

CAPÍTULO 5

Antígenos y procesamiento antigénico

Lais Luján Pardini y Alejandra Edith Larsen

Antígenos

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

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

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

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

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

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

Estructura de los antígenos

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

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

La inmunogenicidad tiene atributos propios que se relacionan con

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

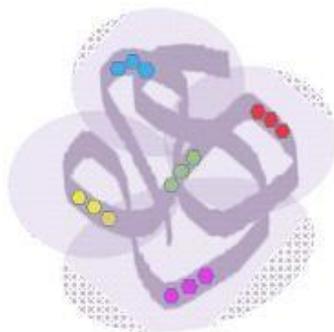
Los inmunógenos también poseen *atributos no propios*, es decir que no dependen de ellos sino del hospedador. Algunos agentes patógenos solo pueden afectar a determinadas especies o a determinada edad o categoría de animales - lactantes, destete, hembras preñadas- siendo en general más susceptibles los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

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

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

Figura 5.1

Esquema de la estructura general de un antígeno

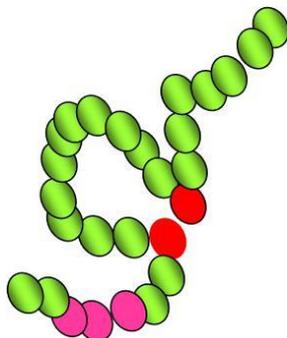


Clasificación de epitopos

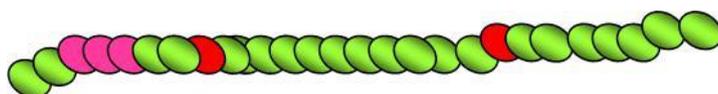
Por su *ubicación*, pueden ser SUPERFICIALES, aquellos expuestos en la superficie más externa del antígeno (accesibles e inaccesibles) y PROFUNDOS en el interior de la estructura antigénica, siendo necesario el procesamiento de los mismos para que puedan ser reconocidos.

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

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

Figura 5.2*Esquema de un epítopo conformacional, nativo o discontinuo (rojo)*

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

Figura 5.3*Esquema de un epítopo lineal secuencial o continuo (rosa)*

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

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

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

Procesamiento antigénico y presentación de epitopos

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

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

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

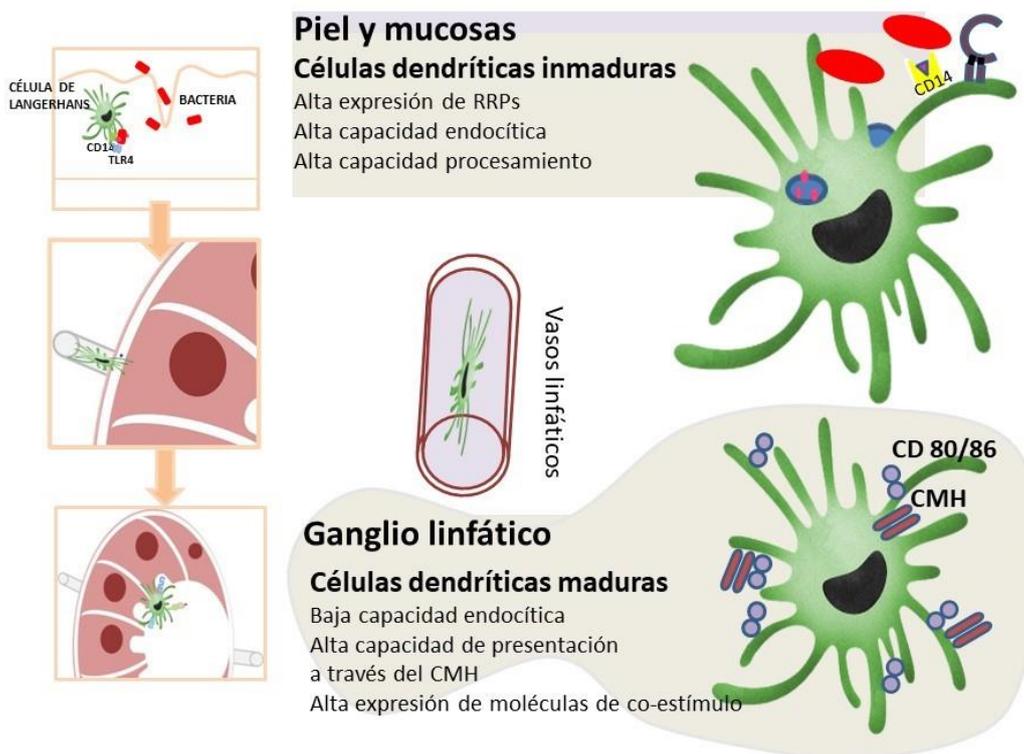
Las células procesadoras y presentadoras están representadas por los macrófagos, los linfocitos B y las células dendríticas. Estas últimas son las CPA por excelencia, por su altísima capacidad endocítica, siendo las únicas capaces de activar a los linfocitos T vírgenes. Se las suele considerar las células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

