades crónicas, ya que el autoantígeno no puede ser eliminado; 2- cursan con exacerbaciones de forma cíclica; 3- se observan con mayor frecuencia en ciertas razas animales, o incluso en animales emparentados entre sí (predisposición familiar), y 4- se presentan en animales con sistema inmune competente, es decir, animales que responden correctamente a antígenos extraños. La respuesta autoinmunitaria no necesariamente implica que haya enfermedad autoinmune (por ejemplo, la presencia de autoanticuerpos); para que haya

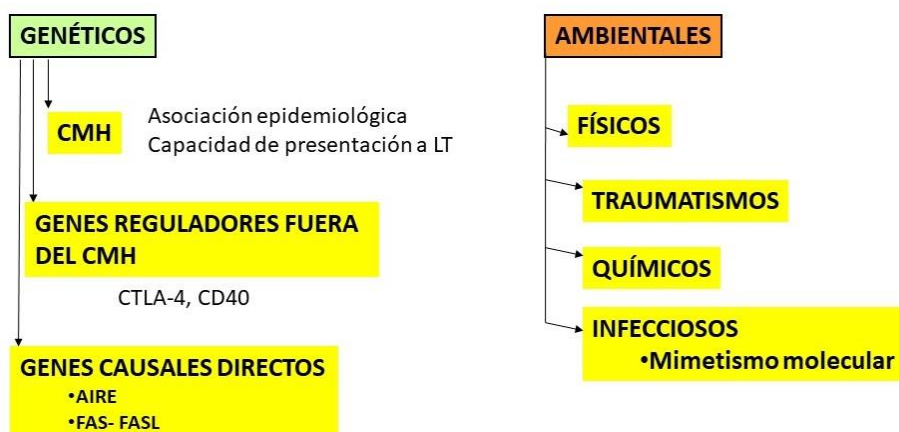
enfermedad autoinmune, debe existir un daño de un tejido u órgano y la consecuente manifestación clínica.

La autoinmunidad está fuertemente asociada a factores genéticos y ambientales (Figura 10.1). Dentro de los *factores genéticos*, los genes del CMH son particularmente importantes, ya que se ha encontrado una asociación epidemiológica (no causal) de ciertos alelos del CMH con la mayoría de las enfermedades autoinmunes, tal vez relacionado con la capacidad de determinados alelos de CMH para presentar antígenos propios a los linfocitos T. Otros genes importantes en la generación de autoinmunidad incluyen al gen que codifica para la proteína CTLA-4, que traduce señales inhibitorias en la activación de los linfocitos T, el gen de la molécula co-estimuladora CD40, o genes que pueden ser causa directa en la generación de enfermedades autoinmunes, como el gen AIRE (“autoimmune regulator”, por sus siglas en inglés), que estimula la expresión de antígenos propios en los órganos linfáticos primarios durante el proceso de selección negativa, o los genes que codifican para los receptores Fas- FasL importantes en el proceso de apoptosis que ocurre durante la selección negativa.

Dentro de los *factores ambientales* se encuentran factores físicos (por ejemplo la luz ultravioleta que puede lesionar selectivamente a las células presentadoras o a los linfocitos T reguladores), los traumatismos (pueden inducir el reconocimiento de autoantígenos en lugares inmunológicamente privilegiados, es decir, no expuestos normalmente a las células del sistema inmune, como el ojo o el testículo), factores químicos (ciertos fármacos pueden romper la tolerancia inmunológica e inducir respuestas autoinmunes), o factores infecciosos (posible mimetismo molecular, por reconocimiento de péptidos propios con secuencia similar a epitopos microbianos producidos tras el procesamiento de antígenos bacterianos o virales).

**Figura 10.1**

*Factores que influyen en el desarrollo de autoinmunidad*

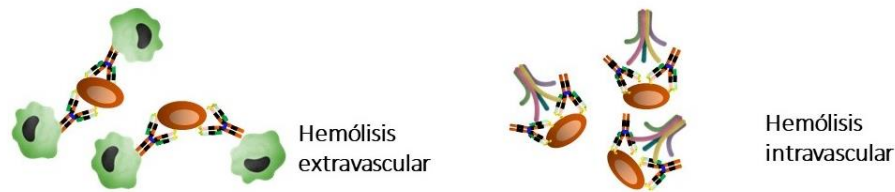


Las enfermedades autoinmunes pueden clasificarse según distintos criterios. Según su etiología pueden clasificarse en *primarias* (causadas por una falla propia del sistema inmunitario como una deficiencia o mutación genética), *secundarias* (consecuencia de otra enfermedad o causa conocida), *idiopáticas* (sin causa conocida), y *autoinflamatorias* (una nueva categoría, ya que si bien históricamente se consideró a las enfermedades autoinmunes como una consecuencia de fallas de los mecanismos de tolerancia de la inmunidad adaptativa, recientemente se han descrito mecanismos asociados a genes que determinan el umbral de activación de la respuesta inmune innata). Según el tejido afectado, las enfermedades órgano-específicas afectan a un órgano o tejido particular, y las enfermedades sistémicas afectan antígenos propios con una distribución tisular amplia.

## Mecanismos patogénicos de las enfermedades autoinmunes

Los autoantígenos que pueden ser atacados en una enfermedad autoinmune son muy diversos, pudiendo ser antígenos de membrana, hormonas, enzimas, factores nucleares, etc., y en estos casos la lesión se da por una destrucción de las células que expresan el autoantígeno, ya sea por producción de autoanticuerpos o por la acción de linfocitos T autorreactivos. En el caso de los receptores de hormonas y neurotransmisores, los autoanticuerpos pueden tener un efecto antagonista o agonista sobre el receptor, bloqueando o estimulándolo, respectivamente, causando distintos tipos de trastornos. En las enfermedades autoinmunes hacia antígenos con distribución tisular amplia, se genera una gran cantidad de inmunocomplejos circulantes, que se depositan en las membranas serosas, y en las redes capilares con fuerte flujo y gradiente de presión, como las membranas articulares, los plexos coroideos, el glomérulo renal, generando daño tisular por fenómenos de hipersensibilidad de tipo II, III y IV. Los signos clínicos de las enfermedades autoinmunes dependerán del autoantígeno atacado, su localización, el mecanismo efector de la inmunidad que se desencadene, y el grado de compromiso tisular.

Uno de los mecanismos patogénicos de las enfermedades autoinmunes es la **producción de anticuerpos contra proteínas de membrana en las células blanco**, un típico ejemplo de hipersensibilidad tipo II. Como ejemplo puede mencionarse la anemia hemolítica autoinmune (Figura 10.2), descrita en perros, bovinos, equinos y humanos, en la cual los autoanticuerpos están dirigidos a los propios eritrocitos del animal, con la consecuente hemólisis causada por distintos mecanismos efectores (activación del sistema del complemento, fagocitosis). Los signos clínicos son palidez de las mucosas, aletargamiento, anemia, debilidad, ictericia, hepatomegalia y esplenomegalia. La causa de esta enfermedad es desconocida, aunque se ha asociado a alteraciones en la superficie de los eritrocitos debidas a ciertos fármacos o infecciones virales.

**Figura 10.2.***Mecanismo de daño en la anemia hemolítica autoinmune*

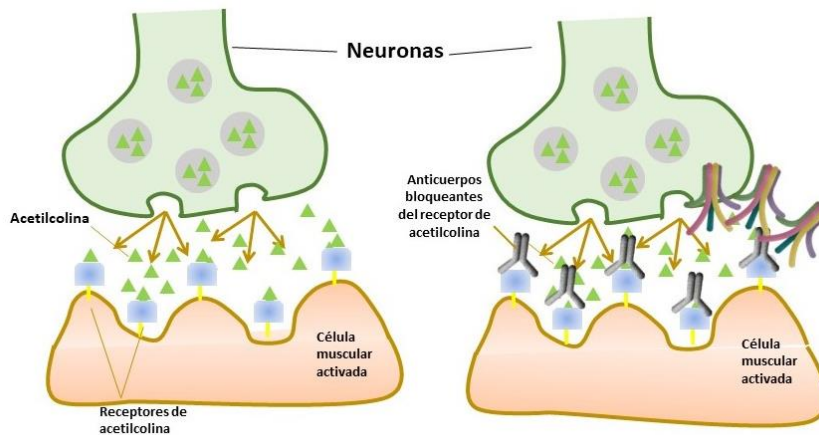
*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

El *complejo pénfigo* es otro ejemplo de este mecanismo patogénico; dentro de este grupo de enfermedades cutáneas se encuentra el pénfigo foliáceo, la más frecuente especialmente en caninos y una de las enfermedades autoinmunes más benignas. En esta enfermedad se producen anticuerpos anti-desmosomas, que son los organoides que favorecen la unión intercelular entre los queratinocitos. Al generarse anticuerpos contra los desmosomas, se generan vesículas por desprendimiento de los queratinocitos, y consecuente formación de úlceras e infecciones secundarias.

Otro mecanismo patogénico de las enfermedades autoinmunes involucra la **generación de anticuerpos contra receptores celulares**. Como ejemplo puede mencionarse la *miastenia grave*, descrita en perros, gatos y humanos, en la cual se generan autoanticuerpos contra el receptor de la acetilcolina presente en las células musculares estriadas. Los anticuerpos no sólo bloquean al receptor, sino que generan su destrucción mediante la activación del sistema del complemento (Figura 10.3). Como consecuencia, los animales presentan dificultad en la deglución, respiración fatigosa y debilidad generalizada. En caninos, las razas grandes como el Ovejero Alemán, Golden Retriever y Labrador tienen una mayor predisposición a esta enfermedad.

**Figura 10.3**

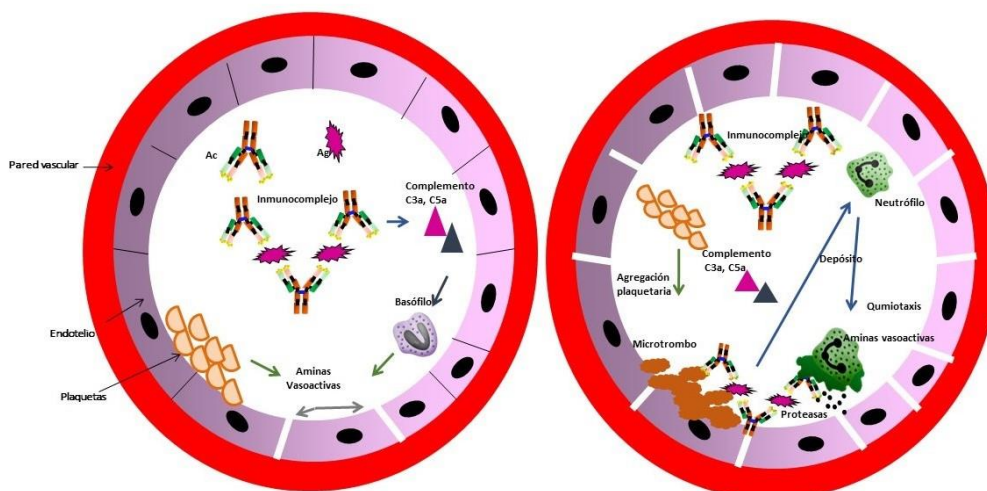
*Mecanismo de daño por generación de anticuerpos contra receptores en la miastenia grave*



El **depósito de inmunocomplejos** en distintos tejidos es otro mecanismo patogénico, siendo el *lupus eritematoso sistémico* su ejemplo clásico, descrito en perros, equinos y humanos. En esta enfermedad se presenta un amplio espectro de manifestaciones clínicas debido a la producción de una gran variedad de autoanticuerpos contra distintos componentes del organismo (eritrocitos, plaquetas, membranas basales, entre otros), aunque su característica principal y común en todas sus presentaciones es la generación de anticuerpos antinucleares. Estos autoanticuerpos se producen en gran cantidad y forman inmunocomplejos circulantes que tienden a depositarse en membranas serosas y redes capilares con fuerte flujo y gradiente de presión. Los signos clínicos de esta enfermedad son muy variados, e incluyen glomerulonefritis, artritis, miositis, anemia y dermatitis.

