

Universidad del Sureste.

Campus Tuxtla Gutiérrez.

Iris Rubí Vázquez Ramírez.

Lic. En medicina humana.

Cuarto semestre.

Actividad 4: monografía de la aplicación de la
inmunología en el diagnóstico clínico.

Inmunología.

Dr. Saúl Peraza Marín.

Sábado 24 de junio del 2022.

Aplicación de la inmunología en el diagnóstico clínico.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) definió la inmunología como una disciplina que trata del estudio, diagnóstico y tratamiento de pacientes con enfermedades causadas por alteraciones de los mecanismos inmunológicos y de las situaciones en las que las manipulaciones inmunológicas forman una parte importante del tratamiento y/o de la prevención. La especialidad de inmunología incluye el estudio de las enfermedades en las que los mecanismos inmunitarios no actúan adecuadamente, bien sea por razones genéticas o adquiridas, como las inmunodeficiencias, o debido a otras causas intrínsecas al sistema como puede ser la transformación neoplásica de células del sistema inmunitario, la actuación anómala de anticuerpos específicos y/o linfocitos sensibilizados, u otros sistemas efectores asociados, todo lo cual produce como resultado lesiones tisulares en el hospedador. También se ocupa la Inmunología de las situaciones en las que las lesiones pueden ser el resultado de la acción del sistema inmunitario en la defensa contra microorganismos o durante el rechazo de alojamiento de trasplantes y transfusiones. Por último, la especialidad de Inmunología abarca asimismo el uso de la inmunoterapia o tratamiento de base inmunológica, trasplante y, más recientemente, de protocolo de terapia celular y génica.

Inmunoterapia.

En estos últimos años, el uso de las técnicas de biología y genética molecular ha permitido aumentar enormemente nuestro conocimiento de los eventos moleculares que participan en la respuesta inmune, así como en los procesos de tolerancia y anergia que son esenciales para el éxito de los trasplantes. Todo esto ha conducido a un aumento explosivo de estudios tanto en animales como en humanos, orientados a la búsqueda de nuevas estrategias inmunoterapéuticas basadas en el bloqueo de la señalización a través de moléculas co-estimuladoras. Ello abre la perspectiva de una tolerancia inmunológica antígeno-específica, en vez de la inmunosupresión generalizada que producen las drogas inmunosupresoras.

Trasplante: Bloqueo del sistema CD28/B7. Este capítulo se inició en 1986 con el descubrimiento de una glicoproteína presente en la superficie de los linfocitos T humanos, la cual fue denominada T90/44 (CD28). El gen que codifica para el CD28 fue clonado y secuenciado un año después, revelándose que el CD28 es una glicoproteína implicada en la activación de los linfocitos T. Estudios de adhesión celular demostraron que el ligando del CD28 era un antígeno de activación presente en la superficie de los linfocitos B, denominado B7 (B7.1, CD80). En esta misma época se identificó en ratones un gen que codificaba una proteína presente en linfocitos T citotóxicos, razón por la que se denominó CTLA4 (por *cytotoxic T lymphocyte antigen-4*). Su equivalente humano fue subsecuentemente identificado y clonado, revelándose que el CTLA4 es una proteína presente en la superficie de los linfocitos T activados y cuyo ligando natural es el B7, el mismo del CD28. Más tarde, se descubrió una segunda molécula en la superficie de los linfocitos B que se unía tanto a CD28 como a CTLA4, por lo cual fue denominada B7.2 (CD86). Los estudios funcionales demostraron que el CD28 y el CTLA4 son muy importantes en el inicio y el término de la respuesta inmune, respectivamente. Así, al inicio de la respuesta inmune mediada por el TCR, la unión del CD28 del linfocito T al

