

- Underhill DM, and A Ozinsky. Phagocytosis of microbes: complexity in action. *Annual Review of Immunology* 20:825-852, 2002.
- Vivier E, E Tomasello, M Baratin, T Walzer, and S Ugolini. Functions of natural killer cells. *Nature Immunology* 9:503-510, 2008.

Moléculas efectoras de la inmunidad innata

- Bottazzi B, A Doni, C Garlanda, and A Mantovani. An integrated view of humoral innate immunity: pentraxins as a paradigm. *Annual Review of Immunology* 28:157-183, 2010.
- Klotman ME, and TL Chang. Defensins in innate antiviral immunity. *Nature Reviews Immunology* 6:447-456, 2006.
- Linden SK, P Sutton, NG Karlsson, V Korolik, and MA McGuckin. Mucins in the mucosal barrier to infection. *Mucosal Immunology* 1:183-197, 2008.
- Rock KL, E Latz, F Ontiveros, and H Kono. The sterile inflammatory response. *Annual Review of Immunology* 28:321-342, 2010.
- Schroder K, and J Tschopp. The inflammasomes. *Cell* 140:821-832, 2010.

Selsted ME, and AJ Ouellette. Mammalian defensins in the antimicrobial immune response. *Nature Immunology* 6:551-557, 2005.

- Sims JE, and DE Smith. The IL-1 family: regulators of immunity. *Nature Reviews Immunology* 10:89-102, 2010.
- Van de Wetering JK, LMG van Golde, and JJ Batenburg. Collectins: players of the innate immune system. *European Journal of Biochemistry* 271:229-249, 2004.

Enfermedades causadas por la inmunidad innata

- Cinel I, and SM Opal. Molecular biology of inflammation and sepsis: a primer. *Critical Care Medicine* 37:291-304, 2009.
- Hotchkiss RS, and IE Karl. The pathophysiology and treatment of sepsis. *New England Journal of Medicine* 348:138-150, 2003.
- Masters SL, A Simon, I Aksentjevich, and DL Kastner. Horror autoinflammaticus: the molecular pathophysiology of auto-inflammatory disease. *Annual Review of Immunology* 27:621-668, 2009.
- Weighardt H, and B Holzmann. Role of Toll-like receptor responses for sepsis pathogenesis. *Immunobiology* 212:715-722, 2007.



Anticuerpos y antígenos

ESTRUCTURA DEL ANTICUERPO, 90

- Características generales de la estructura del anticuerpo, 90
- Características estructurales de las regiones variables del anticuerpo, 92
- Características estructurales de las regiones constantes del anticuerpo, 94
- Anticuerpos monoclonales, 97

SÍNTESIS, ENSAMBLAJE Y EXPRESIÓN DE MOLÉCULAS DE Ig, 99

- Semivida de los anticuerpos, 99

UNIÓN DEL ANTICUERPO A LOS ANTÍGENOS, 101

- Características de los antígenos biológicos, 101
- Base estructural y química de la unión al antígeno, 101

RELACIONES ENTRE ESTRUCTURA Y FUNCIÓN EN LAS MOLÉCULAS DE ANTICUERPO, 103

- Características relacionadas con el reconocimiento del antígeno, 103
- Características relacionadas con las funciones efectoras, 104

RESUMEN, 106

Los anticuerpos son proteínas circulantes que se producen en los vertebrados en respuesta a la exposición a estructuras extrañas conocidas como antígenos. Los anticuerpos son increíblemente diversos y específicos en su capacidad para reconocer estructuras moleculares extrañas, y son los principales mediadores de la inmunidad humoral contra todas las clases de microbios. El tratamiento exitoso de la difteria de Emil von Behring y Shibusaburo Kitasato en 1890 con suero procedente de animales inmunizados con una forma atenuada de toxina diftérica estableció el papel protector de las proteínas circulantes y condujo al nacimiento de la moderna inmunología. La familia de proteínas circulantes que median estas respuestas protectoras recibió inicialmente el nombre de antitoxinas. Cuando se vio que podían generarse proteínas similares contra muchas sustancias, no solo toxinas microbianas, estas proteínas recibieron el nombre general de anticuerpos. Las

sustancias que generan o son reconocidas por anticuerpos se llamaron entonces **antígenos**. Los anticuerpos, las moléculas de complejo principal de histocompatibilidad (MHC) (v. capítulo 6) y los receptores del linfocito T para el antígeno (v. capítulo 7) son las tres clases de moléculas que utiliza el sistema inmunitario adaptativo para unirse a los antígenos (tabla 5-1). De estos tres, los anticuerpos reconocen el espectro más amplio de estructuras antigénicas, tienen la mayor capacidad de discriminar entre diferentes antígenos y se unen a los antígenos con mayor fuerza. Los anticuerpos representan la primera de los tres tipos de moléculas ligadoras de antígenos que se descubrieron y caracterizaron. Por tanto, empezaremos nuestra exposición de cómo el sistema inmunitario reconoce específicamente antígenos describiendo la estructura y las propiedades ligadoras de antígenos de los anticuerpos.

Los anticuerpos existen en dos formas: los anticuerpos unidos a la membrana en la superficie de los linfocitos B actúan como receptores para el antígeno y los anticuerpos secretados que residen en la circulación, los tejidos y las mucosas neutralizan las toxinas, impiden la entrada y propagación de los microorganismos patógenos y eliminan los microbios. El reconocimiento del antígeno por los anticuerpos unidos a la membrana de los linfocitos B vírgenes activa a estos linfocitos e inicia una respuesta inmunitaria humoral. Los linfocitos B estimulados por el antígeno también producen anticuerpos en una forma secretada. En la fase efectora de la inmunidad humoral, estos anticuerpos secretados se unen a los antígenos y desencadenan varios mecanismos efectoros que eliminan los antígenos. La eliminación del antígeno requiere, a menudo, la interacción del anticuerpo con otros componentes del sistema inmunitario, como moléculas del tipo de las proteínas del complemento, y células, como los fagocitos y los eosinófilos. Entre las funciones efectoras mediadas por los anticuerpos están la neutralización de microbios o productos microbianos tóxicos; la activación del sistema del complemento; la opsonización de microorganismos patógenos para potenciar su fagocitosis; la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos, por la que los anticuerpos hacen que el sistema inmunitario innato provoque la lisis de las células infectadas; y la activación del mastocito mediada por anticuerpos para expulsar a parásitos helmintos. Estas funciones de los anticuerpos se describen con detalle en el capítulo 12. En este capítulo expondremos las características estructurales de los anticuerpos que subyacen al reconocimiento del antígeno y a sus funciones efectoras.

Los linfocitos B son las únicas células que sintetizan moléculas de anticuerpo. Estas células expresan una forma

TABLA 5-1 Características de la unión al antígeno de las moléculas del sistema inmunitario capaces de reconocerlo

Característica	Molécula que se une al antígeno	Receptor para el linfocito T (TCR)*	Moléculas del MHC*
	Inmunoglobulina (Ig) 		
Lugar de unión al antígeno	Compuesto de tres CDR en el dominio V _H y de tres CDR en el dominio V _L	Compuesto de tres CDR en el dominio V _α y de tres CDR en el dominio V _β	Hendidura ligadora del péptido compuesta de dominios α1 y α2 (clase II) y α1 y β1 (clase II)
Naturaleza del antígeno que puede unirse	Macromoléculas (proteínas, lípidos, polisacáridos) y sustancias químicas pequeñas	Complejos péptido-MHC	Péptidos
Naturaleza de los determinantes antigénicos reconocidos	Determinantes lineales y tridimensionales de varias macromoléculas y sustancias químicas	Determinantes lineales de péptidos; solo dos o tres aminoácidos de un péptido unido a una molécula del MHC	Determinantes lineales de péptidos; solo algunos aminoácidos de un péptido
Afinidad de unión al antígeno	K _d 10 ⁻⁷ -10 ⁻¹¹ M; la afinidad media de las Ig aumenta durante la respuesta inmunitaria	K _d 10 ⁻⁵ -10 ⁻⁷ M	K _d 10 ⁻⁶ -10 ⁻⁹ M; unión sumamente estable
Unión y desprendimiento	Unión rápida, desprendimiento variable	Unión lenta, desprendimiento lento	Unión lenta, desprendimiento muy lento

*Las estructuras y funciones de las moléculas del MHC y del TCR se exponen en los capítulos 6 y 7, respectivamente.
 CDR, región determinante de la complementariedad; K_d, constante de disociación; MHC, complejo principal de histocompatibilidad (solo se muestran moléculas de la clase II); V_H, dominio variable de cadena pesada de Ig; V_L, dominio variable de cadena ligera de Ig.

integral de membrana de la molécula de anticuerpo en la superficie celular, donde funciona como receptor del linfocito B para el antígeno. Tras su exposición a un antígeno, los linfocitos B se diferencian en células plasmáticas que secretan anticuerpos. Las formas secretadas de anticuerpos se acumulan en el plasma (la porción líquida de la sangre), las secreciones mucosas y el líquido intersticial de los tejidos.

Cuando la sangre o el plasma forman un coágulo, los anticuerpos permanecen en el líquido residual llamado **siero**. El suero carece de factores de la coagulación, pero contiene, en cambio, todas las proteínas del plasma. Cualquier muestra de suero que contenga moléculas de anticuerpo detectables que se unan a un antígeno particular recibe el nombre de **antisuero**. El estudio de los anticuerpos y de sus reacciones con los antígenos se llama, por tanto, **serología**. La concentración de moléculas de anticuerpo en un suero específico frente a un antígeno particular se calcula, a menudo, determinando cuántas diluciones seriadas del suero pueden hacerse antes de que ya no pueda observarse la unión; de los sueros con una concentración alta de moléculas de anticuerpo específicos frente a un antígeno particular se dice que tienen un título alto.

Un ser humano adulto sano de 70 kg produce unos 2 a 3 g de anticuerpos al día. Casi dos tercios son un anticuerpo llamado IgA, que producen los linfocitos B activados y las células plasmáticas en las paredes de los aparatos digestivo y respiratorio, que las células epiteliales transportan activamente a las luces de estos tubos. La mayor cantidad de IgA producida refleja la mayor área superficial de estos órganos.

ESTRUCTURA DEL ANTICUERPO

El conocimiento de la estructura de los anticuerpos ha proporcionado información importante sobre su función. El análisis de la estructura del anticuerpo también preparó el camino para la final caracterización de la organización genómica de

los genes del receptor para el antígeno en los linfocitos B y T, y la aclaración de los mecanismos de la diversidad inmunitaria, aspectos que consideraremos en el capítulo 8.

Los primeros estudios de la estructura de los anticuerpos se apoyaron en anticuerpos purificados de la sangre de sujetos inmunizados con varios antígenos. Usando este sistema, no fue posible definir la estructura del anticuerpo de forma precisa, porque el suero contiene una mezcla de diferentes anticuerpos producidos por muchos clones de linfocitos B que responden cada uno a diferentes porciones (epítopos) de un antígeno (también llamados anticuerpos policlonales). Un avance importante que permitió obtener anticuerpos cuyas estructuras pudieran aclararse fue el descubrimiento de que los pacientes con mieloma múltiple, un tumor monoclonal de células plasmáticas productoras de anticuerpos, tenían, a menudo, grandes cantidades de moléculas de anticuerpo (producidos por el clon neoplásico) en la sangre y la orina con una composición bioquímica idéntica. Los inmunólogos vieron que estos anticuerpos podían purificarse hasta obtener una mezcla homogénea que podía analizarse. El reconocimiento de que las células del mieloma producen inmunoglobulinas monoclonales llevó a la obtención de una técnica sumamente poderosa para producir anticuerpos monoclonales, que se describe más adelante en este capítulo. La disponibilidad de poblaciones homogéneas de anticuerpos y de células plasmáticas productoras de anticuerpos monoclonales permitió realizar un análisis estructural detallado y la clonación molecular de genes para moléculas individuales de anticuerpo, lo que sigue siendo uno de los principales avances en nuestro conocimiento del sistema inmunitario.

Características generales de la estructura del anticuerpo

Las proteínas plasmáticas o séricas se separan tradicionalmente por su solubilidad en albúminas y globulinas, y pueden

separarse aún más por su migración en un campo eléctrico, un proceso llamado electroforesis. La mayoría de los anticuerpos se encuentran en el tercer grupo de migración más rápida de las globulinas, llamado **globulinas gamma** por la tercera letra del alfabeto griego. Otro nombre frecuente del anticuerpo es el de **inmunoglobulina (Ig)**, que se refiere a la porción que confiere inmunidad de la fracción de globulinas gamma. Los términos **inmunoglobulina** y **anticuerpo** se usan de forma intercambiable a lo largo del libro.

Todas las moléculas de anticuerpo comparten las mismas características estructurales básicas, pero muestran una variabilidad acentuada en las regiones que se unen a los antígenos. Esta variabilidad de las regiones que se unen al antígeno es responsable de la capacidad de diferentes anticuerpos de unirse a un número enorme de antígenos con una estructura diversa. Se cree que hay un millón o más de moléculas diferentes de anticuerpo en cada sujeto (en teoría, el repertorio de anticuerpos puede incluir más de 10¹¹ anticuerpos diferentes), cada uno con secuencias de aminoácidos únicas en sus lugares de combinación con su antígeno. Las funciones efectoras y propiedades físico-químicas comunes de los anticuerpos se asocian a las porciones que no se unen al antígeno, que exhiben relativamente pocas variaciones entre los diferentes anticuerpos.