**Figura 10.4**

*Mecanismo de daño por depósito de inmunocomplejos en el lupus eritematoso sistémico*



*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

Algunas enfermedades autoinmunes están **mediadas por linfocitos T**, como la *diabetes tipo I*, en la cual se genera la destrucción de las células productoras de insulina en los islotes de Langerhans. El mecanismo por el cual esto ocurre no es del todo conocido; se cree que, por alguna razón, los autoantígenos presentes en las células  $\beta$  de los islotes de Langerhans son incorporados y procesados por las células dendríticas, las cuales activan clones de linfocitos T autorreactivos, que se expanden y diferencian a células efectoras, vuelven al páncreas y generan citocinas, fundamentalmente de perfil Th1, que generan la activación de macrófagos y destrucción del tejido blanco. Otro ejemplo es la *tiroiditis autoinmune*, descrita en perros y humanos, en la cual se observa una destrucción progresiva de la glándula tiroidea por los linfocitos T. Los signos clínicos en perros aparecen cuando ya se ha destruido el 75% del tejido glandular, e incluyen letargia, obesidad, alopecia zonal, y distintas manifestaciones cutáneas.

Otro mecanismo patogénico involucra la acción de linfocitos Th17. Como ejemplo se describe la *artritis reumatoide*, de etiología desconocida, aunque se postula que algunos autoantígenos que podrían desencadenarla serían el colágeno de la matriz de proteoglicanos del cartílago, o las mismas Ig. Los linfocitos Th17 efectoras, se dirigen a la membrana sinovial, donde se produce gran cantidad de citocinas proinflamatorias, que generan a la larga una gran infiltración y proliferación del tejido sinovial, que se vuelve fibroso e invade las estructuras articulares, con degradación del cartílago, activación de los osteoclastos y erosión del hueso y lesión articular.

El diagnóstico de las enfermedades autoinmunes es en general dificultoso, y se basa en la presencia de signos clínicos compatibles sumado a la detección de los autoanticuerpos. El tratamiento se realiza con drogas inmunosupresoras o inmunomoduladoras, o en algunos casos con anticuerpos monoclonales contra ciertas citocinas especialmente en enfermedades de naturaleza inflamatoria.

## Inmunodeficiencias

Se define a las inmunodeficiencias como defectos en el sistema inmune innato o adaptativo. Pueden clasificarse en *primarias* (debidas a defectos hereditarios) o *secundarias* (como resultado directo de alguna otra causa). Dentro de las inmunodeficiencias primarias, pueden estar afectados componentes tanto de la inmunidad innata (fagocitosis, expresión de moléculas de adhesión, fracciones del sistema del complemento) como de la inmunidad adaptativa (linfocitos T o B). En los animales domésticos existe una susceptibilidad racial a las inmunodeficiencias primarias, especialmente en razas con un alto grado de endogamia, que favorece la aparición de homocigosis y consecuente manifestación o expresión de defectos genéticos. Dentro de las inmunodeficiencias secundarias, pueden mencionarse las causadas por malnutrición, por enfermedades tumorales o como consecuencia de infecciones inmunosupresoras como algunas enfermedades virales (enfermedad de Gumboro, leucemia felina, etc.).

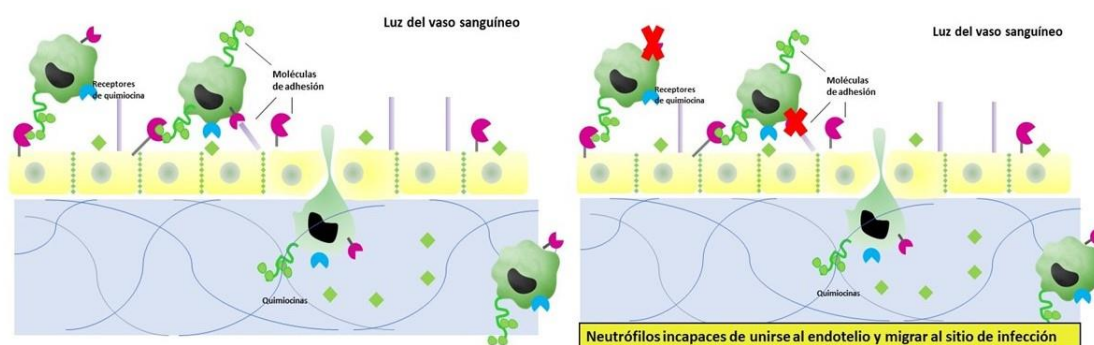
## Ejemplos de inmunodeficiencias primarias y secundarias

El **síndrome de Chediak-Higashi** es una enfermedad causada por un defecto en el gen de una proteína que controla la fusión lisosomal; en estos individuos se producen lisosomas anormalmente grandes en neutrófilos, monocitos, eosinófilos, que además son frágiles y se rompen espontáneamente liberando su contenido y produciendo daño tisular. Por las alteraciones en los neutrófilos, estos animales son más susceptibles a infecciones respiratorias y septicemias. También en estos individuos los gránulos de los linfocitos T citotóxicos son anormales, por lo cual son incapaces de causar la muerte por apoptosis de células blanco, al igual que los gránulos de las plaquetas, desarrollándose hematomas y hemorragias espontáneas que pueden incluso causar la muerte del animal.

En la **deficiencia de adhesión leucocitaria bovina**, existe una mutación en el gen de la integrina CD18, una molécula de adhesión expresada en la superficie de los neutrófilos que es crítica para la adhesión firme de los neutrófilos a los endotelios vasculares durante los procesos inflamatorios y su posterior migración hacia los sitios de infección (Figura 10.5). En los animales afectados (principalmente de la raza Holstein), los neutrófilos no logran adherirse a las paredes de los vasos sanguíneos por no expresar esta molécula de adhesión de forma funcional, entonces las bacterias proliferan en los tejidos sin control. Estos animales sufren infecciones bacterianas recurrentes, úlceras orales, neumonía crónica, y mueren muy tempranamente.

**Figura 10.5**

*Mecanismo involucrado en la deficiencia de adhesión leucocitaria bovina*



*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

En la **inmunodeficiencia combinada grave**, la inmunodeficiencia primaria más frecuente en los equinos, los animales son incapaces de producir linfocitos T y B funcionales. Los potrillos nacen sanos, y si ingirieron adecuadamente el calostro, empiezan a manifestar signos clínicos a partir de los 2-3 meses de edad, muriendo entre los 4 y 6 meses por infecciones generalizadas.



En esta enfermedad el defecto está en el gen que codifica para una enzima importante en el ensamblaje del ADN durante el reordenamiento genético del TCR y BCR; por lo tanto, no tienen receptores de la inmunidad adaptativa funcionales y no pueden responder a los distintos antígenos.

La **inmunosupresión inducida por virus** es la causa principal de inmunodeficiencia secundaria en las especies domésticas. Dentro de ellas puede mencionarse la enfermedad de Gumboro en las aves, causada por un virus que destruye la Bolsa de Fabricio, el moquillo canino, que afecta y destruye el tejido linfático, generando inmunosupresión grave, y la leucemia felina e inmunodeficiencia felina.

# CAPÍTULO 11

## Transferencia pasiva de la inmunidad en las especies domésticas

*Andrea Dellarupe*

Las enfermedades infecciosas constituyen un problema en los recién nacidos de todas las especies, pero cobra especial importancia en las explotaciones ganaderas, ya que genera importantes pérdidas económicas, ya sea por la mortalidad de las crías, los tratamientos que deben ser aplicados, y/o la disminución del crecimiento y el desarrollo de las mismas.

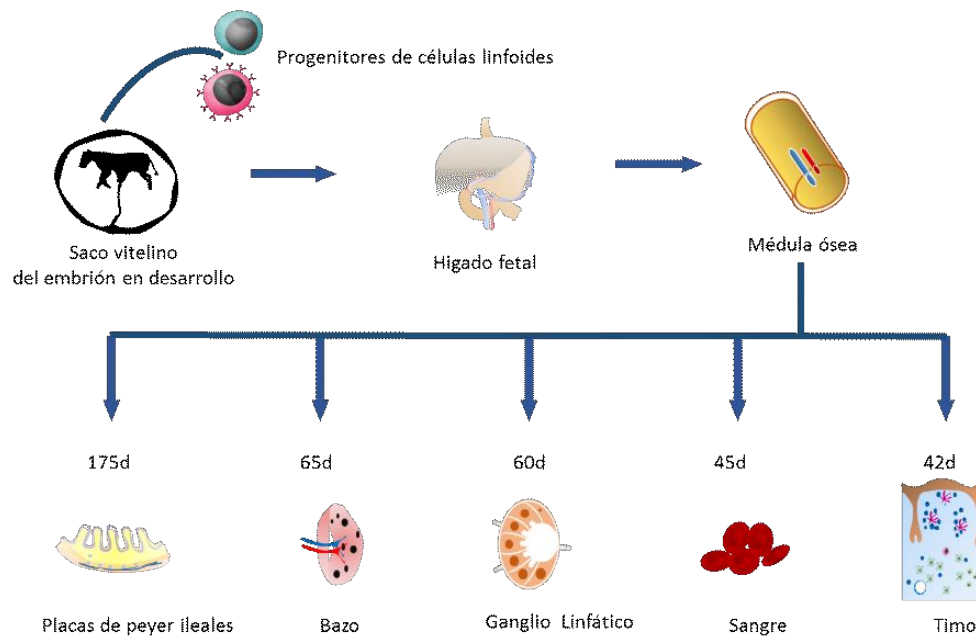
La salida de la vida intrauterina genera un gran cambio en el neonato ya que debe comenzar a respirar y alimentarse por sus propios medios, por lo que rápidamente deberá adaptarse a nuevas condiciones de vida. Por otro lado, pasa de un ambiente estéril como lo es el útero, a un medio ambiente lleno de microorganismos. Para poder afrontar estos cambios el sistema inmune juega un papel muy importante, sin embargo, al momento del nacimiento, el animal es hipo o agamaglobulinémico, lo que significa que la concentración de Ig en sangre es muy baja o nula, y si bien tiene un sistema inmune totalmente desarrollado y competente, este aún no tiene experiencia inmunológica ya que no ha tenido aún estímulos antigénicos. Por esta razón, en las primeras semanas de vida, la transferencia pasiva de la inmunidad, es decir el traspaso de los elementos inmunes (principalmente anticuerpos) desde la madre hacia su cría es fundamental para la supervivencia.