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

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

Figura 5.4

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



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

Vías de procesamiento antigénico

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

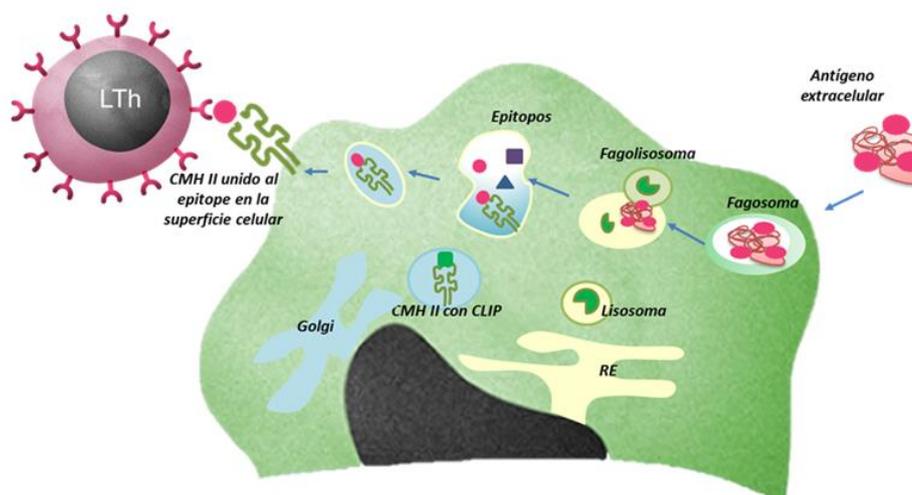
La vía exógena solo pueden realizarla las CPA y permite procesar y presentar bacterias y toxinas extracelulares, así como, bacterias y parásitos de vida intracelular o intravacuolar como *Micobacterium*, *Brucella*, *Listeria*, *Leishmania*, *Toxoplasma*. La vía endógena pueden hacerla todas las células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

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

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

Figura 5.5

Esquema de la vía de procesamiento exógena



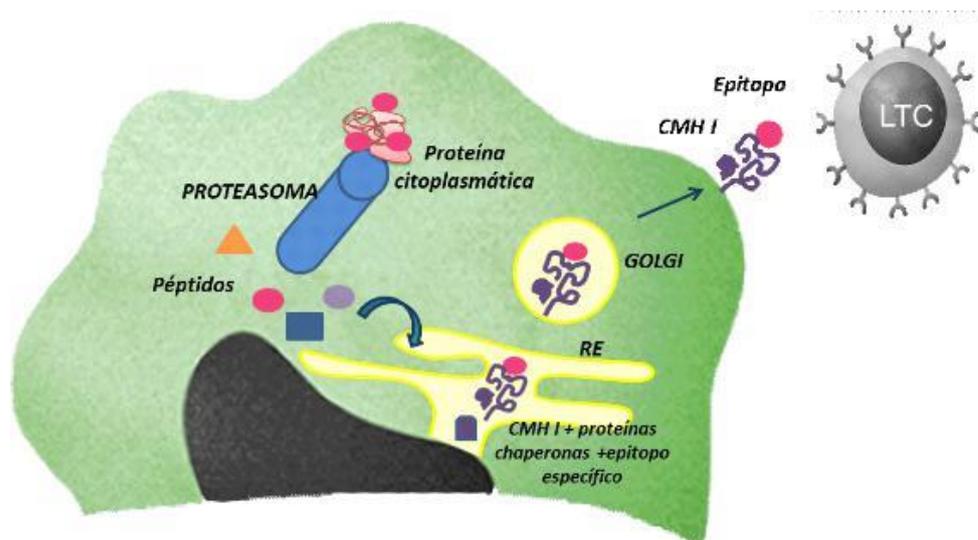
Nota. Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