Una molécula de anticuerpo tiene una estructura nuclear simétrica compuesta de dos cadenas ligeras idénticas y dos cadenas pesadas idénticas (fig. 5-1). Las dos cadenas ligeras y las dos cadenas pesadas contienen una serie de unidades repetidas, homólogas, cada una de unos 110 aminoácidos de longitud, que se pliegan independientemente en una estructura globular que se llama **dominio de Ig**. Un dominio de Ig contiene dos capas de láminas plegadas en β, cada una compuesta de tres a cinco hélices de cadenas polipeptídicas anti-paralelas (fig. 5-2). Las dos capas se mantienen unidas mediante un enlace disulfuro, y hélices adyacentes de cada lámina β se conectan mediante asas cortas. Algunos de estos aminoácidos son los más variables y críticos para el reconocimiento del antígeno, como se expondrá más adelante.

Las cadenas pesadas y ligeras constan de regiones amino terminales variables (V) que participan en el reconocimiento del antígeno y de regiones carboxilo terminales constantes (C); las regiones C de las cadenas pesadas median las funciones efectoras. En las cadenas pesadas, la región V está compuesta de un dominio de Ig y la región C está compuesta de tres o cuatro dominios de Ig. Cada cadena ligera se compone de una región V de dominio de Ig y una región C de dominio de Ig. Las regiones variables se llaman así porque contienen regiones

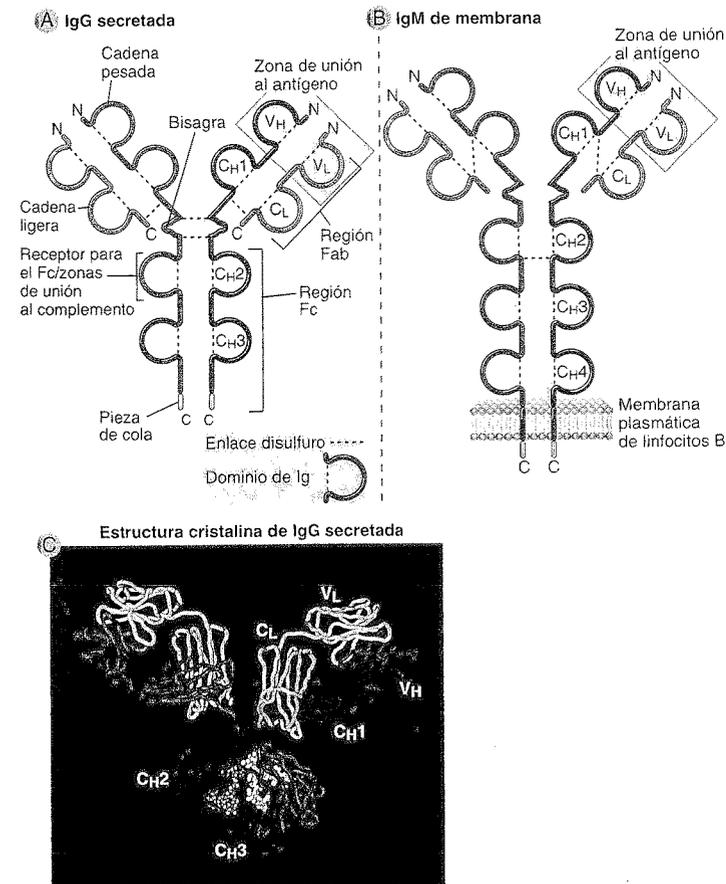


FIGURA 5-1 Estructura de una molécula de anticuerpo. A. Diagrama esquemático de una molécula de IgG secretada. Las zonas de unión al antígeno se forman por la yuxtaposición de los dominios V_L y V_H. Las regiones C de la cadena pesada terminan en las piezas de cola. Las localizaciones de las zonas de unión al complemento y al receptor para el Fc dentro de las regiones constantes de la cadena pesada son aproximaciones. B. Diagrama esquemático de una molécula de IgM unida a la membrana en la superficie de un linfocito B. La molécula de IgM tiene un dominio C_H más que la IgG, y la forma membranaria del anticuerpo tiene porciones transmembranarias y citoplásmicas C terminales que anclan la molécula en la membrana plasmática. C. Estructura de una molécula de IgG humana revelada por cristalografía de rayos x. En este diagrama de cintas de una molécula de IgG secretada, las cadenas pesadas están coloreadas de azul y rojo, y las cadenas ligeras de color verde; los glucidos se muestran en gris. (Por cortesía del Dr. Alex McPherson, University of California, Irvine.)

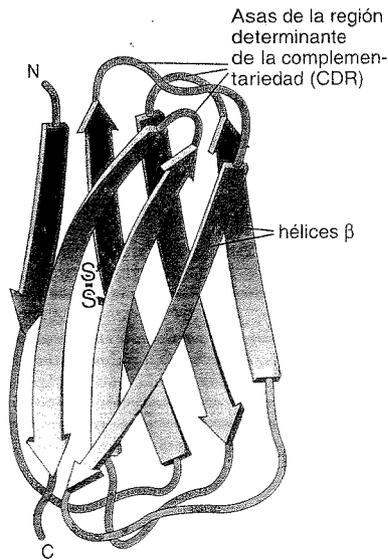


FIGURA 5-2 Estructura de un dominio de Ig. Cada dominio está compuesto de dos series antiparalelas de hélices β, de color amarillo y rojo, para formar dos láminas plegadas en β que se mantienen unidas por un enlace disulfuro. Se muestra un dominio C de forma esquemática que contiene tres y cuatro hélices β en las dos láminas. Observe que las asas conectan hélices β que están a veces adyacentes en la misma lámina plegada en β, pero que las asas presentan a veces conexiones entre las dos diferentes láminas que componen un dominio de Ig. Tres asas en cada dominio variable contribuyen a la unión al antígeno y se llaman regiones determinantes de la complementariedad (CDR).

variables en la secuencia de aminoácidos que distinguen los anticuerpos producidos por un clon de linfocitos B de los anticuerpos producidos por otros clones. La región V de una cadena pesada (V_H) y la región V adyacente de una cadena ligera (V_L) forman una zona de unión al antígeno (v. fig. 5-1). Como la unidad nuclear estructural de cada molécula de anticuerpo contiene dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, cada molécula de anticuerpo tiene al menos dos zonas de unión al antígeno. La región C está separada de la zona de unión al antígeno y no participa en el reconocimiento del antígeno. Las regiones C de la cadena pesada interactúan con otras moléculas efectoras y células del sistema inmunitario y, por tanto, median la mayoría de las funciones biológicas de los anticuerpos. Además, las cadenas pesadas existen en dos formas que difieren en los extremos carboxilo terminales: una forma de cadena pesada ancla los anticuerpos membranaarios en las membranas plasmáticas de los linfocitos B, y la otra forma se secreta cuando se asocia a cadenas ligeras de Ig. Las regiones C de las cadenas ligeras no participan en las funciones efectoras ni se unen directamente a las membranas celulares.

Las cadenas pesadas y ligeras están unidas de forma covalente por enlaces disulfuro formados entre cisteínas del carboxilo terminal de la cadena ligera y el dominio C_{H1} de la cadena pesada. Interacciones no covalentes entre los dominios V_L y V_H y entre los dominios C_L y C_{H1} también pueden contribuir a la asociación entre las cadenas pesadas y las ligeras. Las dos cadenas pesadas de cada molécula de anticuerpo están unidas también de forma covalente mediante enlaces disulfuro. En los anticuerpos IgG, estos enlaces se forman entre cisteínas en las regiones C_{H2}, cerca de la región conocida como bisagra (v. más adelante). En otros isotipos, los enlaces disulfuro pueden

estar en otras localizaciones. Las interacciones no covalentes (p. ej., entre el tercer dominio C_H [C_{H3}]) también pueden contribuir al emparejamiento de las cadenas pesadas.

Las asociaciones entre las cadenas de moléculas de anticuerpo y las funciones de diferentes regiones de anticuerpos se dedujeron por primera vez a partir de experimentos realizados por Rodney Porter en los que se escindió IgG de conejo en fragmentos con diferentes propiedades estructurales y funcionales con enzimas proteolíticas. En las moléculas de IgG, la región «bisagra» sin plegar entre los dominios C_{H1} y C_{H2} de la cadena pesada es el segmento más sensible a la escisión proteolítica. Si se trata la IgG de conejo con la enzima papaína en condiciones de proteólisis limitada, la enzima actúa sobre la región bisagra y escinde la IgG en tres piezas separadas (fig. 5-3A). Dos de las piezas son idénticas entre sí y consisten en la cadena ligera completa (V_L y C_L) asociada a un fragmento V_H-C_{H1} de cadena pesada. Estos fragmentos conservan la capacidad de unirse al antígeno, porque cada uno contiene los dominios V_L y V_H y se llaman Fab (fragmento de unión al antígeno, en inglés *antigen binding*). La tercera pieza está compuesta de dos péptidos idénticos unidos por enlaces disulfuro que contienen los dominios de cadena pesada C_{H2} y C_{H3}. Esta pieza de IgG tiene tendencia a asociarse a sí misma y a cristalizar en un enrejado, y se llama, por tanto, Fc (fragmento cristalizante). Cuando se usa pepsina (en lugar de la papaína) para escindir la IgG de conejo en condiciones limitantes, la proteólisis se produce distal a la región bisagra, lo que genera un fragmento de unión al antígeno F(ab')₂ de IgG con la bisagra y los enlaces disulfuro intercatenarios intactos (fig. 5-3B).

El resultado de la proteólisis limitada con papaína o pepsina de otros isotipos además de la IgG o de IgG de especies diferentes al conejo no siempre recapitula los estudios con IgG de conejo. Sin embargo, la organización básica de la molécula de Ig que Porter dedujo de sus experimentos es frecuente en todas las moléculas de Ig de todos los isotipos y de todas las especies. De hecho, estos experimentos con proteólisis proporcionaron la primera prueba de que la función de reconocimiento del antígeno y las funciones efectoras de las moléculas de Ig están separadas en el espacio.

Muchas otras proteínas del sistema inmunitario, así como numerosas proteínas que no tienen nada que ver con la inmunidad contienen dominios con una estructura de Ig plegada, es decir, dos láminas plegadas en β adyacentes que se mantienen juntas por un enlace disulfuro. Aunque este tipo de estructura en dominio evolucionó mucho antes del desarrollo de los vertebrados, se dice que todas las moléculas que contienen este tipo de dominio pertenecen a la **superfamilia de Ig**, y se cree que todos los segmentos génicos que codifican los dominios de Ig de estas moléculas han evolucionado de un gen ancestral. Los dominios de Ig se clasifican en el tipo V o el tipo C en función de su más estrecha homología a dominios de Ig V o C. Los dominios V se forman a partir de un polipéptido más largo que los dominios C, y contienen dos hélices β extra dentro del bocadillo de láminas β. Un tercer tipo de dominio de Ig, llamado C2 o H, tiene una longitud similar a los dominios C, pero secuencias típicas de los dominios V y C. En la figura 5-4 se muestran ejemplos de miembros de la superfamilia de Ig con relevancia en el sistema inmunitario.