### Ontogenia de las células del sistema inmune

Las células troncales o *stem cells* son aquellas células a partir de las cuales derivan las distintas líneas celulares, entre ellas la progenie linfoide. Durante la vida embrionaria se encuentran en el saco vitelino, luego pasan al hígado fetal y desde la mitad de la gestación y por el resto de su vida, se ubican en la médula ósea (Figura 11.1). Luego viajan a los órganos linfáticos primarios donde se diferencian y capacitan, y por linfa y/o sangre llegarán a los órganos linfáticos secundarios donde eventualmente contactarán con su antígeno específico y se activarán para ejercer su acción. Los órganos linfáticos tanto primarios como secundarios ya se encuentran organizados en la vida fetal y aproximadamente a partir de la segunda mitad de la gestación, pueden desarrollar una respuesta inmune ante un estímulo antigénico.

**Figura 11.1**

*Origen del sistema inmune: ontogenia*



*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

## Desarrollo de la gestación y parto

A la gestación la podemos dividir en dos etapas. En la primera no hay desarrollo de respuesta inmune y es el momento en que se realiza la “auto-tolerancia natural de los constituyentes orgánicos”, que se refiere al reconocimiento de lo propio. Si durante este período el feto tuviera contacto con algún agente infeccioso, que no le generase daño suficiente como para causar el aborto o muerte fetal, el mismo sería reconocido como propio, y durante su vida, esa cría actuaría como reservorio y diseminador de ese agente infeccioso, ya que su sistema inmune nunca desarrollará una respuesta contra el mismo. Si la infección ocurriera en la segunda mitad de la gestación el neonato ya sería capaz de generar una respuesta inmune, tanto humoral como celular para intentar defenderse de cualquier antígeno o agente infeccioso.

Para que una gestación se desarrolle con éxito es necesario por un lado que la madre cuente con un sistema inmune funcional, y por el otro que el feto desarrolle su sistema inmune propio, pero que a su vez ambos se toleren. La madre debe defender al feto de diferentes microorganismos, pero sin hacerle daño y el feto debe hacer el reconocimiento de lo propio, pero sin responder a sustancias maternas. Debemos tener en cuenta que la madre lleva en su interior a un individuo de la misma especie, pero genéticamente diferente, y esas diferencias radican básicamente en el CMH que otorga características antigénicas individuales.

Desde el momento de la cópula ya los espermatozoides van a ser reconocidos como no propios, pero tanto en el líquido seminal como en el mucus cervical hay sustancias inmunosupresoras que neutralizan la respuesta inmune que podría desencadenar la hembra. Por otro lado, antes de la implantación, los ovocitos y luego los embriones, no expresan CMH para no ser reconocidos como extraños. Cuando el desarrollo del feto avanza, este se cubre de trofoblasto el cual no expresa CMH, en la mayoría de las especies domésticas, y lo protege. A su vez, los tejidos fetales secretan sustancias como estradiol, progesterona, gonadotropina coriónica,  $\alpha$ -fetoproteína con efectos inmunosupresores. La madre por su parte, secreta anticuerpos bloqueantes que tapizan la placenta y van a neutralizar principalmente la acción de los Linfocitos Th1, favoreciendo el desarrollo de una respuesta de tipo Th2, y también secretara progesterona que tiene un efecto inmunosupresor.

En el momento en el que el feto ya se encuentra maduro, y tanto el especio como las necesidades metabólicas del mismo comienzan a ser insuficientes, va a sufrir un estrés que se verá traducido en un aumento del cortisol fetal, inducido por la secreción de prostaglandina  $F_{2\alpha}$  por parte de la placenta, que pone en marcha el eje hipotálamo-hipofisiario, y finalmente la secreción de cortisol por parte de las glándulas suprarrenales del feto. El cortisol atraviesa la placenta y genera cambios hormonales en la madre, desencadenando el parto. Estos corticoides, si bien son beneficiosos para el neonato, hay que recordar que tienen un efecto inmunosupresor, por lo que en el recién nacido se verán ciertos efectos como disminución de la concentración leucocitaria, de la blastogénesis de las células inmunes, de la quimiotaxis, y de la actividad fagocítica de los macrófagos, entre otros.

## Inmunidad innata y adaptativa del neonato

Los mamíferos neonatos estarán en contacto con una amplia variedad de microorganismos ni bien nazcan, y si bien son capaces de desarrollar una respuesta inmune en el momento del nacimiento, el sistema inmune adaptativo es virgen de toda experiencia inmunológica por lo que necesitará entrar en contacto con diferentes antígenos hasta poder generar una respuesta protectora adecuada. Por tanto, el sistema inmune innato juega un papel crucial, junto con la transferencia pasiva de la inmunidad, en las primeras semanas de vida para poder defender a la cría de los mismos. El modo en que la madre le transfiere los elementos inmunes, estará determinado por la complejidad estructural de la placenta que presente la especie, es decir, el número de capas que separe la circulación sanguínea materna de la fetal, de lo cual dependerá si el pasaje de los componentes inmunes es prenatal, postnatal o mixto (Tabla 11.1).

En el caso de los seres humanos y los primates la placenta es *hemocorial* donde la sangre materna está en contacto directo con el trofoblasto permitiendo el pasaje del 100% de las IgG, no así de la IgM y A. En los perros y gatos, el tipo de placenta es *endoteliochorial* donde el epitelio coriónico está en contacto con el endotelio de los capilares maternos, y permite que un 5-10% de IgG pase hacia el feto, aunque la mayor parte de la IgG se adquiere por el calostro. En el caso

de los rumiantes que tienen placenta *sindesmocorial* y de los equinos y suinos que tienen placenta *epiteliocorial* donde, el epitelio coriónico está en contacto con los tejidos uterinos, no hay pasaje de anticuerpos por placenta si no que dependen totalmente de los aquellas adquiridas a través del calostro.

**Tabla 11.1**

*Tipo de placentas y de transferencia pasiva de la inmunidad (TPI)*

Placenta	Hemocorial	Endoteliocotial	Sindesmocorial	Epiteliocorial
Capas	3	4	5	6
Especies	Roedores y primates	Caninos y felinos	Rumiantes	Equinos, cerdos y delfines
TPI	Placentaria	Placentaria/Calostrál	Calostrál	Calostrál
Porcentaje (%)	100	5/95	100	100
Igs	G	G-GMA	GMA	GMA

En el caso de las aves, la fecundación del ovocito ocurre en el ovario donde hay traspaso de IgG (denominada IgY en las aves) desde la circulación sanguínea de la madre hacia la yema, y pasará directamente a la circulación sanguínea del embrión. Cuando el huevo continúa el tránsito por el oviducto hay traspaso de IgM y A que se almacenará en la albúmina, la cual será consumida a medida que el embrión se vaya desarrollando, protegiendo así el intestino.

## Calostro

El calostro es la primera secreción láctea que se forma en la glándula mamaria de las hembras gestantes durante las últimas semanas de la gestación, inducido por los cambios hormonales (estrógeno y progesterona). Lo podríamos definir también como un verdadero equipo inmunológico que vehiculiza los mediadores innatos y adaptativos de la inmunidad y que actuarán contra los antígenos a los que se ve expuesta la cría. Las principales funciones del calostro son la de *proteger* a través de los componentes inmunes (principalmente a través de su elevadísima concentración de Igs), la de *nutrir* ya que tiene un alto porcentaje de materia grasa por lo que es indispensable para cubrir las demandas energéticas del recién nacido y actúa también como *laxante*, ya que ayuda a eliminar la primera materia fecal del neonato (meconio).

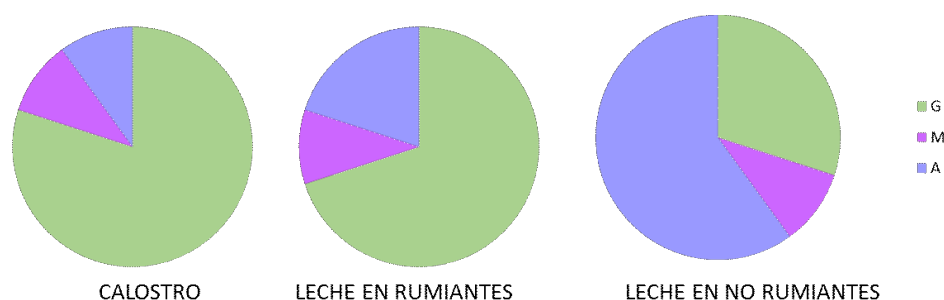
Las Igs llegan a la glándula mamaria para formar parte del calostro de dos maneras. En la que *inmunidad transmamaria* las Igs (la totalidad de la IgG 85% de la IgM 85% y 40% de la IgA presentes en el calostro) provienen de la circulación sanguínea de la madre. En la *inmunidad diatélica*, las Igs son producidas producen a nivel local por células plasmáticas en la lámina propia de los acinos mamaros. La forma en que las Igs pasan a la luz del acino mamario, ha sido ampliamente estudiado en los rumiantes, donde se lleva a cabo un mecanismo activo (selectivo) llamado *transcitosis*, a través de receptores para la porción Fc de las Igs que se ubica en la cara

basal de las células del acino, se forma una vacuola que atraviesa toda la célula y son liberadas en la luz del mismo. Algunas Igs pueden pasar también de forma pasiva por trasudación entre las células, o unidas a receptores Fc presentes en macrófagos y neutrófilos.

La IgG predomina en el calostro de todas las especies domésticas, seguida por la IgM e IgA, salvo en los rumiantes donde el porcentaje de estas últimas dos es igual. En la leche por su parte, a diferencia del calostro, va a predominar la IgA, seguida por la G y la M; salvo en los rumiantes donde sigue predominando la IgG seguida por la A y la M (Figura 11.2).

**Figura 11.2**

*Concentración de isotipos de inmunoglobulinas en el calostro y la leche de diferentes especies.*



Otra diferencia entre el calostro y la leche es su composición química, ya que el calostro tiene mayor porcentaje de todos los componentes a excepción de la lactosa que es mayor en la leche (Tabla 11.2).

**Tabla 11.2.**

*Comparación de la composición química del calostro y la leche en bovinos*

Elemento	Calostro	Leche
Sólidos totales %	32	13
Proteínas totales %	21	4
Caseína %	4.8	2.5
Ig %	15	0.09
Grasa %	6.7	4
Lactosa %	2.7	4.9
Minerales %	1.0	0.74
Densidad	1056	1032

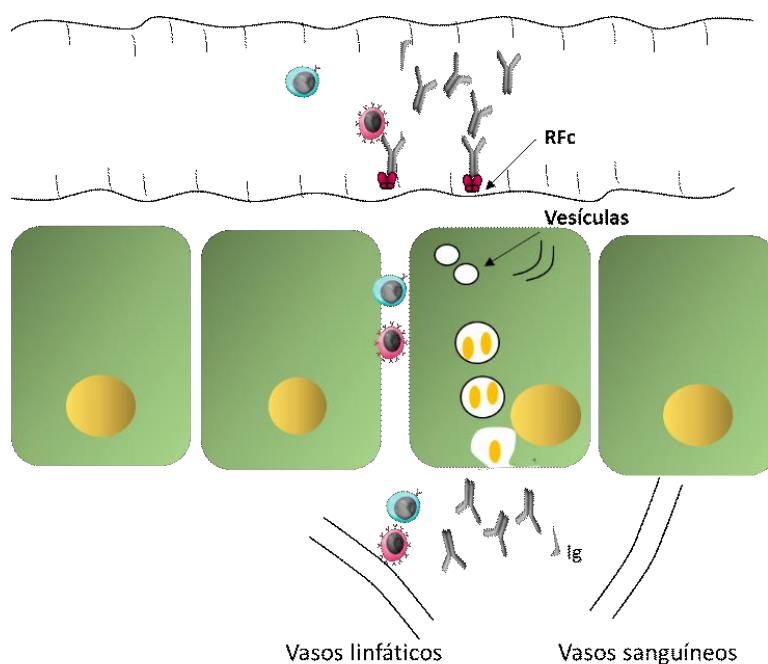
El éxito de la transferencia pasiva de la inmunidad va a depender de dos factores: por un lado, de la *calidad del calostro*, es decir de la concentración y diversidad de Igs y otros componentes presentes, que a su vez dependerá de la experiencia inmunológica y estado nutricional de madre gestante; y por otro lado de la *cantidad y momento* en que ese calostro sea ingerido por el neonato.