B7.1 y B7.2 de la célula presentadora de antígeno constituye una segunda señal esencial para la inducción de una respuesta inmune. Luego, el CTLA4 cuya expresión aumenta significativamente tras la activación de los linfocitos T, se uniría al B7.1 y B7.2 dando como resultado la generación de una señal inhibitoria que conduciría al término de la respuesta inmune, presumiblemente debido a una detención del ciclo celular y de la producción de IL-2. La hipótesis de que el CTLA4 es un regulador negativo de la respuesta inmune se demostró en forma elegante con la generación de un ratón deficiente en CTLA4, el cual desarrolló una enfermedad linfoproliferativa y autoinmune, sugiriéndose que el CTLA4 es esencial para la homeostasis inmunológica y para la regulación de los linfocitos T autoreactivos en la periferia. Todos estos estudios permitieron postular que el bloqueo del sistema CD28/B7, en especial de los linfocitos T activados antígeno-específicos, podría ser una herramienta terapéutica útil en el trasplante de tejidos y órganos alogénicos; es decir, entre individuos inmunológicamente diferentes pero de una misma especie.

Inmunoterapia: anticuerpos anti-CD25. Un agente inmunosupresor ideal en trasplante debería selectivamente inactivar sólo aquellos linfocitos T que están destinados a participar en la reacción inmune de interés. Una de las moléculas de mayor interés en la inmunosupresión específica es el receptor de la IL-2 (IL-2R) debido a que su expresión es un evento crítico en la activación de los linfocitos T autoreactivos. El IL-2R está compuesto por tres proteínas, denominadas α (IL-2R α , Tac, CD25), β (IL-2R β , CD122) y γ (IL-2R γ , γ_c , CD132). Los estudios se dirigieron hacia la subunidad IL-2R α debido a que ésta se expresa sólo en linfocitos T activados y a que su asociación con las subunidades IL-2R β y IL-2R γ da lugar a la formación del receptor de alta afinidad para la IL-2.

Artritis Reumatoide: Bloqueo de la acción del TNF- α . La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad autoinmune sistémica de etiología desconocida caracterizada por inflamación crónica y destrucción articular. En estos últimos años, se han logrado precisar algunos de los efectos que tienen los linfocitos, macrófagos, sinoviocitos y citoquinas pro-inflamatorias en la AR. El factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) ha resultado ser un mediador muy importante en la AR ya que se ha demostrado que es capaz de inducir estimulación de la producción de otras citoquinas pro-inflamatorias, estimulación de la liberación de enzimas que degradan la matriz articular y aumento de la expresión de moléculas de adhesión en las células endoteliales. El conocimiento de las acciones del TNF- α , ha dado paso al surgimiento de una serie de trabajos orientados a la construcción, mediante técnicas moleculares e inmunológicas, de moléculas que puedan antagonizar el efecto del TNF- α en AR. Uno de los enfoques dado a esta estrategia, fue la fabricación de una proteína de fusión recombinante que consistía en dos moléculas del receptor tipo II para TNF- α unidas a la región constante (Fc) de una inmunoglobulina. Otro de los enfoques usados fue la fabricación de un anticuerpo monoclonal humanizado anti-TNF- α , que consistía en una inmunoglobulina humana en la cual las regiones hipervariables anti-TNF- α eran de ratón. Ambas proteínas son capaces de unirse al TNF- α e inhibir su acción *in vitro*. Los estudios clínicos controlados en pacientes con AR activa refractaria, demostraron que el tratamiento con estas moléculas de fusión redujo significativamente la actividad de la enfermedad. Debido al gran efecto demostrado en la inducción de mejoría clínica en los pacientes con AR, este tratamiento fue aprobado por la Administración de Drogas y Alimentos de Estados Unidos (US FDA).

Aproximación de laboratorio en el estudio de enfermedades autoinmunes.

Anticuerpos anti núcleo-citoplasmáticos (ANA).

Son auto-anticuerpos dirigidos contra componentes nucleares: dsDNA, histonas y ribonucleoproteínas. Son muy sensibles en la pesquisa de patologías autoinmunes, pero poco específicos; encontrándose positivos en distintas enfermedades e incluso, en pacientes sanos.

La técnica de elección para su estudio es la inmunofluorescencia indirecta (IFI) en células HEP-2, observándose distintos patrones de tinción fluorescente. Estos patrones orientan a la estructura celular afectada y a distintas patologías autoinmunes. Del mismo modo, se efectúa una dilución seriada de la muestra (titulación), con el fin de determinar de forma indirecta la cantidad de auto-anticuerpo presente.