Características estructurales de las regiones variables del anticuerpo

La mayoría de las diferencias en la secuencia y la variabilidad entre diferentes anticuerpos se limitan a tres secuencias cortas en la región V de la cadena pesada y a tres secuencias en la

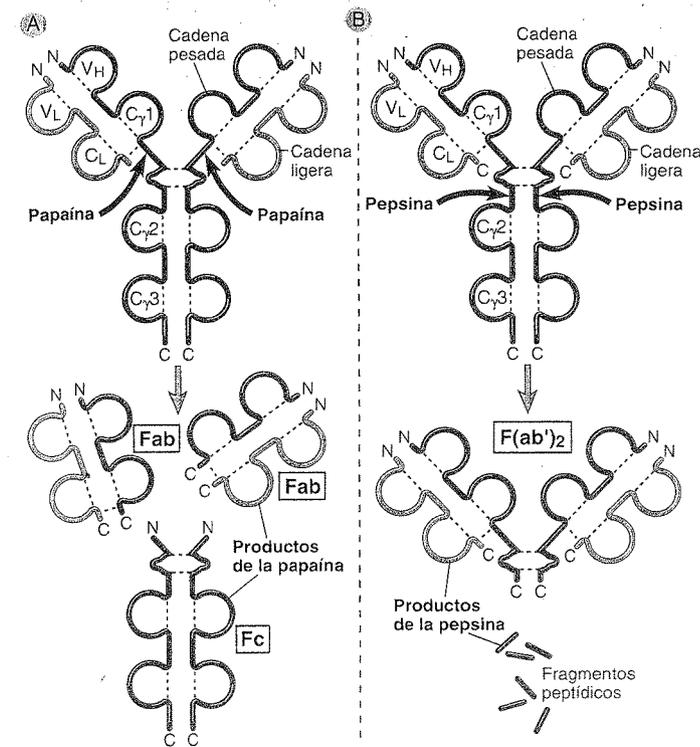


FIGURA 5-3 Fragmentos proteolíticos de una molécula de IgG. Las enzimas papaína (A) y pepsina (B) escinden las moléculas de IgG en las zonas indicadas por las flechas. La digestión con papaína permite separar dos regiones de unión al antígeno (los fragmentos Fab) de la porción de la molécula de IgG que se une al complemento y a los receptores para el Fc (el fragmento Fc). La pepsina genera un solo fragmento bivalente de unión al antígeno, F(ab')₂.

región V de la cadena ligera. Estas secuencias diversas se llaman **segmentos hipervariables** y corresponden a tres asas que sobresalen y conectan hebras de láminas β que componen los dominios V de las cadenas pesada y ligera de Ig (fig. 5-5). Las regiones hipervariables tienen cada una unos 10 aminoácidos de longitud y se mantienen en su lugar mediante secuencias estructurales más conservadas que forman el dominio de Ig de la región V. Los mecanismos génicos que llevan a la variabilidad de aminoácidos se exponen en el capítulo 8. En una molécula de anticuerpo, las tres regiones hipervariables de un dominio V_H se unen para formar una

superficie de unión al antígeno. Las asas hipervariables pueden imaginarse como unos dedos que sobresalgan de cada dominio variable, tres dedos de la cadena pesada y tres de la cadena ligera, que se juntan para formar una zona de unión al antígeno (fig. 5-6). Como estas secuencias forman una superficie que es complementaria a la estructura tridimensional del antígeno unido, las regiones hipervariables se llaman también **regiones determinantes de la complementariedad (CDR, del inglés complementarity-determining regions)**. Procediendo desde los extremos amino terminales

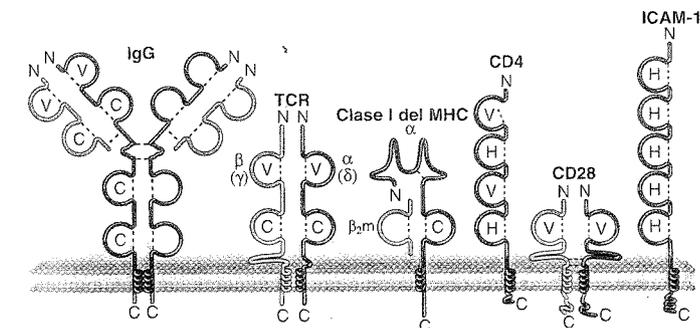


FIGURA 5-4 Ejemplos de proteínas de la superfamilia de Ig en el sistema inmunitario. Entre los ejemplos están una molécula de IgG unida a la membrana, el receptor del linfocito T, una molécula de la clase I del MHC, un coreceptor en los linfocitos T, la molécula CD4, CD28, un receptor costimulador en los linfocitos T y la molécula de adhesión ICAM-1.

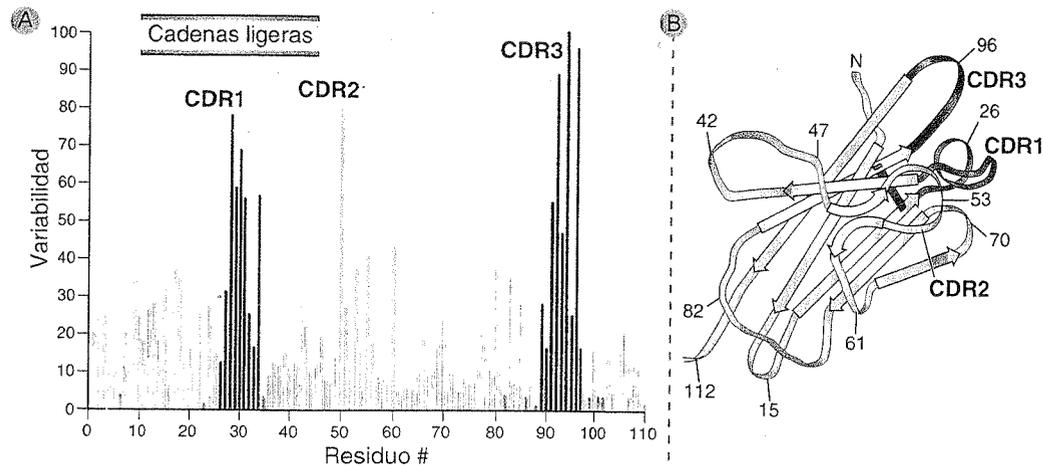


FIGURA 5-5 Regiones hipervariables en las moléculas de Ig. A. Gráfico de Kabat-Wu de la variabilidad de los aminoácidos en las moléculas de Ig. Los histogramas muestran el grado de variabilidad, definida como el número de diferencias en cada aminoácido entre varias cadenas ligeras de Ig secuenciadas de forma independiente, trazadas en relación con el número del aminoácido, medido desde el amino terminal. Este método de análisis, ideado por Elwin Kabat y Tai Te Wu, indica que los aminoácidos más variables se agrupan en tres regiones «hipervariables», de color azul, amarillo y rojo, correspondientes a las CDR1, CDR2 y CDR3, respectivamente. También hay tres regiones hipervariables en las cadenas pesadas. (Por cortesía del Dr. E. A. Kabat, Department of Microbiology, Columbia University College of Physicians and Surgeons, New York.) B. Imagen tridimensional de las asas CDR hipervariables en un dominio V de cadena ligera. Se muestra la región V de una cadena ligera con asas CDR1, CDR2 y CDR3, coloreadas en color azul, amarillo y rojo, respectivamente. Estas asas corresponden a las regiones hipervariables en el gráfico de variabilidad de A. Las regiones hipervariables de la cadena pesada (no mostradas) también se localizan en tres asas, y las asas se yuxtaponen en la molécula de anticuerpo para formar la superficie que se une al antígeno (v. fig. 5-6).

de V_L o V_H , estas regiones se llaman CDR1, CDR2 y CDR3. Los CDR3 de los segmentos V_H y V_L son los CDR más variables. Como expondremos en el capítulo 8, hay mecanismos especiales para generar una mayor diversidad de secuencia en CDR3 que en CDR1 y CDR2. Las diferencias entre las secuencias de los CDR de diferentes moléculas de anticuerpo contribuyen a diferentes superficies de interacción y, por tanto, a las especificidades de los anticuerpos individuales. La capacidad de una región V de plegarse en un dominio de Ig está determinada, sobre todo, por las secuencias conservadas de las regiones estructurales adyacentes a los CDR. La limitación de la variabilidad de la secuencia a los tres tramos cortos permite mantener la estructura básica de todos los anticuerpos a pesar de la variabilidad entre diferentes anticuerpos.

La unión al antígeno por moléculas de anticuerpo es, sobre todo, una función de las regiones hipervariables de V_H y V_L . Los análisis cristalográficos de los complejos antígeno-anticuerpo muestran que los aminoácidos de las regiones hipervariables forman múltiples contactos con el antígeno unido (v. fig. 5-6). El contacto más extenso se produce con la tercera región hipervariable (CDR3), que es también la más variable de los tres CDR. Sin embargo, la unión al antígeno no es solo una función de los CDR, y las secuencias estructurales también pueden contactar con el antígeno. Además, en la unión de algunos antígenos, uno o más CDR pueden estar fuera de la región de contacto con el antígeno, y no participar así en la unión al antígeno.

Características estructurales de las regiones constantes del anticuerpo

Las moléculas de anticuerpo pueden dividirse en distintas clases y subclases en función de diferencias en la estructura de las

regiones C de su cadena pesada. Las clases de moléculas de anticuerpo se llaman también **isotipos** y se denominan IgA, IgD, IgE, IgG e IgM (tabla 5-2). En los seres humanos, los isotipos IgA e IgG pueden subdividirse, a su vez, en subclases o subtipos más relacionados, llamados IgA1 e IgA2, e IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. (Los ratones, que se usan a menudo en el estudio de las respuestas inmunitarias, difieren en que el isotipo IgG se divide en las subclases IgG1, IgG2a, IgG2b e IgG3; ciertas cepas de ratones, como C57BL/6, carecen del gen de la IgG2a, pero sintetizan un isotipo relacionado llamado IgG2c.) Las regiones C de la cadena pesada de todas las moléculas de anticuerpo de un isotipo o subtipo tienen prácticamente la misma secuencia de aminoácidos. Esta secuencia es diferente en los anticuerpos de otros isotipos o subtipos. Las cadenas pesadas se designan por la letra griega del alfabeto correspondiente al isotipo del anticuerpo: la IgA1 contiene cadenas pesadas α_1 ; la IgA2, α_2 ; la IgD, δ ; la IgE, ϵ ; la IgG1, γ_1 ; la IgG2, γ_2 ; la IgG3, γ_3 ; la IgG4, γ_4 ; y la IgM, μ . En los seres humanos, las regiones C de los anticuerpos IgM e IgE contienen cuatro dominios de Ig en tándem (v. fig. 5-1). Las regiones C de la IgG, la IgA y la IgD contienen solo tres dominios de Ig. Estos dominios se designan de forma genérica dominios C_H y se numeran de forma secuencial desde el amino terminal al carboxilo terminal (p. ej., C_{H1} , C_{H2} , etc.). En cada isotipo, estas regiones pueden designarse de un modo más específico (p. ej., $C_{\gamma 1}$, $C_{\gamma 2}$ en la IgG).

Diferentes isotipos y subtipos de anticuerpos realizan diferentes funciones efectoras. La razón de esto es que la mayoría de las funciones efectoras de los anticuerpos están mediadas por la unión de regiones C de la cadena pesada a receptores para el Fc en diferentes células, como los fagocitos, los linfocitos NK y los mastocitos, y a proteínas plasmáticas, como las proteínas del complemento. Los isotipos y subtipos de

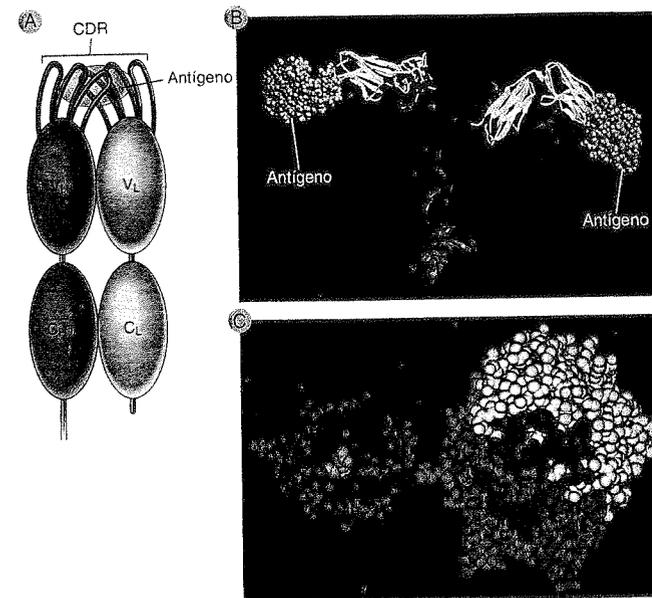


FIGURA 5-6 Unión de un antígeno por un anticuerpo. A. Una imagen esquemática de las regiones determinantes de la complementariedad (CDR) que generan la zona de unión al antígeno. Las CDR de la cadena pesada y de la cadena ligera son asas que sobresalen de la superficie de los dos dominios V de Ig y, combinadas, crean una superficie de unión al antígeno. B. Este modelo de un antígeno proteínico globular (lisozima de huevo de gallina), unido a una molécula de anticuerpo, muestra cómo la zona de unión al antígeno puede acomodar macromoléculas solubles en su estructura tridimensional original (plegada). Las cadenas pesadas del anticuerpo están en rojo, las cadenas ligeras en amarillo y el antígeno en azul. (Por cortesía del Dr. Dan Vaughn, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York.) C. Se muestra una imagen de superficies que interactúan de la lisozima contra la lisozima de huevo (V_H en azul y V_L en amarillo). Los residuos de la lisozima de huevo de gallina y del fragmento Fab que interactúan entre sí se muestran en rojo. Una glutamina fundamental en la lisozima (en magenta) se ajusta en una «hendidura» en el anticuerpo. (Reproducido con autorización de Amit AG, RA Mariuzza, SE Phillips, and RJ Poljak, Three dimensional structure of an antigen antibody complex at 2.8 Å resolution. Science 233, 747-753, 1986. Copyright 1986 AAAS.)

anticuerpos difieren en sus regiones C y, por tanto, en aquello a lo que se unen y en las funciones efectoras que realizan. Las funciones efectoras mediadas por cada isotipo de anticuerpo se enumeran en la tabla 5-2 y se exponen con más detalle más adelante en este capítulo y en el capítulo 12.