La absorción de las Igs presentes en el calostro tiene su pico máximo entre las 6-8 horas post-nacimiento y es prácticamente nula pasadas las 24 horas, por lo que se recomienda que la ingesta de calostro se realice lo antes posible. Esto se debe a que en las primeras 24 horas de vida, el sistema digestivo es inmaduro, y se encuentra aún inactivo con una débil actividad proteolítica, ya que casi no hay secreción de ácido clorhídrico o enzimas pancreáticas que puedan degradar las Igs. Además, el calostro presenta de una alta concentración de inhibidores de tripsina (1000 veces mayor que en la leche). Por otro lado, para que las Igs puedan pasar de la luz del intestino a la circulación sanguínea del neonato, es necesaria la presencia de *receptores Fc*, que están presentes en la cara apical de las células epiteliales del intestino delgado (yeyuno y primera porción del íleon). De este modo las Igs se adhieren ellos, y por transcitosis, atraviesan las células dentro de vesículas (endocitosis) sin sufrir ningún tipo de modificación, y son secretadas a la lámina propia de la membrana basal, donde se encuentran vasos sanguíneos y linfáticos a través de los cuales llegan a la circulación sanguínea (Figura 11.3). En el caso particular de la IgA permanece casi en su totalidad en el intestino, donde hay grandes cantidades de componente secretor libre que al unirse a la misma evita su absorción.

Pasado ese período, el sistema digestivo comienza a activarse por lo que las Igs pueden comenzar a degradarse (excepto la IgA), ya que tienen una estructura química proteica, que será degradada por las enzimas estomacales y pancreáticas, y por otro lado las células intestinales también maduran y dejan de expresar los receptores Fc, siendo la absorción prácticamente nula. Por todo ello, es fundamental la toma inmediata de calostro luego del nacimiento.

### Figura 11.3

*Mecanismo de absorción intestinal de Igs en el neonato*



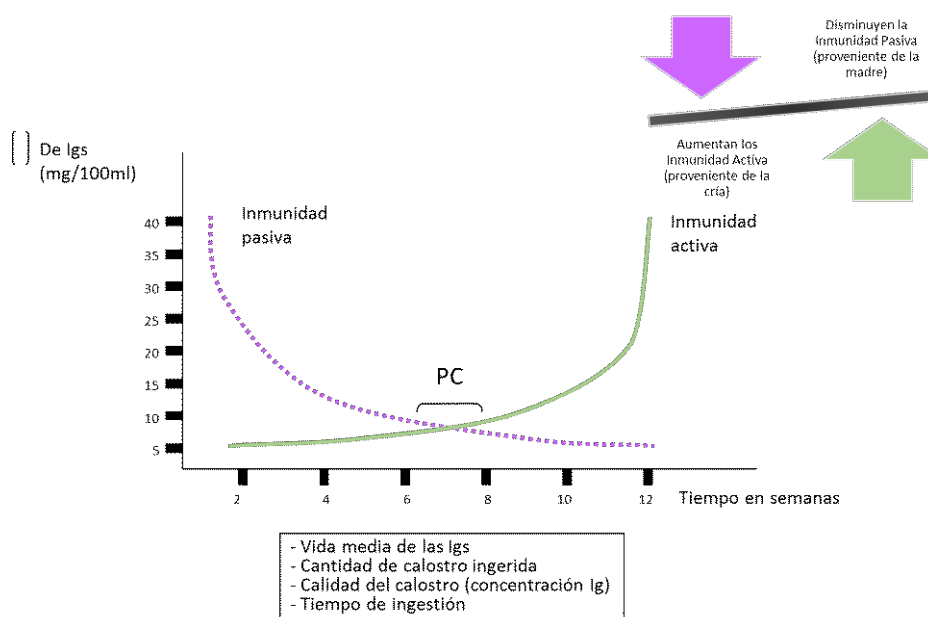
*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

## Período crítico de la cría

Las Igs adquiridas pasivamente por el calostro van a tener una vida media determinada que varía con las especies y el isotipo, lo que determinará el tiempo que otorgarán protección en las crías. Conociendo estos datos se podría estimar en qué momento comenzará a disminuir la concentración de Igs adquiridas desde la madre en función del tiempo, y como irá apareciendo la inmunidad activa propia de la cría. En base a esto es muy importante tener en cuenta el llamado *período crítico de la cría*, en el cual las Igs provenientes de la madre son casi nulas y aquellas producidas por el sistema inmune de la cría son aún escasas, por lo que el animal es muy susceptible a contraer enfermedades. Este período varía con la especie animal, pero también depende otros factores como la calidad, cantidad y momento en que la cría ingirió el calostro (Figura 11.4).

**Figura 11.4**

*Período crítico de la cría*



## Factores condicionantes para una exitosa transferencia pasiva de la inmunidad

Hay que tener en cuenta ciertos factores que harán que la transferencia pasiva de la inmunidad tenga mayor o menor éxito. Las causas pueden depender de la *madre*, de la *cría* o del *medio ambiente y manejo*.

Los factores dependientes de la *madre* se relacionan con la *edad*, donde es más frecuente la aparición de problemas en madres primerizas donde el volumen de calostro puede ser escaso,



al igual que la experiencia inmune que se traduce en un menor repertorio de Igs; el *estado nutricional*, ya que la malnutrición se traducirá en una pobre producción de Igs; *partos prematuros*, si ocurren partos muy tempranos no da tiempo a que se forme un adecuado volumen de calostro; o por el contrario las gestaciones prolongadas donde, por un lado el calostro comienza a secretarse antes del nacimiento y por otro lado la cría sufre la maduración del intestino antes de nacer y ya no ocurre la absorción de Igs; *partos distócicos* donde se puede ver afectada la producción de calostro, *rechazo de las crías*, que puede darse por varios factores como la carencia de instinto maternal, que suele pasar en hembras jóvenes; retención de placenta, donde la hembra se encuentra dolorida y con cambios hormonales que pueden afectar; en los casos de mastitis, ubres distendidas o pezones lesionados, donde la madre suele rechaza a la cría por dolor; o cuando no se respetan los tiempos de secado de la vaca y la producción de calostro puede ser deficiente.

Dentro de los *factores filiales o propios de la cría* podemos tener en cuenta: *los nacimientos prematuros* o *los neonatos débiles o enfermos*, donde las crías son débiles y a veces no pueden pararse por sí solas para mamar, y a su vez las madres tienen un escaso volumen de calostro; *el número de crías*, que se observa en las madres multíparas cuando la cantidad de crías supera la cantidad de pezones, siempre hay crías rezagadas que a veces no llegan a tomar el calostro dentro del período adecuado; *la ausencia de reflejo de succión* o las deformaciones del paladar que no permiten una buena toma del calostro; o el *síndrome de mala absorción* donde las Igs no logran absorberse adecuadamente.

Por último, podemos mencionar *los factores ambientales y de manejo* donde ambientes de parición donde hay un exceso de frío o calor o un mal manejo de las hembras preñadas pueden generar estrés en las mismas y una baja producción de calostro.

# CAPÍTULO 12

## Inmunodiagnóstico: pruebas primarias

*Lucía María Campero y María Cecilia Venturini*

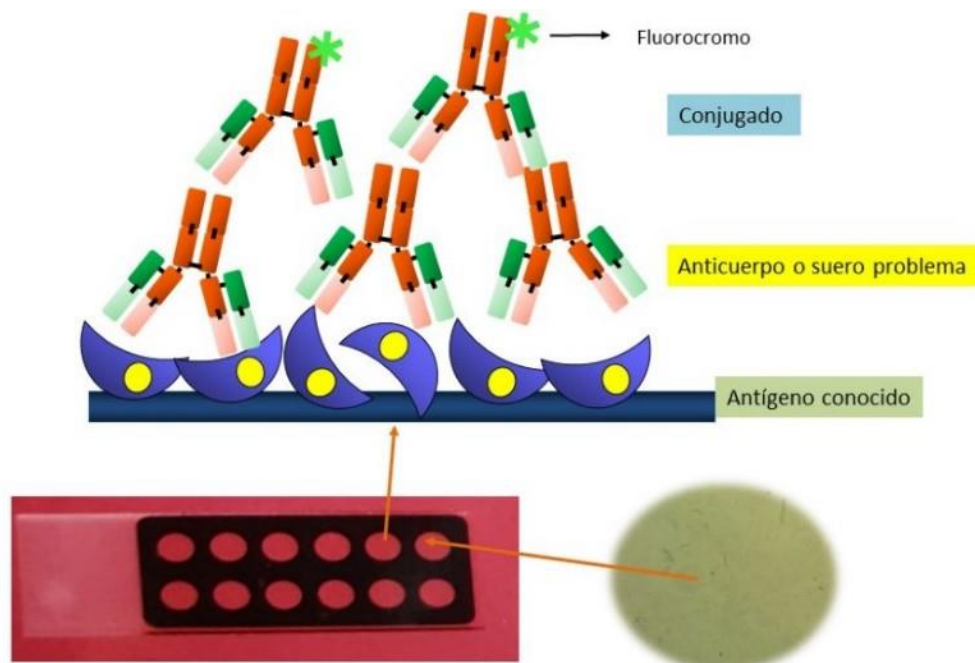
Las pruebas de inmunodiagnóstico se clasifican en: primarias, secundarias y terciarias, según los microgramos de proteínas que sean capaces de detectar. Las pruebas primarias detectan pequeñas cantidades de proteínas y ejemplos de ellas son:

- I. Inmunofluorescencia (IF)
- II. Ensayo de inmunoadsorción ligado a enzima (ELISA)
- III. *Immunoblot* (IB)

### Inmunofluorescencia

Las pruebas de IF se fundamentan en la detección de la unión entre el antígeno con el anticuerpo específico, mediante el uso de un conjugado marcado con un fluorocromo. La lectura de la reacción se realiza con un microscopio de fluorescencia que emite un haz de luz ultravioleta de una determinada longitud de onda, que incide sobre el portaobjeto, excitando al fluorocromo del conjugado, haciendo que éste emita un haz de luz con otra longitud de onda, que será registrada por el ojo del observador. Esta prueba se clasifica en indirecta (IFI) y directa (IFD).