Anticuerpos anti DNA de doble hebra (Anti dsDNA).

La medición de estos auto-anticuerpos se utiliza en la evaluación y manejo de pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES). Están dirigidos contra el DNA de doble hebra (nativo), el cual está presente en el núcleo celular. Su presencia se puede sospechar al tener ANA positivo patrón nuclear homogéneo y su detección en forma dirigida se puede realizar por varias técnicas.

Radioinmunoensayo (Farr): estándar de oro, permite detectar anticuerpos de alta afinidad mediante radioactividad. Tiene una alta sensibilidad y especificidad, pero es un método caro y potencialmente peligroso para el operador. En la actualidad las dos técnicas más utilizadas son: Inmunofluorescencia indirecta (IFI) en *Crithidia lucilae* y ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*). La IFI en *Crithidia lucilae*, hemoflagelado unicelular, muestra tinción del quinoplasto que corresponde a una estructura celular que sólo contiene dsDNA. Esta técnica es comparable en sensibilidad y especificidad al ensayo de Farr.

Anticuerpos contra antígenos extractables del núcleo (ENA)

Son auto-anticuerpos contra proteínas no histonas, asociados a RNA; generalmente en el núcleo. Debido a la localización de estos antígenos, suelen relacionarse a distintos patrones de ANA en inmunofluorescencia. El nombre ENA, deriva de que estos antígenos pueden extraerse con soluciones salinas de baja fuerza iónica. El examen se divide en dos: *screening* (tamizaje) y *profile* (perfil); ambos se realizan mediante técnica de ELISA. Otras técnicas disponibles son inmunoblot, blot en línea y citometría de flujo.

Anti SM (sn-RNP, spliceosoma): Este anticuerpo da un patrón nuclear moteado (a veces homogéneo) en los ANA. Su principal asociación clínica es con LES, pues está presente en 15 a 30% de los casos, con especificidad cercana a 100%. Se asocia a mayor actividad y severidad de la afectación renal, pero no desaparece cuando el paciente entra en remisión. Puede preceder la aparición de los síntomas de LES 6 meses a 1 año. El 80% de las ocasiones, se encuentra asociado al anticuerpo anti RNP (ribonucleoproteínas), ya que ambos comparten epítomos.

Anti-RNP o Anti-SM-RNP (Anti-ribonucleoproteína): Este anticuerpo da un patrón moteado en los ANA y su principal epítomo reconocido es U1. Se encuentra en casi 100% de los

pacientes con enfermedad mixta del tejido conectivo. También puede estar presente en un 25-47% de los pacientes con LES, en un 24% de los pacientes con polimiositis o esclerodermia, en un 2-4% de los pacientes con esclerosis sistémica y en un porcentaje menor en aquellos con fenómeno de raynaud.

Anti-SSA (Ro): Puede dar un patrón nuclear moteado fino en los ANA, pero en caso de ausencia de positividad ANA, no se puede descartar su presencia. Este anticuerpo se dirige contra dos proteínas distintas: Ro52 y Ro60. En un 50% de los casos se encuentra asociado a Anti-SSB (La). Su importancia radica en la alta asociación con síndrome de Sjögren, ya que está presente desde un 60 a 97% según la cohorte estudiada, además puede aparecer cuatro años antes de los síntomas del síndrome de Sjögren.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

INMUNOLOGÍA [Internet]. Simeg.org. [citado el 24 de junio de 2022]. Disponible en: <https://simeg.org/mir/especialidades/inmunologia.htm>

Bastías C, Sidgman F, Rodríguez C. LABORATORIO DE INMUNOLOGÍA EN LA PRÁCTICA CLÍNICA. Rev médica Clín Las Condes [Internet]. 2015 [citado el 24 de junio de 2022];26(6):764–75. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-medica-clinica-las-condes-202-articulo-laboratorio-de-inmunologia-en-la-S0716864015001522>

Carrión A F, E Figueroa F, Rodríguez G C. La inmunología clínica actual: una perspectiva genética y molecular. Rev Med Chil [Internet]. 2000 [citado el 24 de junio de 2022];128(6):650–8. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0034-98872000000600013&script=sci_arttext