Las moléculas de anticuerpo son flexibles, lo que les permite unirse a diferentes series de antígenos. Cada anticuerpo contiene al menos dos zonas de unión al antígeno, cada una formada por una pareja de dominios V_H y V_L . Muchas moléculas de Ig pueden orientar estas zonas de unión de manera que puedan engancharse a la vez dos moléculas de antígeno en una superficie plana (p. ej., la célula) (fig. 5-7). Esta flexibilidad la confiere, en gran parte, una **región bisagra** localizada entre C_{H1} y C_{H2} en ciertos isotipos. La región bisagra varía en longitud desde 10 a más de 60 aminoácidos en diferentes isotipos. Las porciones de esta secuencia asumen una disposición no plegada y flexible, lo que permite el movimiento molecular entre los dominios C_{H1} y C_{H2} . Algunas de las mayores diferencias entre las regiones constantes de las subclases de IgG se concentran en la bisagra. Esto lleva a diferentes formas de los subtipos de IgG. Además, cierta flexibilidad de las moléculas de anticuerpo se debe a la capacidad de cada dominio V_H de rotar con respecto al dominio C_{H1} adyacente.

Hay dos clases o isotipos de cadenas ligeras, llamados κ y λ , que se distinguen por sus regiones constantes (C) carboxilo terminales. Una molécula de anticuerpo tiene dos cadenas ligeras κ idénticas o dos cadenas ligeras λ idénticas. En los seres humanos, alrededor del 60% de las moléculas de anticuerpo tienen cadenas ligeras κ y alrededor del 40% cadenas ligeras λ . Se producen cambios acentuados en esta relación en pacientes con tumores de linfocitos B, debido a que muchas células neoplásicas, que derivan de un solo clon de linfocitos B, producen una sola especie de moléculas de anticuerpo, todas con

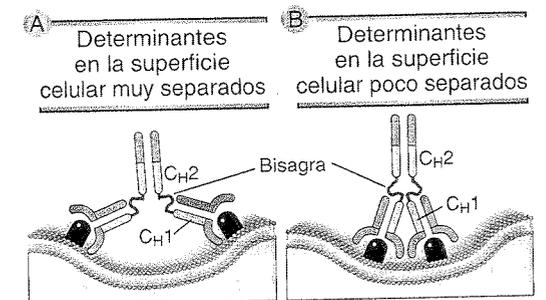


FIGURA 5-7 Flexibilidad de las moléculas de anticuerpo. Las dos zonas de unión al antígeno de un monómero de Ig pueden unirse simultáneamente a dos determinantes separados por distancias variables. En A se muestra una molécula de Ig unida a dos determinantes muy separados en una superficie celular, y en B el mismo anticuerpo unido a dos determinantes que están próximos. Esta flexibilidad se debe, sobre todo, a las regiones bisagra localizadas entre los dominios C_{H1} y C_{H2} , que permiten el movimiento independiente de las zonas de unión al antígeno respecto al resto de la molécula.

la misma cadena ligera. De hecho, a menudo se utiliza en la clínica el desequilibrio entre las células portadoras de κ y las portadoras de λ para diagnosticar los linfomas de linfocitos B. En los ratones, los anticuerpos que contienen κ son unas 10 veces más abundantes que los que contienen λ . Al contrario que los isotipos de cadena pesada, no hay diferencias funcionales conocidas entre los anticuerpos que contienen κ y los que contienen λ .

Los anticuerpos secretados y de membrana difieren en la secuencia de aminoácidos del extremo carboxilo terminal de la región C de la cadena pesada. En la forma secretada, que se encuentra en la sangre y otros líquidos extracelulares, la porción carboxilo terminal es hidrófila. La forma unida a

TABLA 5-2 Isotipos de anticuerpos humanos					
Isotipo de anticuerpo	Subtipos (cadena H)	Concentración sérica (mg/ml)	Semivida en suero (días)	Forma secretada	Funciones
IgA	IgA1,2 (α1 o α2)	3,5	6	IgA (dímero) Monómero, dímero, trímero	Inmunidad de mucosas
IgD	Ninguno (δ)	Mínima	3	Ninguna	Receptor para el antígeno del linfocito B virgen
IgE	Ninguno (ε)	0,05	2	Monómero de IgE	Defensa contra parásitos helmintos, hipersensibilidad inmediata
IgG	IgG1-4 (γ1, γ2, γ3 o γ4)	13,5	23	Monómero de IgG1	Opsonización, activación del complemento, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos, inmunidad neonatal, inhibición por retroalimentación de linfocitos B
IgM	Ninguno (μ)	1,5	5	Pentámero de IgM	Receptor para el antígeno del linfocito B virgen, activación del complemento

Las funciones efectoras de los anticuerpos se exponen con detalle en el capítulo 12.

la membrana del anticuerpo contiene un tramo carboxilo terminal que incluye una región de anclaje transmembranaria hidrófoba α helicoidal, seguida de un tramo yuxtamembranario intracelular con carga positiva que ayuda a anclar la proteína en la membrana (fig. 5-8). En las moléculas de IgM e IgD de membrana, la porción citoplásmica de la cadena pesada es corta, de solo tres aminoácidos de longitud; en las moléculas de IgG e IgE de membrana, es algo más larga, de hasta 30 aminoácidos de longitud.

La IgG y la IgE secretadas y todas las Ig de membrana, independientemente del isotipo, son monoméricas con respecto a la unidad estructural básica del anticuerpo (es decir, contienen dos cadenas pesadas y dos cadena ligeras). Por el contrario, las formas secretadas de IgM e IgA forman complejos multiméricos en los que están unidos mediante enlaces covalentes dos o más de las unidades estructurales centrales de anticuerpo de cuatro cadenas. La IgM puede secretarse en forma de pentámeros y hexámeros de estructuras centrales de cuatro cadenas, mientras que la IgA se secreta a menudo como un dímero. Estos complejos se forman por interacciones entre regiones, llamadas piezas de cola, que se localizan en los

extremos carboxilo terminales de las formas secretadas de cadenas pesadas μ y α (v. tabla 5-2). Las moléculas multiméricas de IgM e IgA también contienen un polipéptido adicional de 15 kD llamado cadena de unión (J, del inglés *joining*), que se une mediante un enlace disulfuro a las piezas de cola y sirve para estabilizar los complejos multiméricos y transportar multímeros a través del epitelio desde la zona basolateral al extremo luminal. Como veremos más adelante, las formas multiméricas de anticuerpos se unen a los antígenos con mayor avidez que las monoméricas, incluso aunque los dos tipos de anticuerpos contengan fragmentos Fab, que individualmente se unen igual al antígeno.

Los anticuerpos de diferentes especies difieren entre sí en las regiones C y en partes estructurales de las regiones V. Por tanto, cuando se introducen moléculas de Ig de una especie en otra (p. ej., anticuerpos séricos equinos o anticuerpos monoclonales murinos inyectados en seres humanos), el receptor monta una respuesta inmunitaria y sintetiza anticuerpos en gran medida contra las regiones C de la Ig introducida. La respuesta crea a menudo una enfermedad llamada enfermedad del suero (v. capítulo 18), y con ello limita mucho la

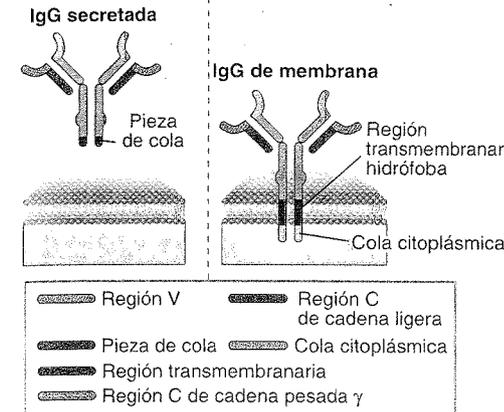


FIGURA 5-8 Formas membranaria y secretada de las cadenas pesadas de Ig. Las formas membranarias de las cadenas pesadas de Ig, pero no las formas secretadas, contienen regiones transmembranarias compuestas de aminoácidos hidrófobos y dominios citoplásmicos que difieren significativamente entre los diferentes isotipos. La porción citoplásmica de la forma membranaria de la cadena μ contiene solo tres aminoácidos, mientras que la región citoplásmica de las cadenas pesadas de la IgG contiene de 20 a 30 aminoácidos. Las formas secretadas de los extremos de los anticuerpos terminan en las piezas de cola C, que también difieren entre los isotipos: μ tiene una pieza de cola larga (21 aminoácidos) que participa en la formación del pentámero, mientras que las IgG tienen una pieza de cola corta (tres aminoácidos).

capacidad de tratar a sujetos con anticuerpos producidos en otras especies. Se han realizado muchos intentos de tratar de superar este problema con anticuerpos monoclonales, lo que se expondrá con mayor detalle más adelante. Hay diferencias de secuencia más pequeñas entre los anticuerpos procedentes de diferentes sujetos incluso de la misma especie, lo que refleja polimorfismos heredados en los genes que codifican las regiones C de las cadenas pesadas y ligeras de Ig. Cuando un anticuerpo puede reconocer una variante polimórfica que se encuentra en sujetos de una especie, a las variantes se las denomina **alotipos**, y al anticuerpo que reconoce un determinante alotípico se le llama anticuerpo antialotípico. Las diferencias entre las regiones V del anticuerpo se sitúan en los CDR y constituyen los **idiotipos** de los anticuerpos. Un anticuerpo que reconoce algún aspecto del CDR de otro anticuerpo se llama, por tanto, anticuerpo antidiotípico. Hay teorías interesantes que proponen que los sujetos producen anticuerpos antidiotípicos contra sus propios anticuerpos que controlan las respuestas inmunitarias, pero hay pocas pruebas que apoyen la importancia de este posible mecanismo de la regulación inmunitaria.

Anticuerpos monoclonales

Un tumor de células plasmáticas (mieloma o plasmocitoma) es monoclonal y, por tanto, produce anticuerpos de una sola especificidad. En la mayoría de los casos se desconoce la especificidad del anticuerpo tumoral, de manera que el anticuerpo no puede utilizarse para detectar o unirse de un modo específico a moléculas de interés. Sin embargo, el descubrimiento de anticuerpos monoclonales producidos por estos tumores llevó a la idea de que es posible producir anticuerpos monoclonales similares de cualquier especificidad deseada inmortalizando células secretoras de anticuerpos individuales

a partir de un animal inmunizado con un antígeno conocido. Georges Kohler y Cesar Milstein describieron en 1975 una técnica para conseguir esto, que ha resultado ser uno de los avances más valiosos de toda la investigación científica y la medicina clínica. El método se apoya en la fusión de linfocitos B procedentes de un animal inmunizado (habitualmente un ratón) con una línea celular de mieloma y su cultivo en condiciones en las que las células normales y tumorales que no se han fusionado no puedan sobrevivir (fig. 5-9). Las células fusionadas resultantes que crecen se llaman **hibridomas**; cada hibridoma produce solo una Ig. Se estudia la unión al antígeno de interés de los anticuerpos secretados por muchos clones de hibridomas, y se selecciona y expande el clon con la especificidad deseada. Los productos de estos clones individuales son **anticuerpos monoclonales**, que son específicos frente a un solo epítipo del antígeno o de la mezcla de antígenos usada para identificar clones secretores de anticuerpos.

Los anticuerpos monoclonales tienen muchas aplicaciones prácticas en la investigación y en el diagnóstico y tratamiento médicos. Algunas de sus aplicaciones frecuentes son las siguientes:

- **Identificación de marcadores fenotípicos de tipos celulares particulares.** La base de la clasificación moderna de los linfocitos y otros leucocitos es el reconocimiento de poblaciones celulares individuales con anticuerpos monoclonales específicos. Estos anticuerpos se han usado para definir marcadores de grupos de diferenciación (CD, del inglés *cluster of differentiation*) de varios tipos celulares (v. capítulo 2).
- **Inmunodiagnóstico.** El diagnóstico de muchas enfermedades infecciosas y sistémicas se apoya en la detección de antígenos o anticuerpos particulares en la circulación o en los tejidos, usando anticuerpos monoclonales en el inmunoanálisis (v. apéndice IV).
- **Detección de tumores.** Se utilizan anticuerpos monoclonales específicos frente a tumores para detectar tumores mediante técnicas de imagen y tinción de tejidos con anticuerpos marcados.
- **Tratamiento.** Los avances realizados en la investigación médica han llevado a la identificación de células y moléculas que participan en la patogenia de muchas enfermedades. Los anticuerpos monoclonales, debido a su exquisita especificidad, proporcionan los medios de dirigirse a estas células y moléculas. Hoy se usan diversos anticuerpos monoclonales como una forma de tratamiento (tabla 5-3). Algunos ejemplos son los anticuerpos contra la citocina factor de necrosis tumoral (TNF) usados para tratar la artritis reumatoide y otras enfermedades inflamatorias, los anticuerpos contra el CD20 para el tratamiento de las leucemias de linfocitos B y para eliminar linfocitos B en ciertos trastornos autoinmunes, los anticuerpos contra el receptor del factor de crecimiento epidérmico del tipo 2 para dirigirse contra las células del cáncer de mama, los anticuerpos contra el factor de crecimiento endotelial vascular (una citocina que promueve la angiogenia) en los pacientes con cáncer de colon, y otros.
- **Análisis funcional de la superficie celular y de las moléculas secretadas.** En la investigación biológica, los anticuerpos monoclonales que se unen a moléculas de la superficie celular y estimulan o inhiben funciones celulares particulares constituyen herramientas muy valiosas para definir las funciones de moléculas de superficie, como los receptores para los antígenos. Los anticuerpos monoclonales también se utilizan ampliamente para purificar poblaciones celulares concretas a partir de mezclas complejas con el fin de facilitar el estudio de sus propiedades y funciones.