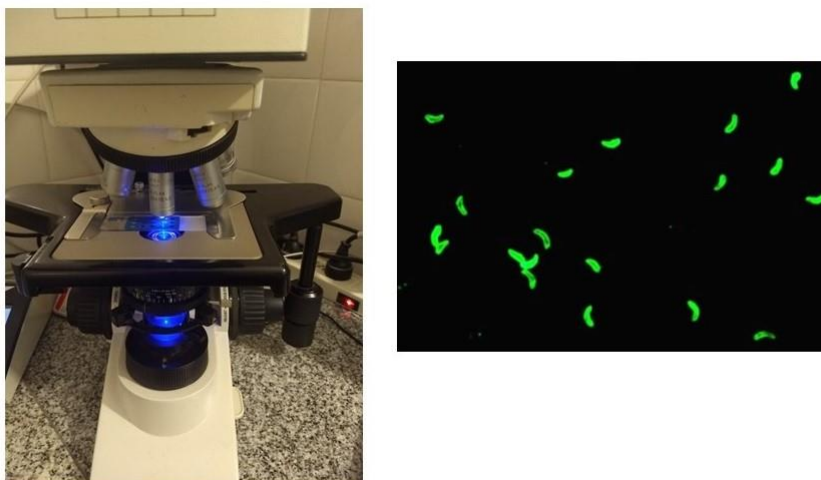
La IFI (Figura 12.1) se fundamenta en la detección de *anticuerpos específicos en sueros problemas* (sueros de animales sospechosos de una determinada enfermedad) utilizando un *antígeno conocido*. El antígeno diagnóstico conocido está ubicado sobre áreas definidas, en un portaobjeto que actúa como soporte. Dicho antígeno es producido en laboratorios especializados, que siguen determinados protocolos para cada agente infeccioso.

**Figura 12.1***Esquema de la Inmunofluorescencia indirecta*

Los pasos de la prueba de IFI se pueden resumir en una primera instancia en que el antígeno diagnóstico conocido se enfrenta al suero problema y se incuba a 37°C durante un período de tiempo, usualmente 30 minutos. Posteriormente, se realiza un lavado, generalmente con una solución bufferada de fosfatos (PBS) en agitación para eliminar todo tipo de unión inespecífica. Si el suero problema tuviera anticuerpos específicos para ese antígeno, quedarán unidos y no serán eliminados mediante el lavado. Como último paso de esta prueba, se adiciona el *conjugado*, formado por la *inmunoglobulina anti-especie* específica marcada con el *fluorocromo*, por ejemplo, *isotiocianato de fluoresceína*. Se incuba nuevamente y se realiza un último lavado. Si en el suero problema había anticuerpos específicos y se produjo la reacción antígeno-anticuerpo, el conjugado anti-especie quedará unido y al observar al microscopio de fluorescencia se detectará fluorescencia periférica completa, identificando al antígeno diagnóstico, lo que se expresará como un resultado *positivo* (Figura 12.2).

**Figura 12.2**

*Derecha: Microscopio de fluorescencia. Izquierda: Microfotografía de un área del portaobjeto con un suero control positivo para Neospora caninum*

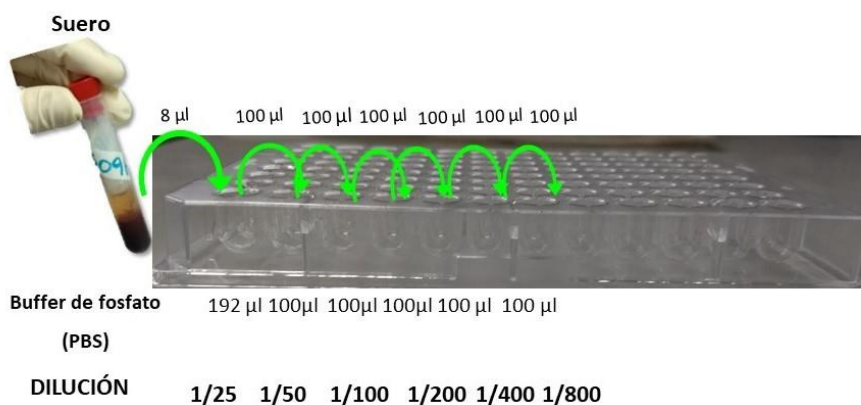


*Nota.* Fotografías: Archivo del Laboratorio de Inmunoparasitología (LAINPA), FCV, UNLP

En caso de que no hubiera habido anticuerpos específicos para ese antígeno, al agregar el conjugado anti-especie, éste será eliminado con el lavado. Así, al observar al microscopio no se visualizará fluorescencia, indicando un resultado *negativo*. El suero problema se debe diluir en PBS, según el protocolo de la enfermedad que se desea diagnosticar (Figura 12.3).

**Figura 12.3**

*Demostración de una dilución del suero problema en PBS sobre una placa de dilución*



*Nota.* Fotografías: Archivo del Laboratorio de Inmunoparasitología (LAINPA), FCV, UNLP

La *IFD* detecta la presencia de antígenos desconocidos en una muestra biológica problema, utilizando un conjugado *anti-antígeno* específico, que se une al antígeno sospechoso, en el caso de un resultado *positivo*.

**Figura 12.4****Esquema de la Inmunofluorescencia directa****Ej. Diagnóstico de *Campylobacter*: IFD**

Se toma el material sospechoso del abomaso y se coloca sobre el área del portaobjeto.

Los conjugados utilizados en las pruebas primarias indirectas se basan en 1) la obtención y purificación de Igs del suero de diferentes especies y 2) su unión con el fluorocromo, en el caso de IF. Para ello el laboratorio productor, elabora un protocolo de inmunización de un animal receptor, por ejemplo, una cabra, un conejo, un caballo, con Igs purificadas obtenidas de una especie filogenéticamente distante. Las Igs heterólogas, de naturaleza proteica, no son reconocidas por la especie receptora, que como consecuencia generará anticuerpos. Se seguirá un protocolo determinado de inmunización con *Igs de otra especie a un animal receptor* y luego de un tiempo se analizará el título de anticuerpos generados en el animal inoculado. Al corroborar una determinada concentración de Igs producidas de acuerdo con el protocolo de inmunización, se sangra al animal y se procede a la purificación de las Igs. Éstas se unen a un fluorocromo si se tratara de la producción de conjugados para IF o a enzimas si se produjeran conjugados para pruebas inmunoenzimáticas (ELISA e *Immunoblot*).

**Ensayo de inmunoadsorción ligado a enzima. ELISA**

La prueba de *ELISA* o ensayo de inmunoadsorción ligado a enzima tiene como fundamento la detección de la unión antígeno-anticuerpo mediante el uso de un conjugado que está marcado con una enzima. Esta enzima actuará sobre un sustrato y en presencia de un cromógeno se registrará color (densidad óptica) mediante un lector de ELISA o espectrofotómetro. Las pruebas de ELISA se pueden clasificar en: ELISA directa, indirecta, de captura y de competencia.

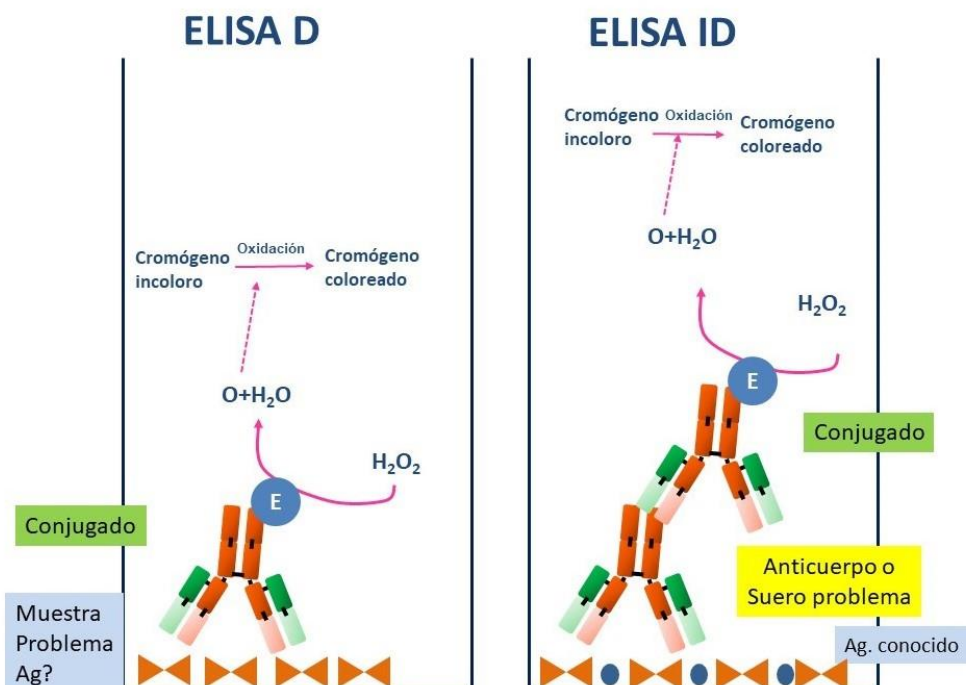
La prueba de *ELISA directa* se utiliza para la búsqueda de *antígenos desconocidos*, mediante el uso de conjugados anti-antígenos marcados con una enzima (Figura 12.5). La muestra biológica (material donde sospechamos puede estar presente el antígeno) se adsorbe en una placa de poliestireno con fondo plano y se enfrenta a un conjugado anti-antígeno marcado con

una enzima, por ejemplo, la enzima peroxidasa. Se realiza una incubación y luego un lavado. Si el antígeno está presente en la muestra biológica, el conjugado quedará unido. Es necesario adicionar en una segunda etapa el sustrato sobre el que actuará la enzima, en este caso, el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ). Junto con el sustrato se adiciona un cromógeno (ej: cloronaftol). El cromógeno es incoloro bajo su forma no oxidada. De modo que, si la enzima contacta con el sustrato, va a escindir al peróxido de hidrógeno en: agua ( $H_2O$ ) + oxígeno (O). Este oxígeno queda libre y al unirse al cromógeno, oxidándolo, se vuelve coloreado. Es esta la coloración que se detecta como densidad óptica, al medir la placa en un espectrofotómetro. Dado que luego de cada incubación se realiza un lavado, en el caso que *no existiera* antígeno en el material biológico, cuando se adiciona el conjugado anti-antígeno marcado con la peroxidasa, no va a tener antígeno para unirse y será eliminado en el lavado. Por eso, al agregar el sustrato con el cromógeno, no se detectará reacción colorimétrica, resultando en una muestra *negativa*.

En la prueba de *ELISA indirecta* el *antígeno diagnóstico es conocido* y se buscan *anticuerpos* específicos en el suero problema (Figura 12.5). Luego de la incubación y lavado se adiciona el conjugado *inmunoglobulina anti-especie específica* unido a una enzima. Se incuba y lava y finalmente se adiciona el sustrato junto con cromógeno y se cuantifica la coloración mediante el espectrofotómetro, como se indicó para el ELISA directo.