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

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

Figura 5.6

Esquema de la vía de procesamiento endógena

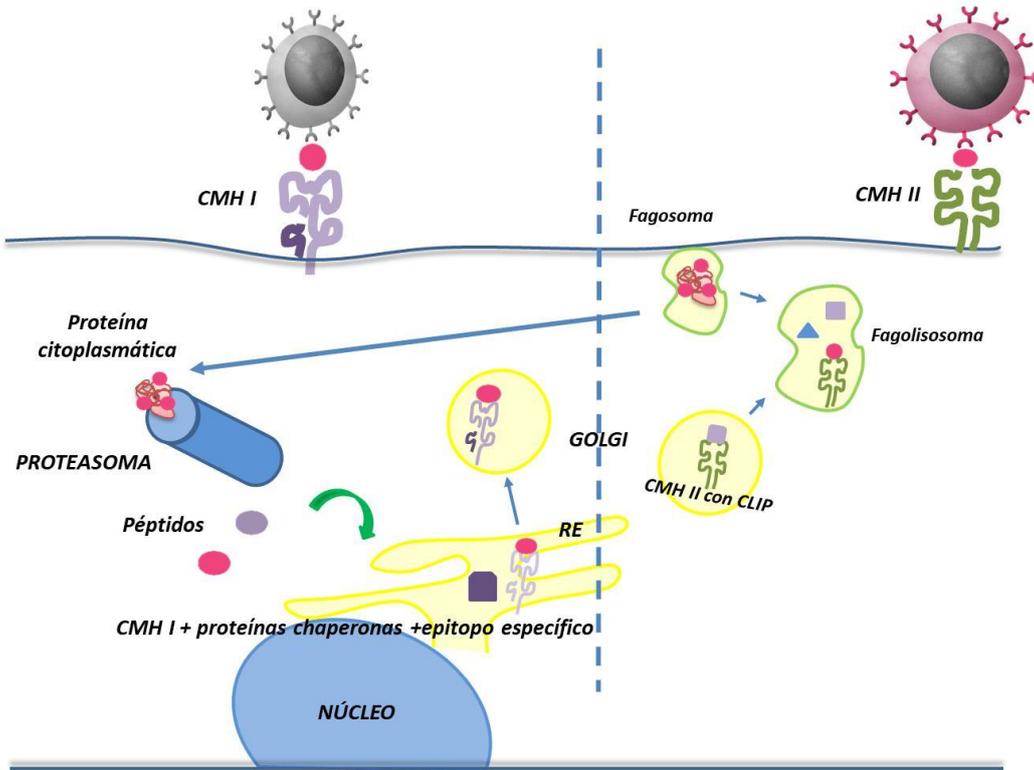


Nota. Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

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

Figura 5.7

Esquema del desarrollo de la vía cruzada en una célula dendrítica

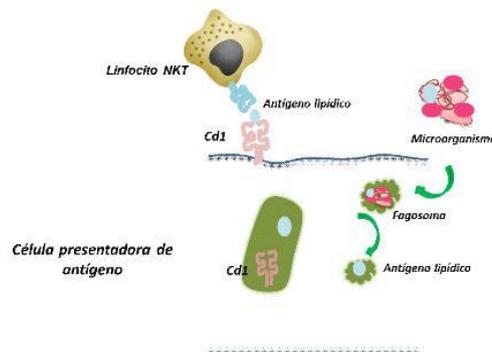


Nota. Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

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

Figura 5.8

Esquema del procesamiento por vía Cd1



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