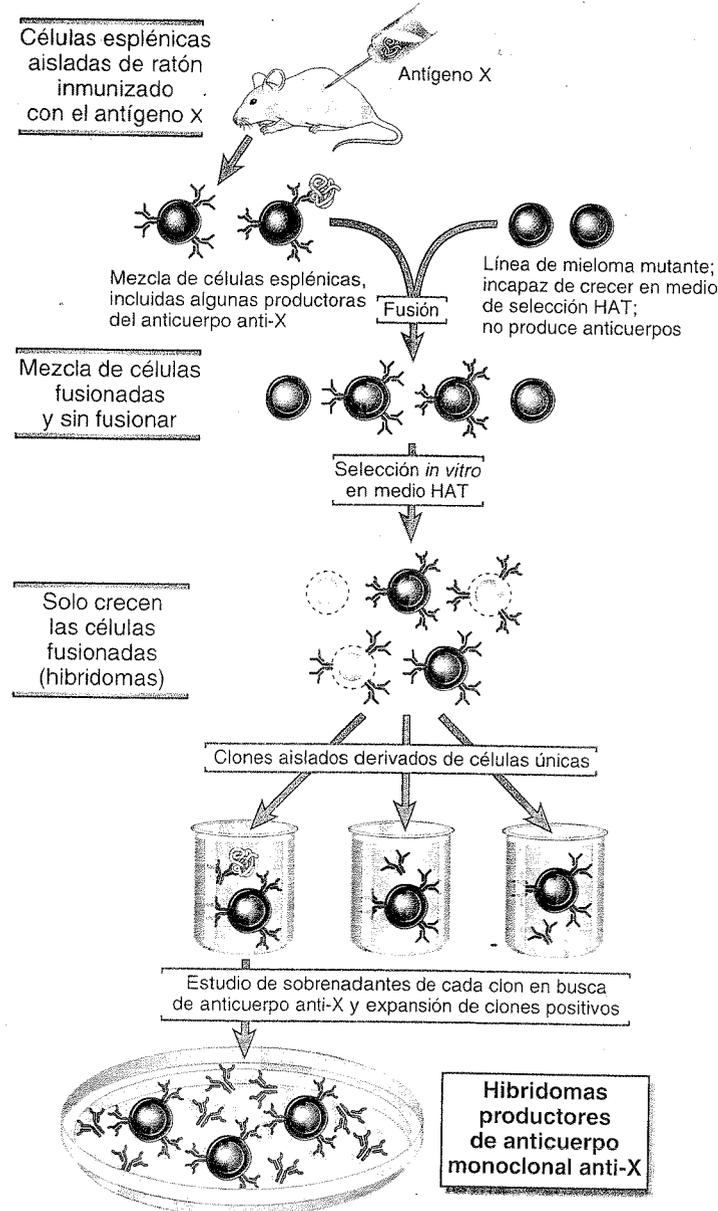


FIGURA 5-9 La generación de anticuerpos monoclonales. En este procedimiento se fusionan células esplénicas de un ratón inmunizado con un antígeno, o mezcla de antígenos conocidos, con una línea celular de mieloma que carece de una enzima mediante el uso de sustancias químicas, como el polietileno glicol, que pueden facilitar la fusión de las membranas plasmáticas y la formación de células híbridas que conserven muchos cromosomas de las parejas de fusión. La pareja de mieloma usada es una que no secreta sus propias Ig. Estas células híbridas se colocan después en un medio de selección que permite la supervivencia solo de híbridos inmortalizados; estas células híbridas se cultivan después como clones celulares, y se comprueba en ellas la secreción del anticuerpo de interés. El medio de selección incluye hipoxantina, aminopterina y timidina, y se llama, por tanto, medio HAT. Hay dos vías de síntesis de purina en la mayoría de las células, una *de novo*, que precisa tetrahidrofolato, y una vía de rescate, que usa la enzima hipoxantina-guanina fosforibosiltransferasa (HGPRT). Se usan células del mieloma que carecen de HGPRT como parejas de fusión, y normalmente sobreviven usando la síntesis de purina *de novo*. En presencia de aminopterina no se produce tetrahidrofolato, lo que da lugar a un defecto en la síntesis de purina *de novo* y también a un defecto específico en la biosíntesis de pirimidina, en concreto en la generación de TMP a partir de dUMP. Las células híbridas reciben HGPRT de los esplenocitos y tienen la capacidad de proliferar de forma descontrolada a partir de la pareja de mieloma; si reciben hipoxantina y timidina, estas células pueden sintetizar ADN sin tetrahidrofolato. Como resultado de ello, en el medio HAT solo sobreviven las células híbridas.

TABLA 5-3 Anticuerpos monoclonales con relevancia terapéutica

Objetivo	Efecto	Enfermedades
CD20	Eliminación de linfocitos B	Artritis reumatoide, esclerosis múltiple, otras enfermedades autoinmunes
VEGF	Bloqueo de angiogenia tumoral	Cáncer de mama, cáncer de colon
HER2/Neu	Eliminación de células tumorales con amplificación de HER2	Cáncer de mama
TNF	Inhibición de inflamación mediada por linfocito T	Artritis reumatoide, enfermedad de Crohn

Una de las limitaciones de los anticuerpos monoclonales para el tratamiento es que estos anticuerpos son más fáciles de producir inmunizando ratones, pero los pacientes tratados con anticuerpos monoclonales muridos pueden producir anticuerpos contra la Ig murida, lo que se llama respuesta de anticuerpos humanos antimuridos (HAMA, del inglés *human anti-mouse antibody*). Estos anticuerpos anti-Ig eliminan el anticuerpo monoclonal inyectado y también pueden provocar una enfermedad del suero. Se han usado técnicas de ingeniería genética para ampliar la utilidad de los anticuerpos monoclonales. De un hibridoma pueden aislarse los ADN complementarios (ADNc) que codifican cadenas polipeptídicas de un anticuerpo monoclonal, y estos genes pueden manipularse en el laboratorio. Como se ha expuesto antes, solo porciones pequeñas de la molécula de anticuerpo son responsables de la unión al antígeno; el resto de la molécula de anticuerpo puede considerarse como un armazón. Esta organización estructural permite «hilvanar» segmentos de ADN que codifican las zonas de unión al antígeno procedentes de un anticuerpo monoclonal murido al ADNc que codifica una proteína de mieloma humano, lo que crea un gen híbrido. Cuando se expresa, la proteína híbrida resultante, que conserva la especificidad por el antígeno del monoclonal murido original, pero la estructura nuclear de una Ig humana, se denomina anticuerpo humanizado. Los anticuerpos humanizados tienen menos probabilidades de parecer «extraños» en los seres humanos y de inducir respuestas contra el anticuerpo.

covalente de las cadenas pesadas y ligeras, que estabiliza la formación de enlaces disulfuro, es parte del proceso de ensamblaje, y también tiene lugar en el retículo endoplásmico. Tras su ensamblaje, las moléculas de Ig se liberan de las chaperonas, se transportan a las cisternas del complejo de Golgi, donde se modifican los glúcidos, y después se dirigen a la membrana plasmática en vesículas. Los anticuerpos de membrana formados se anclan en la membrana plasmática, y la forma secretada se transporta al exterior de la célula.

La maduración de los linfocitos B a partir de los progenitores de la médula ósea se acompaña de un cambio específico en la expresión del gen de las Ig, lo que da lugar a la producción de moléculas de Ig en diferentes formas (fig. 5-10). La primera célula en la línea del linfocito B que produce polipéptidos de Ig, llamada prelinfocito B, sintetiza la forma de membrana de la cadena pesada μ . Estas cadenas μ se asocian a proteínas llamadas sustitutos de cadenas ligeras para formar el receptor del prelinfocito B, y una pequeña proporción del receptor del prelinfocito B sintetizado se expresa en la superficie celular. Los linfocitos B inmaduros y maduros producen cadenas ligeras κ o λ , que se asocian a proteínas μ para formar moléculas de IgM. Los linfocitos B maduros expresan formas membranas de IgM e IgD (las cadenas pesadas μ y δ asociadas a las cadenas ligeras κ o λ). Estas Ig receptoras de membrana sirven de receptores en la superficie celular que reconocen antígenos e inician el proceso de activación del linfocito B. El receptor del prelinfocito B y el receptor del linfocito B para el antígeno se asocian de forma no covalente a otras dos proteínas integrales de membrana, Ig α y Ig β , que sirven para producir señales y son esenciales para la expresión en la superficie de IgM e IgD. Los acontecimientos moleculares y celulares en la maduración del linfocito B que subyacen a estos cambios en la expresión del anticuerpo se exponen con detalle en el capítulo 8.

Cuando los linfocitos B maduros se activan por antígenos y otros estímulos, las células se diferencian en células secretoras de anticuerpos. Este proceso también se acompaña de cambios en el patrón de producción de Ig. Uno de tales cambios es la mayor producción de la forma secretada de Ig respecto a la forma membranaria. Esta alteración se produce en el proceso posterior a la transcripción y se expondrá en el capítulo 11. El segundo cambio es la expresión de isotipos de cadena pesada de Ig diferentes a la IgM y la IgD. Este proceso, llamado cambio de isotipo de cadena pesada (o de clase), se describe después en este capítulo y con más detalle en el capítulo 11, cuando exponemos la activación del linfocito B.

SÍNTESIS, ENSAMBLAJE Y EXPRESIÓN DE MOLÉCULAS DE Ig

Las cadenas pesadas y ligeras de las inmunoglobulinas, como la mayoría de las proteínas secretadas y de membrana, se sintetizan en los ribosomas unidos a la membrana del retículo endoplásmico rugoso. La proteína pasa al retículo endoplásmico, y durante este traslado se N-glucosilan las cadenas pesadas de Ig. El plegado adecuado de las cadenas pesadas de Ig y su ensamblaje con las cadenas ligeras están regulados por proteínas residentes en el retículo endoplásmico llamadas chaperonas. Estas proteínas, entre las que se encuentran la calnexina y una molécula llamada BiP (proteína ligadora, del inglés *binding protein*), se unen a los polipéptidos de Ig recién sintetizados y aseguran su retención o envío hacia su degradación, a no ser que se plieguen adecuadamente y se ensamblen en moléculas completas de Ig. La asociación

Semivida de los anticuerpos

Diferentes isotipos de anticuerpos tienen semividas muy diferentes en la circulación. La IgE tiene una semivida muy corta de unos 2 días en la circulación (aunque la IgE unida a la célula que se asocia al receptor para la IgE de afinidad alta situado en los mastocitos tiene una semivida muy larga; v. capítulo 19). La IgA circulante tiene una semivida de unos 3 días y la IgM circulante una semivida de unos 4 días. Por el contrario, las moléculas de IgG circulantes tienen una semivida de unos 21 a 28 días.

La semivida larga de la IgG se atribuye a su capacidad de unirse al receptor específico para el Fc llamado **receptor para el Fc neonatal** (FcRn), que también participa en el transporte de la IgG desde la circulación materna a través de la barrera placentaria, así como en la transferencia de IgG materna a través del intestino en los recién nacidos. El FcRn tiene una estructura que recuerda a la de las moléculas de la clase I del MHC, pero carece de una hendidura de unión al péptido y en

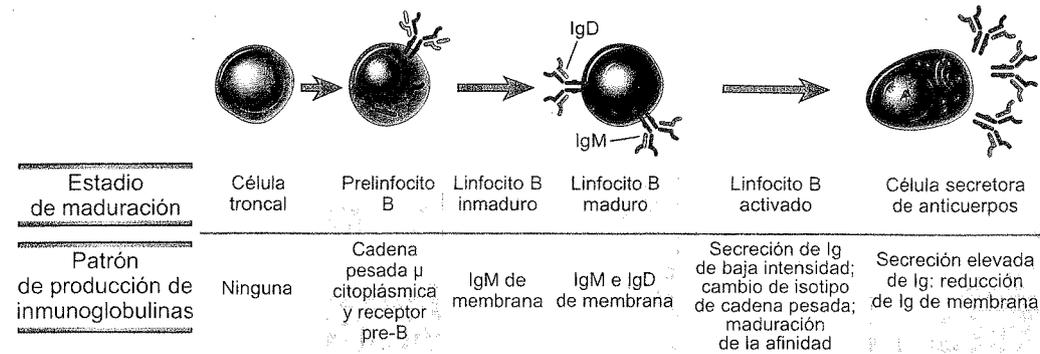
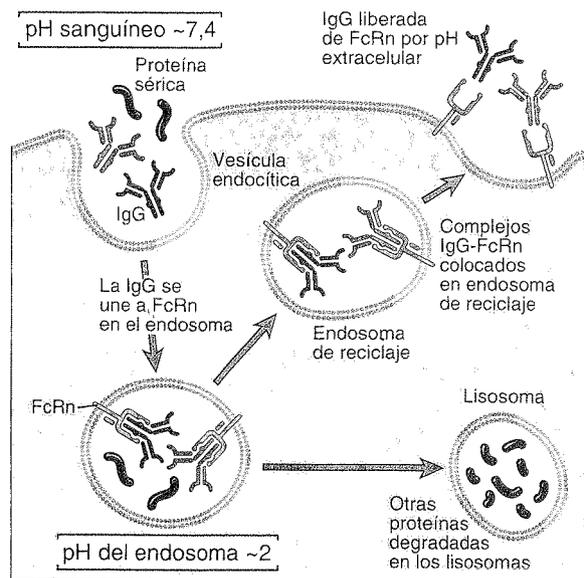