**Figura 12.5**

Esquema comparativo de los ELISAS directo e indirecto

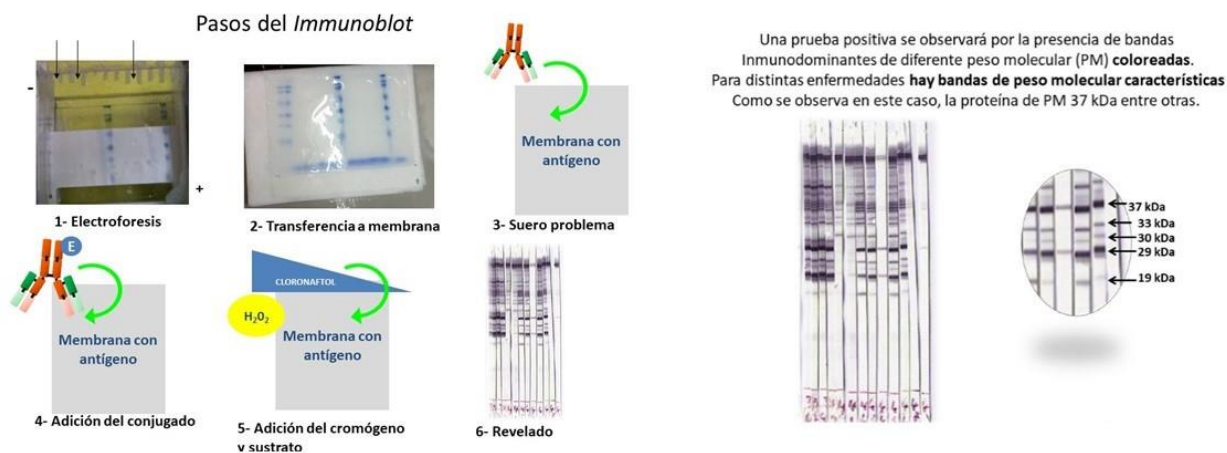


## Immunoblot

La prueba de IB se fundamenta en la detección de inmunoreacciones hacia antígenos inmunodominantes. Para ello, se realiza una corrida electroforética del antígeno en geles de poliacrilamida, con el objetivo de separar el antígeno por tamaño, donde los epitopos más pequeños son los que más migrarán en la corrida. Luego se realiza una inmunotransferencia de esta corrida desde el gel a un soporte más fuerte como membranas de nitrocelulosa o de polivinildifluoreno. Esta membrana con el antígeno separado por peso molecular es lo que actúa como antígeno diagnóstico conocido en la prueba de IB. La membrana será cortada en tiras y cada tira se enfrentará al suero problema. Se realiza una incubación seguida de un lavado, y se adiciona un conjugado anti-especie específico marcado con una enzima. Nuevamente se incubaba y se realiza un lavado y finalmente se adiciona un sustrato y un cromógeno. La detección de inmunoreacciones hacia antígenos inmunodominantes revela un resultado positivo (Figura 12.6).

**Figura 12.6**

*Izquierda: Esquema del inmunoblot. Derecha: revelado final del inmunoblot*



*Nota.* Fotografías: Archivo del Laboratorio de Inmunoparasitología (LAINPA), FCV, UNLP

## CAPÍTULO 13

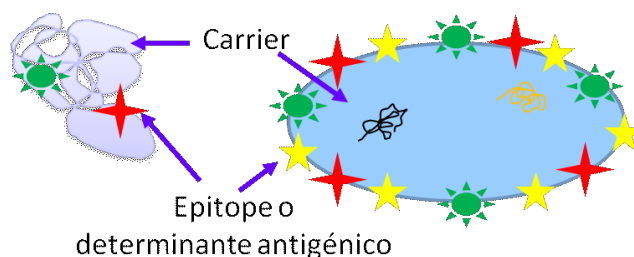
### Inmunodiagnóstico: *pruebas secundarias y terciarias*

*María Laura Gos y Graciela Miceli*

En las reacciones observables *in vitro*, las uniones antígeno-anticuerpo dependen de la polivalencia del antígeno y de la bivalencia del anticuerpo. Los antígenos están formados por una molécula portadora o *carrier*, y los epitopos o determinantes antigénicos que determinan su especificidad (Figura 13.1). La unión antígeno-anticuerpo presenta dos etapas. En la etapa primaria participan fuerzas no covalentes y lábiles como los puentes de hidrógeno, uniones electrostáticas, de van der Waals y los enlaces hidrofóbicos, y sus fuerzas son inversamente proporcionales a la distancia entre los grupos reaccionantes. En la etapa secundaria ocurre la ley de oclusión de *Boyd* donde los enlaces pasan de ser hidrofílicos a hidrofóbicos y se excluye el agua, ocurre la unión por acercamiento entre el determinante antigénico y el sitio de unión del anticuerpo y se forman redes tridimensionales que forman el denominado enrejado de *Marrack*.

**Figura 13.1**

*Estructura de los antígenos*



Las pruebas inmunoserológicas secundarias son aquellas donde la consecuencia de la unión antígeno-anticuerpo se hace visible por sí sola con la aparición de grumos o aglutinados, bandas de precipitado o entramados, dependiendo del tipo de antígeno, del medio y del soporte. Las pruebas secundarias son la aglutinación, la precipitación, la inhibición de la hemoaglutinación y la fijación del complemento.



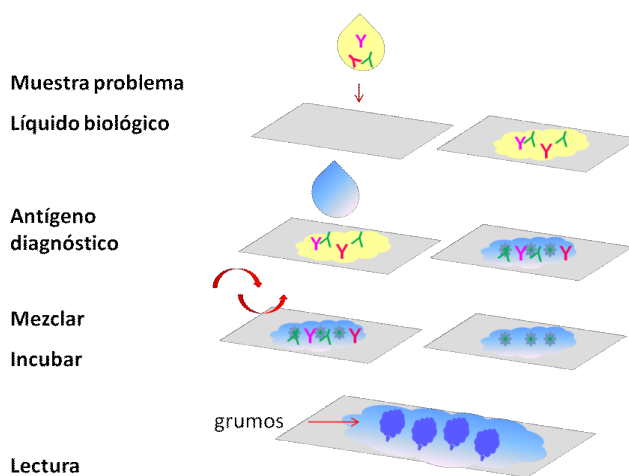
## Pruebas secundarias

### Aglutinación

La reacción de aglutinación se produce cuando un *antígeno particulado* o *forme* se une a su anticuerpo específico. La consecuencia de esta unión se hace visible con la aparición de grumos, aglutinado o entramado en un medio líquido. La inmunoglobulina más eficiente para esta prueba es la IgM. En esta prueba pueden utilizarse distintos soportes como portaobjetos, tubos con medio líquido bufferado o placas de poliestireno. La aglutinación se clasifica como directa o indirecta. La aglutinación es directa cuando el antígeno es naturalmente particulado, como en la prueba de Angus y Barton (BPA) para brucelosis bovina, donde el antígeno es una suspensión de bacterias (*Brucella abortus*) que se enfrenta a un suero problema donde se encuentran los anticuerpos específicos (Figura 13.2). Cuando la prueba se realiza en tubos se observa la aparición de un aglutinado en el fondo de los mismos, y con una leve agitación se observarán los grumos suspendidos en el líquido. La prueba de anillo en leche es una prueba que se utiliza para determinar la presencia de anticuerpos para brucelosis en animales de tambo. En la prueba positiva se forma un anillo coloreado que representa la unión antígeno-anticuerpo que queda adherida a los glóbulos de grasa (Figura 13.3). En la prueba de aglutinación en placa, como en la prueba de aglutinación para toxoplasmosis, se utiliza como antígeno el parásito *Toxoplasma gondii* completo, evidenciándose un entramado cuando ocurre la reacción antígeno-anticuerpo, mientras que la aparición de un botón en el fondo del pocillo indica un resultado negativo, ya que el antígeno sin aglutinar sedimenta en el fondo del mismo.

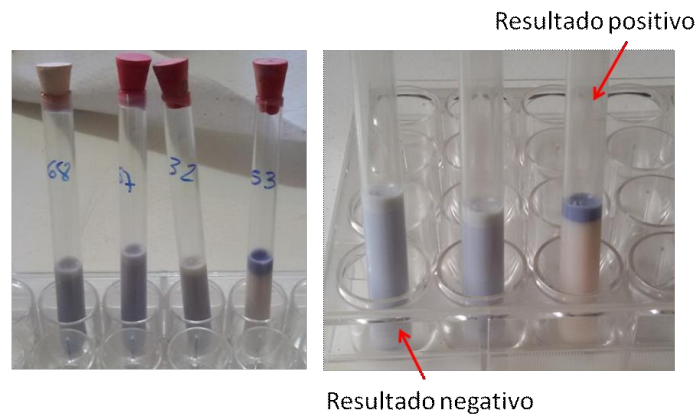
**Figura 13.2**

*Pasos de la aglutinación directa*



**Figura 13.3**

*Prueba del anillo en leche para brucelosis bovina (Aglutinación en tubo)*



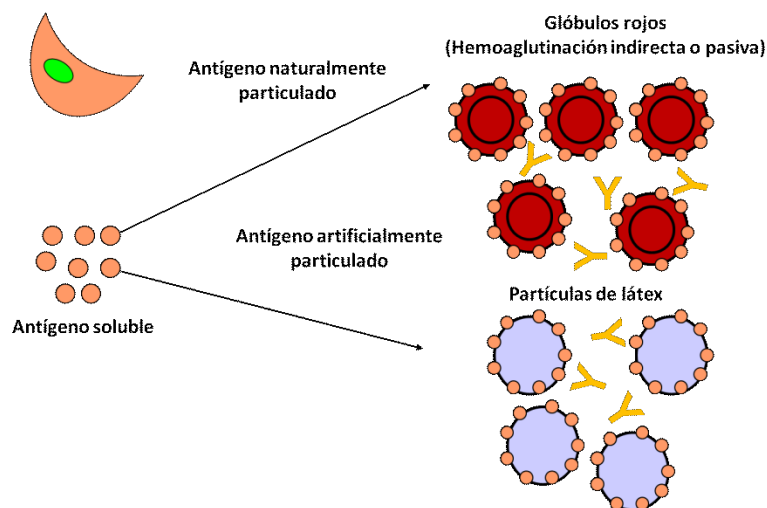
*Nota.* Fotografías: Archivo del Laboratorio de Inmunología, FCV, UNLP

En la aglutinación indirecta se utiliza un antígeno originalmente soluble unido a partículas como eritrocitos o partículas de látex, que funcionan de soporte, para hacerlo particulado (Figura 13.4). Cuando los antígenos solubles se unen a eritrocitos, la prueba se denomina hemoaglutinación indirecta o pasiva.

En todas las pruebas de aglutinación, puede aparecer el denominado efecto de zona o prozona, el cual se produce cuando existe un exceso de anticuerpos que cubren al antígeno y no se visualiza la reacción. En este caso, cuando se realizan diluciones del suero, la concentración de antígeno y anticuerpo comienzan a encontrarse en proporción óptima que permite la observación del entramado de Marrack. Por lo tanto, en los sueros en que se observa el efecto de zona, las primeras diluciones del suero se observan como negativas, y las siguientes se observan positivas.

**Figura 13.4**

*Aglutinación indirecta*

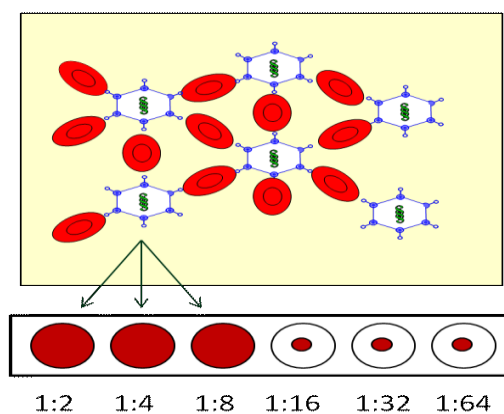


## Inhibición de la hemoaglutinación

La inhibición de la hemoaglutinación (IHA) es una prueba inmunoserológica que se basa en la inhibición de la capacidad que tienen algunas familias de virus de aglutinar glóbulos rojos de diversas especies de animales (hemoaglutinación). Esto se logra mediante la presencia de glicoproteínas de superficie denominadas hemoaglutininas, las cuales se unen a receptores glicoproteicos de los glóbulos rojos que contienen ácido siálico con residuos terminales de ácido N-acetil neuramínico. La hemoaglutinación no es una reacción inmunológica; permite determinar la presencia y titulación de virus hemoaglutinantes, debido a que determinar el título del virus que va a ser usado en la prueba de inhibición de la hemoaglutinación. Para realizar la prueba de hemoaglutinación, se incubaba una muestra que contiene virus y glóbulos rojos. Cuando la reacción es positiva se forma en suspensión un enrejado de glóbulos rojos-virus y cuando la concentración del virus no es suficiente para unirse a los glóbulos rojos el entramado desaparece y la reacción aparece como un botón debido a que los glóbulos rojos sedimentan en el fondo del pocillo. Se considera que el último pocillo donde aparece el entramado es donde existe una unidad hemoaglutinante. Para realizar la prueba de inhibición de la hemoaglutinación se utiliza como antígeno una concentración viral de 4 a 8 unidades hemoaglutinantes (Figura 13.5).

**Figura 13.5**

*Resultado de una hemoaglutinación*

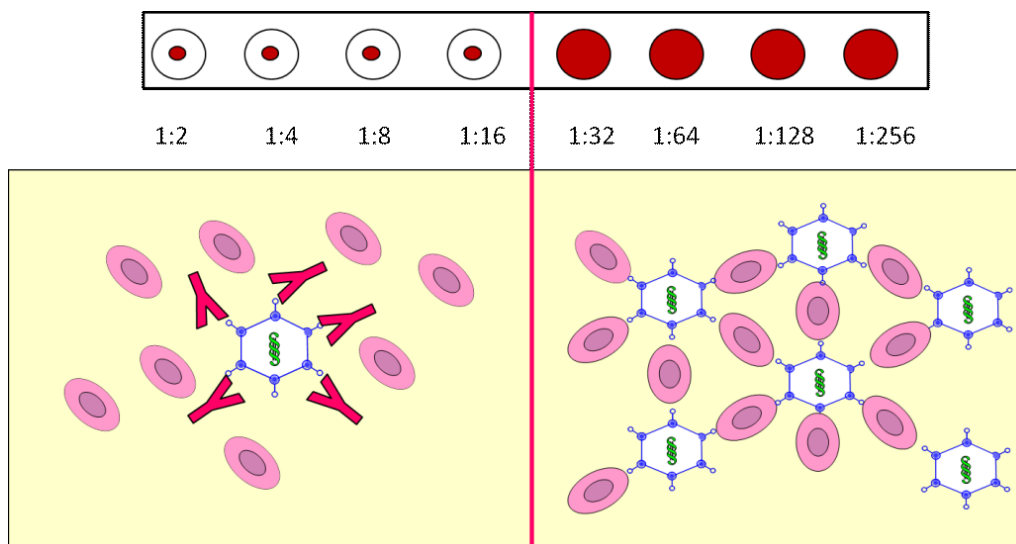


La prueba de inhibición de la hemoaglutinación (IHA) se fundamenta en que los anticuerpos específicos inhiben la capacidad hemoaglutinante de ciertos virus. Se utiliza para la titulación de anticuerpos inhibidores de la hemoaglutinación en sueros problemas, por lo que es una reacción inmunológica. La lectura de la IHA se realiza de forma inversa a la de la hemoaglutinación. En una reacción positiva, los anticuerpos del suero se unen con los virus, formando una reacción antígeno-anticuerpo, y los glóbulos rojos decantan formando un botón. Cuando desaparece el botón y aparece el entramado significa que el virus comenzó a unirse a los glóbulos rojos porque ya no existen más anticuerpos disponibles para unirse con el virus. La última dilución donde aparece un botón es la última dilución donde aparece la IHA, y para determinar un título se

multiplica la última dilución por 4 u 8 unidades de hemoaglutinación que fueron determinadas en las pruebas de hemoaglutinación (Figura 13.6).

**Figura 13.6**

*Resultados de una prueba de Inhibición de la hemoaglutinación*

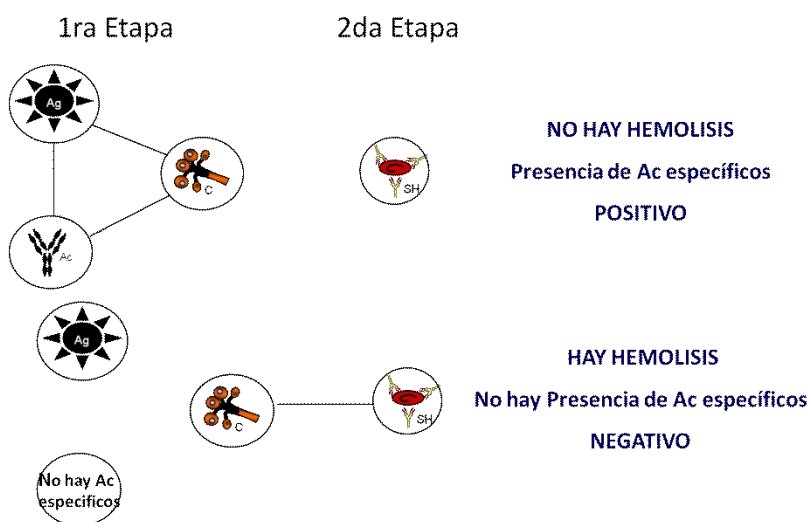


## Fijación del complemento

La activación del sistema del complemento debido a la unión antígeno-anticuerpo, produce la formación del complejo de ataque de membrana capaz de romper las membranas celulares. La prueba de fijación del complemento se fundamenta en la capacidad del complemento para unirse a complejos antígeno-anticuerpo y la lisis de los eritrocitos sensibilizados del sistema hemolítico revelador. Para realizar esta prueba se necesita un sistema indicador o revelador en el cual se utilizan glóbulos rojos de oveja que se combinan con un suero hiperinmune con anticuerpos anti-glóbulos rojos de oveja producido en conejos (glóbulos rojos sensibilizados) y también complemento que se obtiene de suero de cobayos. La reacción se realiza en dos etapas: en una primera etapa se incuba el suero problema con el antígeno conocido en presencia del complemento y en una segunda etapa se agrega el sistema hemolítico. Si no hay hemólisis significa que existían anticuerpos específicos y el resultado de la prueba es positivo, lo que se atribuye a que en la primera etapa los anticuerpos del suero se unieron al antígeno y el complemento se unió a esa unión antígeno-anticuerpo, quedando en la segunda etapa el sistema hemolítico libre, por lo tanto, no ocurre hemólisis. Si el resultado fuera una hemólisis significa que en la primera etapa en el suero problema no había anticuerpos específicos, no ocurrió la unión antígeno-anticuerpo y el complemento quedó libre, así en la segunda etapa al agregar el sistema hemolítico el complemento actuó sobre el sistema hemolítico, siendo la hemólisis el resultado de una prueba negativa (Figura 13.7)

**Figura 13.7**

*Resultados de una prueba de Fijación del Complemento*



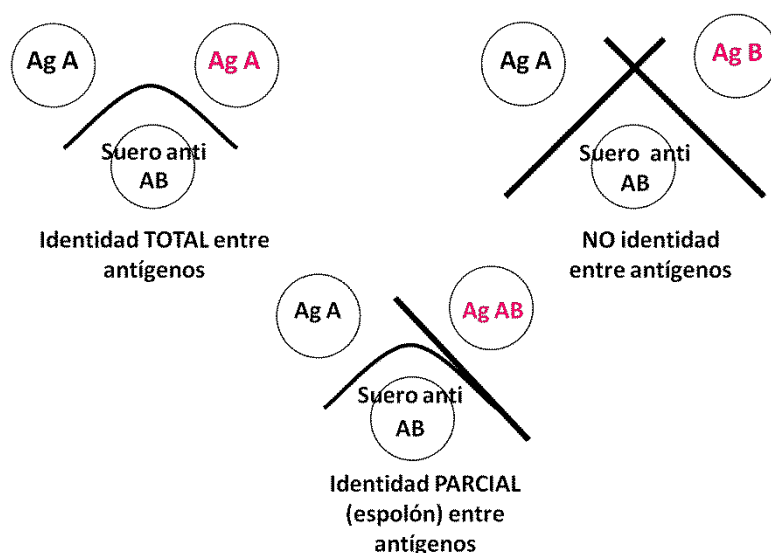
## Precipitación

Es una prueba en la cual el antígeno se encuentra soluble y al unirse al anticuerpo específico se forma un precipitado, que se observa como una banda en un medio semisólido. El anticuerpo más activo en esta prueba es la IgG dado a que por su pequeño tamaño puede difundir a través de los medios de soporte como el agar noble o la agarosa. Estos medios son transparentes y permiten así visualizar las bandas de precipitación como líneas blancas. Los antígenos solubles que se utilizan para la precipitación pueden ser proteínas nativas (proteínas bacterianas citoplasmáticas o de membrana, proteínas virales estructurales o no estructurales, proteínas cárnicas, toxinas, proteínas séricas) o proteínas recombinantes, polisacáridos o polímeros de ácidos nucleicos. Las muestras pueden ser antígenos desconocidos (extractos cárnicos, gliadina) o anticuerpos problemas de líquidos biológicos como el suero. El antígeno y el anticuerpo difunden en la matriz gelificada y se unen formando inmunocomplejos antígeno-anticuerpo, que en la zona de equivalencia (enrejado de Marrack) producen una banda de precipitado. Este fenómeno se encuentra regido por las leyes de la inmunodifusión que determinan que la difusión se produce desde gradientes de mayor concentración hacia los de menor concentración, que la velocidad de difusión es directamente proporcional a la cantidad del reactante e inversamente proporcional a su peso molecular, y que la velocidad de difusión es inversamente proporcional a la concentración del gel, es decir, cuanto más concentrado está el gel, más lenta será la difusión. Un ejemplo de estas pruebas es la Prueba de Ouchterlony o doble difusión bidireccional en placa, donde se encuentra un pocillo central con el suero anti-antígeno y pocillos laterales con las muestras problemas que son antígenos. Los antígenos y anticuerpos difunden uno hacia el otro hasta que aparece una banda de precipitado en el lugar de unión.

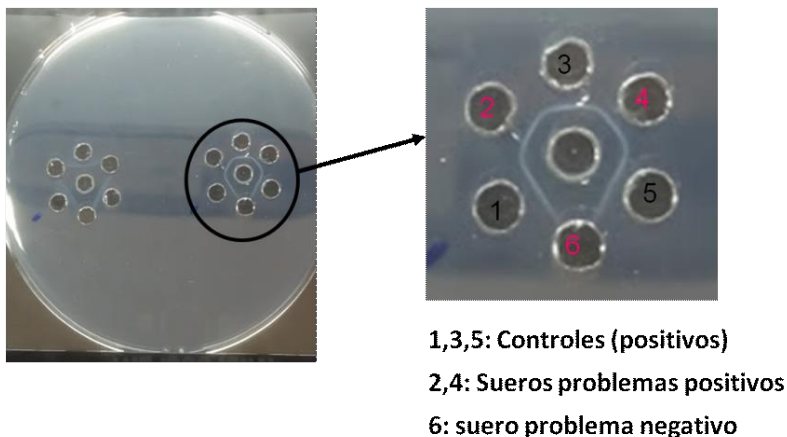
Cuando la concentración de los reactantes es equilibrada la banda de precipitación aparece en el centro entre el pocillo del anticuerpo y el antígeno, cuando la banda aparece más cercana al pocillo central del anticuerpo significa que la concentración de antígeno es muy alta y no permite difundir al anticuerpo, y si en cambio la banda de precipitación está más cercana a los pocillos laterales del antígeno significa que hay alta concentración de anticuerpo y baja de antígeno. Existen tres interpretaciones de resultados de esta prueba: identidad total (cuando aparece la coalescencia de los arcos, lo que determina que existe identidad inmunológica entre las muestras), no identidad entre antígenos (cuando los arcos o bandas se cruzan, lo que significa que no comparten ningún determinante antigénico) e identidad parcial entre antígenos (cuando aparece un espolón, lo que significa que comparten sólo algunos determinantes antigénicos) (Figura 13.8).