FIGURA 5-10 Expresión de Ig durante la maduración del linfocito B. Se muestran los estadios de la maduración del linfocito B con los cambios asociados en la producción de cadenas pesadas y ligeras de Ig. Las cadenas pesadas de IgM se muestran en rojo, las cadenas pesadas de IgD en azul y las cadenas ligeras en verde. Los acontecimientos moleculares que acompañan a estos cambios se exponen en los capítulos 8 y 11.

tipos celulares específicos, como la placenta y el intestino neonatal, transporta moléculas de IgG a través de las células sin dirigirlos a los lisosomas. En los vertebrados adultos, el FcRn se encuentra en la superficie de las células endoteliales (y otros tipos celulares) y se une a la IgG interiorizada por micropinocitosis en los endosomas ácidos. El FcRn no dirige la IgG unida a los lisosomas, pero secuestra la IgG unos instantes y luego la devuelve a la circulación, cuando la recicla a la superficie celular y libera la IgG a un pH neutro (fig. 5-11). Este secuestro intracelular de IgG durante períodos significativos impide su envío para su degradación con la misma rapidez que la mayoría de las demás proteínas séricas, como otros isotipos de anticuerpos, y como resultado de ello, la IgG tiene una semivida relativamente larga. Esta semivida larga de la IgG

se ha aprovechado para infundir ciertas proteínas con fines terapéuticos, fusionando la parte con actividad biológica de la proteína a la porción Fc de la IgG. Una proteína de fusión con utilidad terapéutica es TNFR-Ig, que consta del dominio extracelular del tipo II del receptor para el TNF fusionado con un dominio Fc de IgG; se usa para tratar ciertos trastornos autoinmunes, como la artritis reumatoide y la psoriasis, en donde bloquea las acciones inflamatorias del TNF. Otra proteína de fusión con utilidad terapéutica es CTLA4-Ig, que contiene el dominio extracelular del receptor inhibitorio CTLA-4 fusionado a la porción Fc de la IgG humana; se ha utilizado en el tratamiento de la artritis reumatoide y puede servir de forma más amplia como tratamiento inmunodepresor (v. fig. 9-7, capítulo 9).

FIGURA 5-11 El FcRn contribuye a la semivida larga de las moléculas de IgG. Las moléculas de IgG introducidas por micropinocitosis en las células endoteliales se unen al FcRn, un receptor para la IgG presente en el ambiente ácido de los endosomas. En las células endoteliales, el FcRn secuestra moléculas de IgG y las libera cuando las vesículas se fusionan con la superficie celular, lo que expone los complejos FcRn-IgG a un pH neutro.



© ELSEVIER. Fotocopiar sin autorización es un delito.

UNIÓN DEL ANTICUERPO A LOS ANTÍGENOS

Todas las funciones de los anticuerpos dependen de su capacidad para unirse de forma específica a los antígenos. A continuación consideraremos la naturaleza de los antígenos y cómo son reconocidos por los anticuerpos.

Características de los antígenos biológicos

Un antígeno es cualquier sustancia que pueda unirse específicamente a una molécula de anticuerpo o al receptor del linfocito T. Los anticuerpos pueden reconocer como antígenos a casi cualquier tipo de molécula biológica, como metabolitos intermediarios simples, azúcares, lípidos, autocoides y hormonas, así como macromoléculas, como glúcidos complejos, fosfolípidos, ácidos nucleicos y proteínas. Esto contrasta con los linfocitos T, que reconocen, sobre todo, péptidos (v. capítulo 6).

Aunque todos los antígenos son reconocidos por linfocitos o anticuerpos específicos, solo algunos antígenos son capaces de activar a los linfocitos. Las moléculas que estimulan las respuestas inmunitarias se llaman **inmunógenos**. Solo las macromoléculas son capaces de estimular a los linfocitos B para iniciar respuestas inmunitarias humorales, porque la activación del linfocito B requiere el acercamiento (entrecruzado) de múltiples receptores para el antígeno o antígenos proteínicos para estimular la cooperación del linfocito T. Las sustancias químicas pequeñas, como el dinitrofenol, pueden unirse a anticuerpos y son, por tanto, antígenos, pero no pueden activar los linfocitos B por sí mismos (es decir, no son inmunógenos). Para generar anticuerpos específicos frente a tales sustancias químicas, los inmunólogos suelen unir múltiples copias de moléculas pequeñas a proteínas o polisacáridos antes de la inmunización. En estos casos, la sustancia química pequeña se llama **hapteno** y la molécula grande con la que se conjuga se llama **transportador**. El complejo hapteno-transportador, al contrario que el hapteno libre, puede actuar como un inmunógeno (v. capítulo 11).

Las macromoléculas, como las proteínas, los polisacáridos y los ácidos nucleicos, suelen ser mucho mayores que la región que se une al antígeno de una molécula de anticuerpo (v. fig. 5-6). Por tanto, cualquier anticuerpo se une solo a una porción de la macromolécula, lo que se llama **determinante** o **epitopo**. Estas dos palabras son sinónimas y se usan de forma intercambiable a lo largo de este libro. Las macromoléculas suelen contener múltiples determinantes, algunos de los cuales pueden estar repetidos, y cada uno de ellos, por definición, puede unirse a un anticuerpo. La presencia de múltiples determinantes idénticos en un antígeno se denomina **polivalencia** o **multivalencia**. La mayoría de las proteínas globulares no contienen múltiples epitopos idénticos ni son polivalentes, a no ser que estén en agregados. En el caso de los polisacáridos y los ácidos nucleicos, muchos epitopos idénticos pueden mostrar un espaciado regular, y se dice que las moléculas son polivalentes. Las superficies celulares, incluidas las de los microbios, muestran a menudo series polivalentes de determinantes antígenicos proteínicos o glúcidos. Los antígenos polivalentes pueden inducir el agrupamiento del receptor del linfocito B y así iniciar el proceso de activación del linfocito B (v. capítulo 7).

La disposición espacial de diferentes epitopos en una sola molécula de proteína puede influir en su unión a los anticuerpos de diversas formas. Cuando los determinantes están bien separados, pueden unirse dos o más moléculas de anticuerpo al mismo antígeno proteínico sin influirse entre sí; se dice que

tales determinantes no están solapados. Cuando dos determinantes están cerca, la unión del anticuerpo al primer determinante puede provocar una interferencia estérica con la unión del anticuerpo al segundo; se dice que tales determinantes están solapados. En casos más raros, la unión de un anticuerpo puede provocar un cambio en la estructura tridimensional del antígeno, influyendo de forma positiva o negativa en la unión a un segundo anticuerpo en otro lugar de la proteína por medios diferentes a un estorbo estérico. Tales interacciones se llaman efectos alostéricos.

Cualquier forma o superficie disponible en una molécula que pueda reconocer un anticuerpo constituye un **determinante antígeno** o **epitopo**. Los determinantes antígenicos pueden definirse en cualquier tipo de compuesto, incluidos glúcidos, proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, entre otros. En el caso de las proteínas, la formación de algunos determinantes depende de la estructura primaria, y la formación de otros determinantes refleja la estructura terciaria o conformación (forma) (fig. 5-12). Los epitopos formados por varios aminoácidos adyacentes se llaman **determinantes lineales**. La zona de unión al antígeno de un anticuerpo puede acomodarse habitualmente a un determinante lineal compuesto de unos seis aminoácidos. Si aparecen determinantes lineales en la superficie externa o en una región de conformación extendida en la proteína original plegada, pueden ser accesibles a los anticuerpos. Lo más frecuente es que los determinantes lineales sean inaccesibles en esta conformación original y aparezcan solo cuando se desnaturaliza la proteína. Por el contrario, los **determinantes tridimensionales** están formados por aminoácidos que no están en una secuencia, pero se yuxtaponen en el espacio en la proteína plegada. Los anticuerpos específicos frente a ciertos determinantes lineales y los anticuerpos específicos frente a los determinantes tridimensionales pueden usarse para saber si una proteína está desnaturalizada o en su forma tridimensional original, respectivamente. Las proteínas pueden verse sujetas a modificaciones, como la glucosilación, la fosforilación, la ubiquitinación, la acetilación y la proteólisis. Estas modificaciones, al alterar la estructura de la proteína, pueden producir nuevos epitopos. Tales epitopos se llaman **determinantes neoantígenicos** y también pueden ser reconocidos por anticuerpos específicos.

Base estructural y química de la unión al antígeno

Las zonas de unión al antígeno de muchos anticuerpos son superficies planas que pueden acomodar epitopos tridimensionales de macromoléculas, lo que permite a los anticuerpos unirse a macromoléculas grandes (v. fig. 5-6). Los seis CDR, tres de la cadena pesada y tres de la cadena ligera, se extienden para formar una superficie ancha. Superficies de unión anchas análogas son características de las zonas de unión de los receptores para el linfocito T. Por el contrario, las moléculas del MHC contienen hendiduras de unión al antígeno que alojan a péptidos pequeños. En algunos anticuerpos específicos frente a moléculas pequeñas, como monosacáridos y fármacos, el antígeno se une en una hendidura generada por la aposición de los CDR de los dominios V_L y V_H.

El reconocimiento del antígeno por el anticuerpo implica una unión no covalente y reversible. Varios tipos de interacciones no covalentes pueden contribuir a la unión del anticuerpo al antígeno, como las fuerzas electrostáticas, los enlaces de hidrógeno, las fuerzas de van der Waals y las interacciones hidrófobas. La importancia relativa de cada uno de ellos depende de las estructuras de la zona de unión de cada anticuerpo y del determinante antígeno. La fuerza de la unión

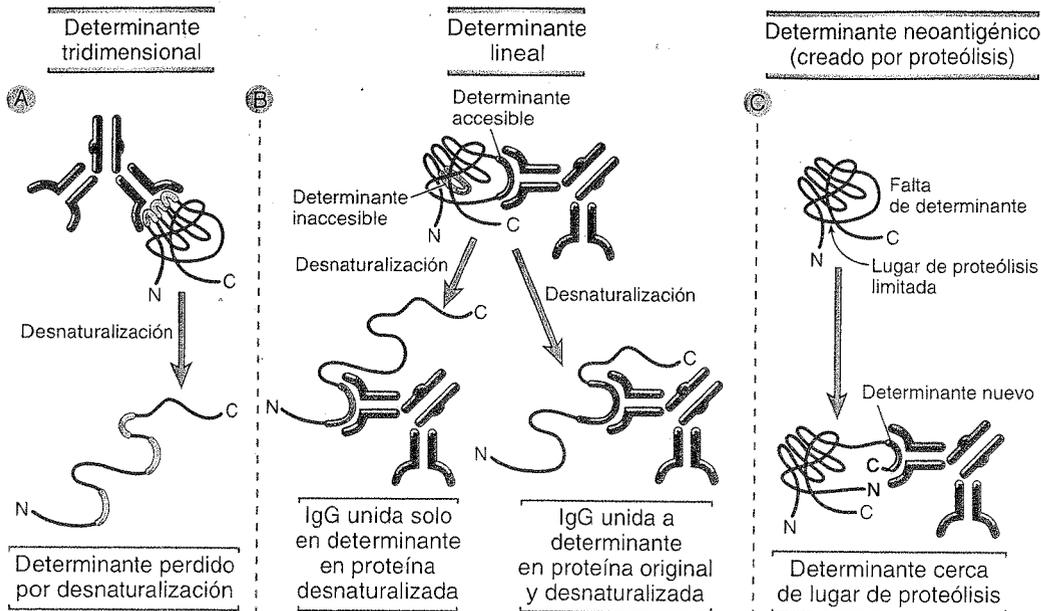


FIGURA 5-12 La naturaleza de los determinantes antígenicos. Los determinantes antígenicos (mostrados en naranja, rojo y azul) pueden depender del plegado de la proteína (conformación), así como de la estructura primaria. Algunos determinantes están accesibles en las proteínas originales y se pierden con la desnaturalización (A), mientras que otros se exponen solo al desplegarse la proteína (B). Los neodeterminantes se deben a modificaciones posteriores a la síntesis, como la escisión de un enlace peptídico (C).

entre una sola zona combinatoria de un anticuerpo y un epítipo de un antígeno se llama **afinidad** del anticuerpo. La afinidad suele representarse mediante una constante de disociación (K_d), que indica la facilidad con la que se separa un complejo antígeno-anticuerpo en sus constituyentes. Una K_d pequeña indica una afinidad más fuerte o mayor en la interacción, porque es necesaria una concentración menor de antígeno y de anticuerpo para que se forme el complejo. La K_d de los anticuerpos producidos en respuestas inmunitarias humorales típicas suele estar entre 10^{-7} M y 10^{-11} M aproximadamente. El suero de un sujeto inmunizado contendrá una mezcla de anticuerpos con diferentes afinidades por el antígeno, dependiendo, sobre todo, de la secuencia de aminoácidos del CDR.

Como la región bisagra de los anticuerpos les aporta flexibilidad, un solo anticuerpo puede unirse a un solo antígeno multivalente a través de más de un lugar de unión. Para la IgG o la IgE, esta unión puede afectar, como mucho, a dos lugares de unión, uno en cada Fab. Para la IgM pentamérica, sin embargo, un solo anticuerpo puede unirse hasta a 10 lugares diferentes (fig. 5-13). Los antígenos polivalentes tendrán más de una copia de un determinante particular. Aunque la afinidad de cualquier lugar de unión al antígeno será la misma para cada epítipo de un antígeno polivalente, la fuerza de la unión del anticuerpo con el antígeno deberá tener en cuenta la unión de todos estos lugares a todos los epítopos disponibles. Esta fuerza global de la unión se llama **avidéz**, y es mucho mayor que la afinidad de cualquier lugar de unión al antígeno aislado. De este modo, una molécula de IgM de afinidad baja puede unirse aún fuertemente a un antígeno polivalente,

debido a que muchas interacciones de afinidad baja (hasta 10 por molécula de IgM) pueden producir una interacción con avidéz elevada. Esto se debe a que un anticuerpo con múltiples lugares de unión tendrá al menos una zona de unión ligada físicamente al antígeno durante un tiempo mayor que un anticuerpo con solo dos lugares de unión; este último tiene más probabilidades de «desprenderse» del antígeno y, por tanto, menos avidéz por el antígeno, aunque cada fragmento Fab en las dos formas posea una afinidad equivalente por el antígeno.

Los antígenos polivalentes son importantes desde el punto de vista de la activación del linfocito B, como se expuso antes. Las interacciones polivalentes entre el antígeno y el anticuerpo también tienen relevancia biológica, debido a que muchas funciones efectoras de los anticuerpos se activan de manera óptima cuando dos o más moléculas de anticuerpo se acercan al unirse a un antígeno polivalente. Si un antígeno polivalente se mezcla con un anticuerpo específico en un tubo de ensayo, los dos interactúan para formar **inmunocomplejos** (fig. 5-14). Como se expone en los capítulos 12 y 18, los inmunocomplejos también pueden contener fragmentos del complemento. En la concentración correcta, llamada zona de equivalencia, el anticuerpo y el antígeno forman una red extensamente entrelazada de moléculas unidas tal que la mayor parte o todas las moléculas de antígeno y de anticuerpo se unen en grandes masas. Los inmunocomplejos pueden disociarse en agregados de menor tamaño aumentando la concentración de antígeno, de manera que las moléculas de antígeno libres desplacen al antígeno unido al anticuerpo (zona de exceso de antígeno) o aumentando el anticuerpo de

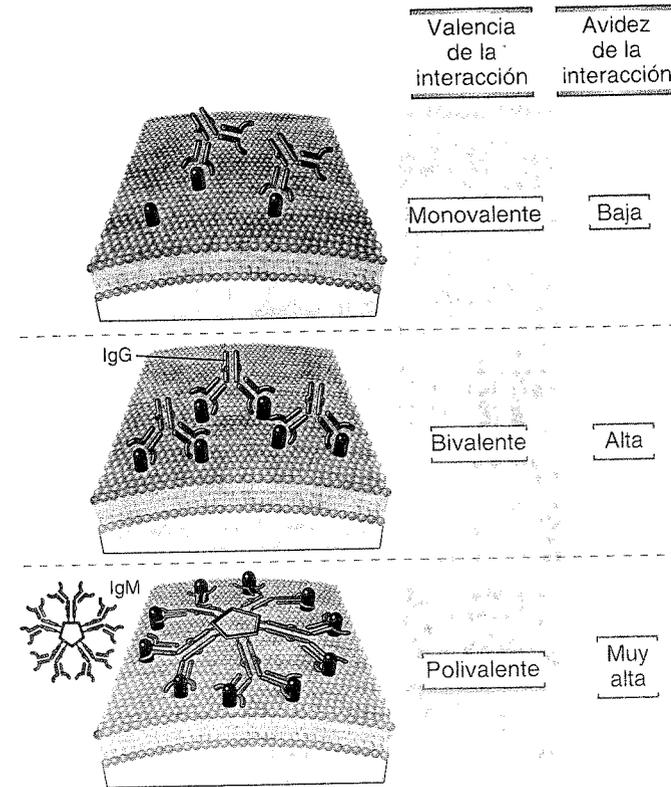


FIGURA 5-13 Valenzia y avidéz de las interacciones entre el anticuerpo y el antígeno. Los antígenos monovalentes, o epítopos separados en las superficies celulares, interactuarán con un solo lugar de unión de una molécula de anticuerpo. Aunque la afinidad de esta interacción puede ser elevada, la avidéz global puede ser relativamente baja. Cuando en una superficie celular están suficientemente cerca determinantes repetidos, pueden unirse las zonas de unión al antígeno de una sola molécula de IgG, lo que lleva a una interacción bivalente de mayor avidéz. La región bisagra de la molécula de IgG acomoda el cambio de forma necesario para la unión simultánea de ambas zonas de unión. Las moléculas de IgM tienen 10 lugares idénticos de unión al antígeno, que podrían unirse en teoría y de forma simultánea a 10 determinantes repetidos en una superficie celular, lo que da lugar a una interacción polivalente de gran avidéz.

manera que las moléculas de anticuerpo libres desplacen al anticuerpo unido de los determinantes antígenicos (zona de exceso de anticuerpo). Si se alcanza una zona de equivalencia en vivo, pueden formarse grandes inmunocomplejos en la circulación. Los inmunocomplejos que quedan atrapados en los tejidos o se forman en ellos pueden iniciar una reacción inflamatoria, lo que da lugar a enfermedades por inmunocomplejos (v. capítulo 18).

RELACIONES ENTRE ESTRUCTURA Y FUNCIÓN EN LAS MOLÉCULAS DE ANTICUERPO

Muchas características estructurales de los anticuerpos son fundamentales para su capacidad de reconocer antígenos y para sus funciones efectoras. En el siguiente apartado, resumiremos cómo contribuye la estructura de los anticuerpos a sus funciones.

Características relacionadas con el reconocimiento del antígeno

Los anticuerpos son capaces de reconocer de forma específica una amplia variedad de antígenos con afinidades variables. Todas las características del reconocimiento del antígeno reflejan las propiedades de las regiones V del anticuerpo.

Especificidad

Los anticuerpos pueden ser muy específicos de los antígenos y distinguir entre pequeñas diferencias en la estructura química. Los experimentos clásicos realizados por Karl Landsteiner a finales de la década de los veinte y principios de los treinta demostraron que los anticuerpos producidos en respuesta a un hapteno aminobenceno con un grupo sulfonato sustituido en meta se unirían fuertemente a este hapteno, pero débilmente o no a todos los isómeros con sustituciones en orto o para. Estos antígenos tienen una estructura similar y difieren solo en la localización del grupo sulfonato en el anillo benceno.

La especificidad exquisita de los anticuerpos se aplica al reconocimiento de todas las clases de moléculas. Por ejemplo, los anticuerpos pueden distinguir entre dos determinantes proteínicos lineales que se diferencian en un solo aminoácido que tenga poco efecto en la estructura secundaria. Como los constituyentes bioquímicos de todos los organismos vivos son, en esencia, similares, este grado alto de especificidad es necesario para que los anticuerpos generados en respuesta a los antígenos de un microbio no reaccionen habitualmente con moléculas propias con una estructura parecida ni con antígenos de otros microbios. Sin embargo, algunos anticuerpos producidos contra un antígeno pueden unirse a un antígeno diferente, pero con una estructura relacionada. A esto se le denomina **reacción cruzada**. Los anticuerpos que se producen en respuesta a un antígeno microbiano

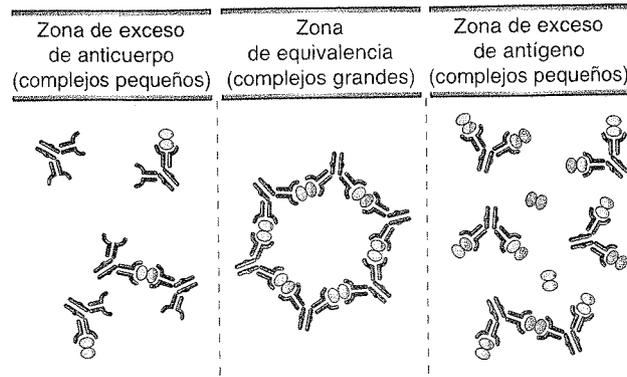


FIGURA 5-14 Complejos antígeno-anticuerpo. Los tamaños de los complejos antígeno-anticuerpo (inmunarios) son una función de las concentraciones relativas del antígeno y el anticuerpo. Los complejos grandes se forman en concentraciones de antígenos multivalentes y anticuerpos que se llaman zona de equivalencia; los complejos son menores con exceso relativo de antígeno o anticuerpo.

reaccionan a veces de forma cruzada con antígenos propios, y esto puede ser la base de ciertas enfermedades inmunitarias (v. capítulo 18).

Diversidad

Como se expuso antes en este capítulo, un sujeto es capaz de producir una enorme cantidad de anticuerpos con estructuras diferentes, quizás más de 10^{11} , cada uno con una especificidad distinta. La capacidad de los anticuerpos en cualquier sujeto de unirse de forma específica a un gran número de antígenos diferentes es un reflejo de la **diversidad** de los anticuerpos, y el grupo total de anticuerpos con diferentes especificidades representa el **repertorio de anticuerpos**. Los mecanismos genéticos que generan tal gran repertorio de anticuerpos se producen solo en los linfocitos. Esta diversidad se genera por la recombinación aleatoria de un grupo limitado y heredado de secuencias de ADN de línea germinal para formar genes funcionales que codifican regiones V de cadenas pesadas y ligeras, así como por la adición de secuencias de nucleótidos durante el proceso de recombinación. Estos mecanismos se exponen con detalle en el capítulo 8. Los millones de variaciones resultantes en la estructura se concentran en las regiones hipervariables de las cadenas ligeras y pesadas, y así determinan la especificidad frente a los antígenos.

Maduración de la afinidad

La capacidad de los anticuerpos de neutralizar toxinas y microbios infecciosos depende de la unión fuerte de los anticuerpos. Como hemos expuesto, la unión fuerte se consigue con interacciones de avidez alta y afinidad alta. Un mecanismo para la generación de anticuerpos de afinidad alta es la producción de cambios sutiles en la estructura de las regiones V de los anticuerpos durante las respuestas inmunitarias humorales frente a los antígenos proteínicos dependientes de los linfocitos T. Estos cambios aparecen por un proceso de mutación somática en linfocitos B estimulados por el antígeno que genera nuevas estructuras de dominios V, algunos de los cuales se unen al antígeno con mayor afinidad que los dominios V originales (fig. 5-15). Los linfocitos B productores de anticuerpos con mayor afinidad se unen preferentemente al antígeno y, como resultado de la selección, se convierten en los linfocitos B dominantes en cada exposición posterior al

antígeno. Este proceso, llamado **maduración de la afinidad**, da lugar a un aumento de la afinidad media de unión de los anticuerpos frente a un antígeno a medida que la respuesta inmunitaria humoral evoluciona. De este modo, un anticuerpo producido durante una respuesta inmunitaria primaria frente a un antígeno proteínico tiene a menudo una K_d entre 10^{-7} y 10^{-9} M; en las respuestas secundarias, la afinidad aumenta, con una K_d de 10^{-11} M o incluso menos. Los mecanismos de la mutación somática y de la maduración de la afinidad se exponen en el capítulo 11.

Características relacionadas con las funciones efectoras

Muchas de las funciones efectoras de las inmunoglobulinas están mediadas por las porciones Fc de las moléculas, y los isotipos de anticuerpo que difieren en estas regiones Fc realizan funciones distintas. Hemos mencionado antes que las funciones efectoras de los anticuerpos requieren la unión de regiones C de la cadena pesada, que compone las porciones Fc, a otras células y proteínas plasmáticas. Por ejemplo, la IgG cubre los microbios y los dirige hacia los neutrófilos y los macrófagos para que sean fagocitados por ellos. Esto se debe a que el antígeno que forma complejo con la molécula de IgG es capaz de unirse, a través de su región Fc, a receptores para el Fc específicos de la cadena pesada γ (FcR) que se expresan en los neutrófilos y en los macrófagos. Por el contrario, la IgE se une a los mastocitos e induce su desgranulación, porque los mastocitos expresan FcR específicos para la IgE. Otro mecanismo efector de la inmunidad humoral que depende del Fc es la activación de la vía clásica del sistema del complemento. El sistema genera mediadores inflamatorios y promueve la fagocitosis y la lisis de los microbios. Se inicia por la unión de una proteína del complemento llamada C1q a las porciones Fc de la IgG o la IgM que forman complejos con el antígeno. La zona de unión al FcR y al complemento de los anticuerpos se encuentran dentro de los dominios C de la cadena pesada de los diferentes isotipos (v. fig. 5-1). La estructura y las funciones de los FcR y de las proteínas del complemento se exponen con detalle en el capítulo 12.