### Figura 13.8

*Interpretación de resultados de la Prueba de Ouchterlony*



En el test de Coggins, que es una prueba de inmunodifusión doble bidireccional en placa para el diagnóstico de la anemia infecciosa equina, en el pocillo central se coloca el antígeno conocido y en los pocillos laterales los sueros con anticuerpos, donde en tres pocillos se colocan controles positivos y en otros tres los sueros problemas en forma alternada. En las reacciones positivas se observa una banda de precipitación que va a unir el pocillo del suero problema con el del control. Cuando las bandas de precipitación de los controles van hacia un pocillo donde se encuentra un suero problema, pero no forman una banda para ese pocillo, significa que ese suero problema es negativo (Figura 13.9).

**Figura 13.9***Test de Coggins para el diagnóstico de la anemia infecciosa equina*

*Nota.* Fotografías: Archivo del Laboratorio de Inmunología, FCV, UNLP

**Pruebas terciarias**

Las pruebas terciarias son pruebas que detectan la unión antígeno-anticuerpo en sistemas vivos, ya sean cultivos celulares o animales de laboratorio, donde se puede observar la variación sobre el cultivo o la muerte o enfermedad del animal. Dentro de las pruebas terciarias se encuentran la seroneutralización y la seroprotección.

**Seroneutralización**

Consiste en la neutralización de un microorganismo o producto del mismo (toxina) por acción de anticuerpos específicos presentes en un suero problema. Presenta una fase que se realiza *in vitro* y otra *in vivo*. Se utiliza para identificar virus desconocidos o para medir la actividad específica de los anticuerpos. *In vitro* se realizan las distintas diluciones del suero problema y se agrega el antígeno conocido y posteriormente se incuban a 37° para permitir la unión antígeno-anticuerpo. Luego se inoculan cultivos celulares o animales de laboratorio. Como resultado se observa que, si el anticuerpo específico se unió al antígeno, este último quedó neutralizado y el cultivo queda sin alteraciones por inhibición del efecto citopático del antígeno (ausencia de efecto lítico, vacuolización, agregación celular, cuerpos de inclusión, sincitios), y en animales hay ausencia de lesiones, enfermedad o muerte.

## Seroprotección

Esta prueba se realiza completamente *in vivo*. Se inoculan los animales con las distintas diluciones del suero y luego se lo desafía con dosis determinadas de microorganismos o toxinas, y se observan los efectos sobre los animales. Se utiliza para determinar títulos protectores de sueros o tipificación de antígenos.



## Bibliografía

- Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Pillai, S. (2014). *Inmunología Básica. Funciones y trastornos del sistema inmunitario*. Elsevier Saunders, Barcelona.
- Akkaya, M., Kwak, K., Pierce, S.K. 2020. B cell memory: building two walls of protection against pathogens. *Nat. Rev. Immunol.*, 20(4):229-238. doi: 10.1038/s41577-019-0244-2.
- Barbeito, C.G. y Diessler, M.E. (2022). *Introducción a la Histología Veterinaria*. EDULP, La Plata.
- Campos de Souza, D., da Silva, D.G., Coelho Fonseca L.C., de Castro Fiori, L., Moura Monteiro, B., Bernardes, O., Batista Viana, R., Fagliari, J.J. (2020). Passive Immunity Transfer in Water Buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Front. Vet. Sci.* 7:247. doi: 10.3389/fvets.2020.00247
- Campero, L.M., Minke, L., Moré, G., Rambeaud, M., Bacigalupe, D., Moore, D.P., Hecker, Y., Campero, C.M., Schares, G, Venturini, M.C. (2015). Evaluation and comparison of serological methods for the detection of bovine neosporosis in Argentina. *Rev Argent Microbiol.*, 47(4):295-301. doi: 10.1016/j.ram.2015.07.002.
- Chastant, S., Mila, H. (2019). Passive immune transfer in puppies. *An. Rep. Sci.*, 207: 162-170. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.06.012>
- Day, M. J., Shultz, R. D. (2014) *Veterinary Immunology: Principles and Practice*. CRC Press, Boca Raton.
- Delves, P., Martin, S., Burton, D., Roitt, I. (2014). *Roitt- Inmunología. Fundamentos*. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires.
- Fainboim, L., Geffner, J. (2011). *Introducción a la Inmunología humana*. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires.
- Fariñas Guerrero, F. (2015). *Casos clínicos de Inmunología*. Editorial Inter-Médica: Buenos Aires. <https://www.stem.org.uk/resources/elibrary/resource/35694/immune-system>
- Mesin, L., Ersching, J., Victora, G.D. 2016. Germinal Center B Cell Dynamics. *Immunity*, 45(3):471-482. doi: 10.1016/j.immuni.2016.09.001.
- Murphy, K., Travers, P., Walport, M. (2010). *Inmunobiología de Janeway*. Mc Graw-Hill/ Interamericana, México.
- Pennimpepe, E. F. F., Gómez, C., Stanchi, N. O. (2004). *Introducción a la Inmunobiología*. EDULP, La Plata.
- Tizard, I. (2019). *Introducción a la Inmunología Veterinaria*. Elsevier, Barcelona.
- Venturini, M.C., Bacigalupe, D., Miceli, G., Larsen, A., Rambeaud, M., Pardini, L, Dellarupe, A., Serena, S., Campero, L.M., Gos, M.L., Bernstein, M. (2012). *Manual de Inmunodiagnóstico*. Curso Inmunobiología Animal Básica, FCV-UNLP.

## Las autoras

### Coordinadoras

#### **Venturini, María Cecilia**

Ph.D., Universidad de Tokyo. Doctor en Ciencias Veterinarias, Médica Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Profesora Titular, Cátedra de Inmunología Veterinaria Básica, FCV, UNLP. Directora Laboratorio de Inmunoparasitología (LAINPA), FCV, UNLP.

#### **Rambeaud, Magdalena**

Ph.D., Master of Science, Universidad de Tennessee. Médica Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Profesora Adjunta, Cátedra de Inmunología Veterinaria Básica, FCV, UNLP, con lugar de trabajo en el Laboratorio de Inmunoparasitología (LAINPA), FCV, UNLP.

### Autoras

#### **Álvarez, Betiana Elizabeth**

Médica Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Auxiliar Diplomada, Cátedra de Inmunología Veterinaria Básica, FCV, UNLP. Becaria doctoral en CONICET y Tesista de la Carrera de Doctorado en Ciencias Veterinarias (FCV, UNLP), con lugar de trabajo en el Laboratorio de Inmunoparasitología (LAINPA), FCV, UNLP.

#### **Bernstein, Mariana**

Doctora en Ciencias Veterinarias, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV). Licenciada en Biología (Orientación Zoología), Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Jefe de Trabajos Prácticos, Cátedra de Inmunología Veterinaria Básica, FCV, UNLP. Investigadora Asistente en CONICET, con lugar de trabajo en el Laboratorio de Inmunoparasitología (LAINPA), FCV, UNLP.

#### **Campero, Lucía María**

Doctora en Ciencias Veterinarias, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV). Licenciada en Biología (orientación Zoología, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Investigadora Asistente en CONICET, con lugar de trabajo en el Grupo de Sanidad Animal, del Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (IPADS-CONICET-Balcarce).

### **Dellarupe, Andrea**

Doctora en Ciencias Veterinarias, Médica Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Profesora Adjunta, Cátedra de Inmunología Veterinaria Básica, FCV, UNLP. Investigadora Adjunta en CONICET, con lugar de trabajo en el Laboratorio de Inmunoparasitología (LAINPA), FCV, UNLP.

### **Gos, María Laura**

Doctora en Ciencias Veterinarias, Especialista en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio, Médica Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Jefe de Trabajos Prácticos, Cátedra de Inmunología Veterinaria Básica, y Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias, FCV, UNLP, con lugar de trabajo en el Laboratorio de Inmunoparasitología (LAINPA), FCV, UNLP.

### **Larsen, Alejandra Edith**

Doctora en Ciencias Veterinarias, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Plata (UNLP), Magister en Microbiología Molecular, Instituto de Investigaciones Biotecnológicas, Universidad Nacional de San Martín, Bacterióloga Clínica e Industrial, Médica Veterinaria, FCV, UNLP. Profesora Adjunta, Cátedra de Inmunología Veterinaria Aplicada, FCV, UNLP con lugar de trabajo en el Centro de Microbiología Básica y Aplicada, FCV, UNLP.

### **Miceli, Graciela**

Bacterióloga Clínica e Industrial, Médica Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Plata (UNLP).

### **Pardini, Lais Luján**

Doctora en Ciencias Veterinarias, Médica Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Profesora Adjunta, Cátedra de Inmunología Veterinaria Básica, FCV, UNLP. Investigadora Adjunta en CONICET, con lugar de trabajo en el Laboratorio de Inmunoparasitología (LAINPA), FCV, UNLP.

### **Runco, Marina**

Médica Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Auxiliar Diplomada, Cátedra de Inmunología Veterinaria Básica, FCV, UNLP. Becaria doctoral en CONICET y Tesista de la Carrera de Doctorado en Ciencias Veterinarias (FCV, UNLP), con lugar de trabajo en el Laboratorio de Inmunoparasitología (LAINPA), FCV, UNLP.

Venturini, María Cecilia

Fundamentos de inmunología en los animales domésticos / María Cecilia Venturini ; Magdalena Rambeaud ; Coordinación general de María Cecilia Venturini ; Magdalena Rambeaud. - 1a ed. - La Plata : Universidad Nacional de La Plata ; La Plata : EDULP, 2024. Libro digital, PDF - (Libros de cátedra)

Archivo Digital: descarga  
ISBN 978-950-34-2466-7

1. Inmunología. 2. Animales. I. Rambeaud, Magdalena II. Venturini, María Cecilia, coord. III. Rambeaud, Magdalena, coord. IV. Título.  
CDD 571.974

Diseño de tapa: Dirección de Comunicación Visual de la UNLP

Universidad Nacional de La Plata – Editorial de la Universidad de La Plata  
48 N.º 551-599 / La Plata B1900AMX / Buenos Aires, Argentina  
+54 221 644 7150  
edulp.editorial@gmail.com  
www.editorial.unlp.edu.ar

Edulp integra la Red de Editoriales Universitarias Nacionales (REUN)

Primera edición, 2025  
ISBN 978-950-34-2466-7  
© 2025 - Edulp

**n**  
naturales

  
Edulp  
EDITORIAL DE LA UNLP



UNIVERSIDAD  
NACIONAL  
DE LA PLATA