Las funciones efectoras de los anticuerpos las inician solo moléculas que se han unido a antígenos, y no Ig libres. La razón de que solo los anticuerpos con antígenos unidos activen los

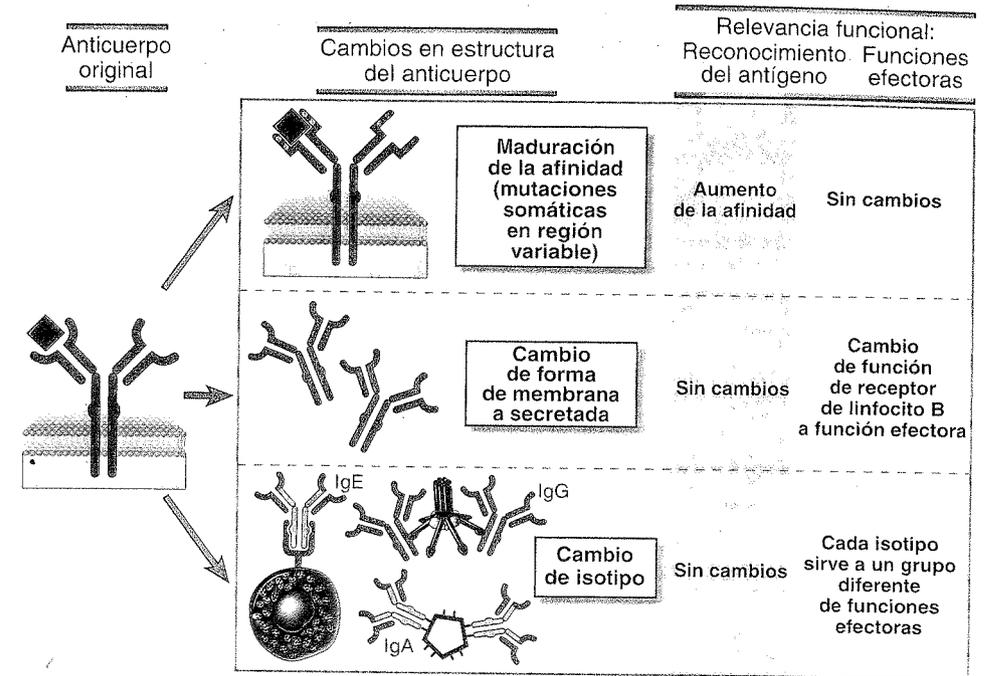


FIGURA 5-15 Cambios en la estructura del anticuerpo durante las respuestas inmunitarias humorales. La ilustración muestra los cambios en la estructura de los anticuerpos que pueden producirse en la progenie de linfocitos B activados (un clon) y los cambios relacionados en su función. Durante la maduración de la afinidad, las mutaciones en la región V (indicadas por los puntos rojos) provocan cambios en la especificidad fina sin cambios en las funciones efectoras que dependen de la región C. Los linfocitos B activados pueden cambiar la producción de anticuerpos que se unen en gran medida a la membrana, que contienen regiones transmembranas y citoplásmicas, a anticuerpos secretados. Los anticuerpos secretados pueden mostrar o no mutaciones del gen V (es decir, que la secreción de anticuerpos se produce antes y después de la maduración de la afinidad). En el cambio de isotipo, las regiones C cambian (lo que se indica por un cambio de color del púrpura al verde o amarillo) sin cambios en la región V que se une al antígeno. El cambio de isotipo se observa en los anticuerpos unidos a la membrana y en los secretados. La base molecular de estos cambios se expone en el capítulo 11.

mecanismos efectoras es que es necesaria la unión de dos o más porciones Fc de anticuerpo adyacentes a varios sistemas efectoras para activarlos, como las proteínas del complemento y los FcR de los fagocitos (v. capítulo 12). Este requisito de moléculas de anticuerpo adyacentes asegura que las funciones efectoras se dirijan específicamente hacia la eliminación de los antígenos reconocidos por el anticuerpo, y que anticuerpos libres circulantes no desencadenen, de un modo inútil e inapropiado, respuestas efectoras.

Los cambios en los isotipos de los anticuerpos durante las respuestas inmunitarias humorales influyen en cómo y dónde actúen las respuestas para erradicar el antígeno. Después de la estimulación por un antígeno, un solo clon de linfocitos B puede producir anticuerpos con diferentes isotipos que, no obstante, poseen idénticos dominios V y, por tanto, idéntica especificidad por el antígeno. Los linfocitos B vírgenes, por ejemplo, producen simultáneamente IgM e IgD, que actúan como receptores de membrana para los antígenos. Cuando antígenos extraños activan estos linfocitos B, habitualmente de origen microbiano, pueden sufrir un proceso llamado **cambio de isotipo** (o **clase**) en el que el tipo de región C_H , y, por tanto, el isotipo de anticuerpo producido por el linfocito B, cambia, pero las

regiones V y la especificidad no (v. fig. 5-15). Como resultado del cambio de isotipo, una progenie diferente del linfocito B original que expresaba IgM e IgD puede producir isotipos y subtipos más capaces de eliminar el antígeno. Por ejemplo, la respuesta de anticuerpos a muchas bacterias y virus está dominada por anticuerpos IgG, que promueven la fagocitosis de los microbios, y la respuesta a los helmintos consta, sobre todo, de IgE, que ayuda a destruir los parásitos. El cambio al isotipo IgG también prolonga la eficacia de las respuestas inmunitarias humorales, debido a la semivida larga de los anticuerpos IgG. Los mecanismos y relevancia funcional del cambio de isotipo se exponen en el capítulo 11.

Las regiones C de la cadena pesada de los anticuerpos también determinan la distribución tisular de las moléculas de anticuerpo. Como se ha mencionado antes, después de que se activen los linfocitos B, pierden gradualmente la expresión del anticuerpo unido a la membrana y expresan más la proteína secretada (v. fig. 5-15). La IgA puede secretarse de forma eficiente a través del epitelio mucoso, y es la principal clase de anticuerpo en las secreciones mucosas y en la leche (v. capítulo 13). Los recién nacidos están protegidos de las infecciones por los anticuerpos IgG que adquieren de sus

madres a través de la placenta durante la gestación y a través del intestino poco después del nacimiento. Esta transferencia de IgG materna está mediada por el receptor para la Fc neonatal, que describimos antes como el receptor responsable de la semivida larga del anticuerpo IgG.

RESUMEN

- Los anticuerpos, o inmunoglobulinas, son una familia de glucoproteínas con una estructura relacionada que los linfocitos B producen en la forma membranaria o secretada.
- Los anticuerpos unidos a la membrana sirven de receptores que median la activación inducida por el antígeno de los linfocitos B.
- Los anticuerpos secretados funcionan como mediadores de la inmunidad humoral específica, al activar varios mecanismos efectores que sirven para eliminar los antígenos unidos a ellos.
- Las regiones de unión al antígeno de las moléculas de anticuerpo son muy variables y cualquier sujeto puede producir más de 10^{11} anticuerpos diferentes, cada uno con diferente especificidad por el antígeno.
- Todos los anticuerpos tienen una estructura nuclear simétrica común de dos cadenas pesadas idénticas y dos cadenas ligeras idénticas unidas por enlaces covalentes, con cada cadena ligera unida a una cadena pesada. Cada cadena consta de dos o más dominios de Ig plegados de forma independiente de unos 110 aminoácidos, que contienen secuencias conservadas y enlaces disulfuro intracatenarios.
- Los dominios N terminales de las cadenas pesadas y ligeras forman las regiones V de las moléculas de anticuerpo, que difieren entre los anticuerpos de diferentes especificidades. Las regiones V de las cadenas pesadas y ligeras contienen cada una tres regiones hipervariables separadas de unos 10 aminoácidos que se ensamblan en el espacio, de modo que forman la zona de unión al antígeno de la molécula de anticuerpo.
- Los anticuerpos se clasifican en diferentes isotipos y subtipos en función de diferencias en las regiones C de la cadena pesada, que constan de tres o cuatro dominios C de Ig, y estas clases y subclases tienen propiedades funcionales diferentes. Las clases de anticuerpo se llaman IgM, IgD, IgG, IgE e IgA. Las dos cadenas ligeras de una sola molécula de Ig tienen el mismo isotipo de cadena ligera, κ o λ , que difieren en sus dominios C únicos.
- La mayoría de las funciones efectoras de los anticuerpos están mediadas por las regiones C de las cadenas pesadas, pero estas funciones las induce la unión de los antígenos a la zona de unión de la región V situada en una zona alejada del espacio.
- Los anticuerpos monoclonales se producen a partir de un solo clon de linfocitos B y reconocen un solo determinante antigénico. Los anticuerpos monoclonales pueden generarse en el laboratorio y se usan ampliamente en la investigación, el diagnóstico y el tratamiento.
- Los antígenos son sustancias que se unen específicamente a los anticuerpos o los receptores del linfocito T para el antígeno. Los antígenos que se unen a los anticuerpos representan una amplia variedad de moléculas biológicas, como azúcares, lípidos, glúci-

dos, proteínas y ácidos nucleicos. Esto contrasta con los receptores del linfocito T para el antígeno, que reconocen solo antígenos peptídicos.

- Los antígenos macromoleculares contienen múltiples epítopos o determinantes, cada uno reconocido por un anticuerpo. Los epítopos lineales de los antígenos proteínicos constan de una secuencia de aminoácidos adyacentes, y los determinantes tridimensionales están formados por el plegado de una cadena polipeptídica.
- La afinidad de la interacción entre la zona de unión al antígeno de una sola molécula de anticuerpo y un solo epítopo se representa generalmente por la constante de disociación (K_d), que se calcula a partir de los datos de la unión. Los antígenos polivalentes contienen múltiples epítopos idénticos, a los que pueden unirse moléculas idénticas de anticuerpo. Los anticuerpos pueden unirse simultáneamente a dos o, en el caso de la IgM, hasta 10 epítopos idénticos, lo que aumenta la avidez de la interacción entre el anticuerpo y el antígeno.
- Las concentraciones relativas de antígenos polivalentes y de anticuerpos pueden favorecer la formación de inmunocomplejos que pueden depositarse en los tejidos y causar lesiones.
- La unión del anticuerpo al antígeno puede ser muy específica y distinguir pequeñas diferencias en las estructuras químicas, pero pueden surgir reacciones cruzadas en las que el mismo anticuerpo se une a dos o más antígenos.
- En el curso de una respuesta inmunitaria pueden producirse varios cambios en la estructura de los anticuerpos producidos por un clon de linfocitos B. Los linfocitos B producen inicialmente solo Ig unida a la membrana, pero en los linfocitos B activados y las células plasmáticas, se induce la síntesis de Ig solubles con la misma especificidad antigénica que el receptor Ig original unido a la membrana. Los cambios en el uso de los segmentos génicos de la región C sin cambios en las regiones V son la base del cambio de isotipo, que conduce a cambios en la función efectora sin alterar la especificidad. Las mutaciones puntuales en las regiones V de un anticuerpo específico frente a un antígeno aumentan la afinidad por ese antígeno (maduración de la afinidad).

LECTURAS RECOMENDADAS

Estructura y función de los anticuerpos

- Danilova N, and CT Amemiya. Going adaptive: the saga of antibodies. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1168:130-155, 2009.
- Fagarasan S. Evolution, development, mechanism and function of IgA in the gut. *Current Opinion in Immunology* 20:170-177, 2008.
- Harris LJ, SB Larsen, and A McPherson. Comparison of intact antibody structures and their implications for effector functions. *Advances in Immunology* 72:191-208, 1999.
- Law M, and L Hengartner. Antibodies against viruses: passive and active immunization. *Current Opinion in Immunology* 20:486-492, 2008.
- Mascola JR, and DC Montefiori. The role of antibodies in HIV vaccines. *Annual Review of Immunology* 28:413-444, 2010.
- Stanfield RL, and JA Wilson. Structural studies of human HIV-1 V3 antibodies. *Human Antibodies* 14:73-80, 2005.

Aplicaciones terapéuticas de los anticuerpos

- Chan AC, and PJ Carter. Therapeutic antibodies for autoimmunity and inflammation. *Nature Reviews Immunology* 10:301-316, 2010.
- Kohler G, and C Milstein. Continuous culture of fused cells secreting antibody of predetermined specificity. *Nature* 256:495-497, 1975.

- Lonberg N. Fully human antibodies from transgenic mouse and phage display platforms. *Current Opinion in Immunology* 20:450-459, 2008.
- Weiner LM, R Surana, and S Wang. Monoclonal antibodies: versatile platforms for cancer immunotherapy. *Nature Reviews Immunology* 10:317-327, 2010.