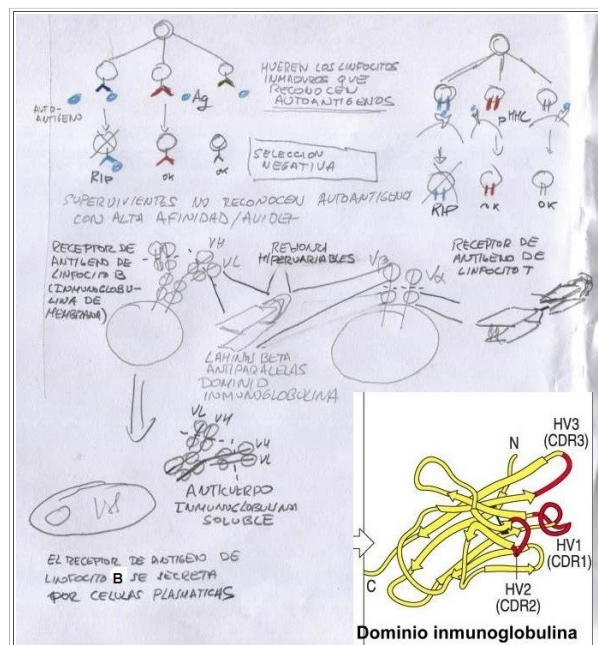


**Tema 5.** Sistema inmune innato y adaptativo (específico). Receptores con o sin distribución clonal. Antígeno y Receptor de antígeno de linfocitos T y B. **Receptor de antígeno de linfocito B.** Especificidad antigénica

- Receptores de sistema inmune específico: Receptor de antígeno de linfocitos T y B.
  - Características del receptor de antígeno de linfocito T y B.
    - Estructura del receptor de antígeno de linfocitos B y T presente en la membrana citoplásmica. Estructura cuaternaria.
      - Las cadenas que lo constituyen:
        - Están formadas por dominios tipo inmunoglobulina que pliegan de una manera característica
        - En cada una de las cadenas hay un dominio variable y uno o varios dominios constantes.
        - Los dominios variables son los que contactan con el antígeno.
          - Regiones **hipervariables** sin estructura secundaria definida
    - Generación de diversidad (diferentes secuencias de regiones variables)
      - Reordenamiento de segmentos V, (D) y J que forman dominio variable de las cadenas del receptor de antígeno de linfocito B para generar exón que codifica dominio variable.
      - Especificidad antigénica. Umbral de constante de afinidad
      - Reacción cruzada (utilizadas en vacunas)
      - Mecanismos de evasión de microorganismos (gripe)
    - Los anticuerpos como moléculas Bivalentes
      - Región Fc como región efectora.
    - Reconocimiento de antígenos por linfocitos T y B. Enlaces no covalentes
      - Reconocimiento de antígeno por linfocitos B
        - Reconocimiento de determinantes antigénicos (epítotos) conformacionales. Toxoides.
        - Respuesta policlonal
        - Especificidad frente a microorganismo, parte del microorganismo, epítoto/determinante antigénico.
        - Reconocimiento linfocito B frente a Anticuerpo. Debe llegar a ganglio. Partes de microorganismo, cuerpo apoptótico
        - Anticuerpo no siempre son útiles. Se generan anticuerpos contra lo que llegue a órganos linfocides secundarios y sea no propio (no presente en médula ósea).
        - Funciones efectoras de anticuerpos. Receptores Fc.



**Reconocimiento de microorganismos por parte de Sistema Inmune Especifico o adaptativo (linfocitos T o B).** Cada microorganismo es reconocido por un subgrupo de linfocitos T y B muy pequeño (1 de cada 100.000), que NO son capaces de interaccionar con otros microorganismos

**Receptores celulares.** Utilizan una ÚNICA molécula de membrana denominada receptor de Antígeno de linfocito T o B. **Como sus ligandos son enormemente variados**, sea creado la palabra **ANTÍGENO**, que es cualquier estructura capaz de ser reconocida por el receptor de antígeno de linfocito T o B.

\*Por ello cuando un linfocito interacciona con un microorganismo se dice que es **ESPECÍFICO contra él**

\*El receptor de Antígeno de Linfocito B es la inmunoglobulina de membrana compuestas por cuatro cadenas proteicas (dos pesadas y dos ligeras)

\*El receptor de antígeno de linfocito T está compuesta por sólo dos cadenas que atraviesan la membrana y nunca se secreta.

**Distribución de receptores.** Se dice que **SÍ** tienen **distribución clonal** dado que cada linfocito expresan receptores de secuencia diferentes (aunque con la misma estructura cuaternaria) y unen ligandos diferente (diferente especificidad antigénica). Al tener diferente secuencia pueden unirse a diferentes ligandos. Sin embargo la proliferación que tiene lugar tras el contacto con el antígeno, genera **clones de linfocitos** (progenie de una misma célula) con idéntica especificidad antigénica. Los genes de los receptores de linfocitos T y B sufren reordenamientos para generar diversidad (ver más adelante)

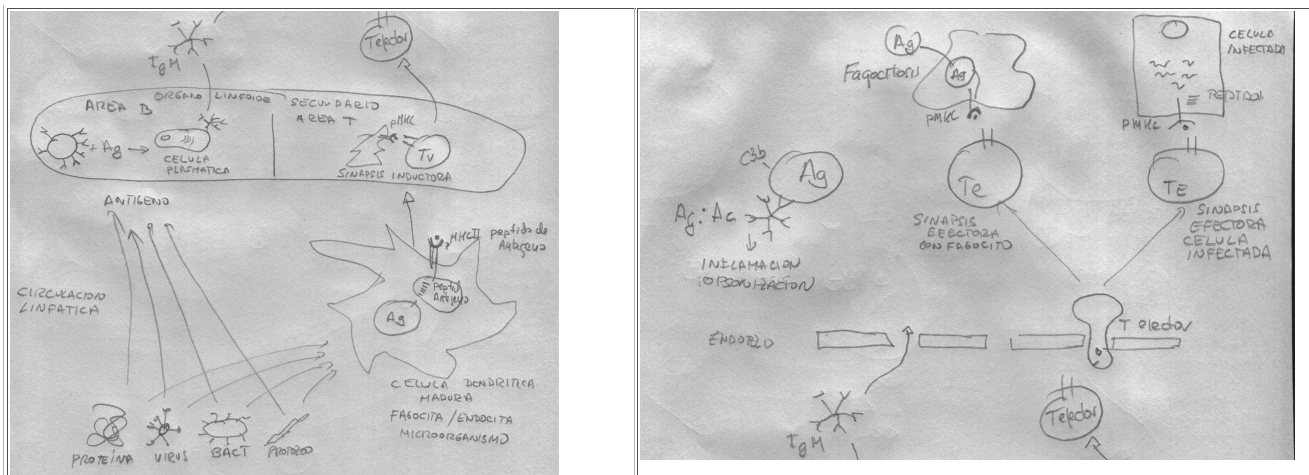
**Discriminación entre lo propio y extraño.** Se realiza durante ontogenia, los progenitores de linfocitos T y B que reconocen estructura propias (autorreactivos) mueren en un proceso denominado selección negativa. Por ello todos los linfocitos T y B no pueden reconocer estructuras propias, en caso contrario hubieran muerto durante su desarrollo.

**Domino tipo inmunoglobulina.** Todos los dominios del receptor de antígeno de linfocito T o de linfocito B pliegan de una forma idéntica, dos láminas beta unidas por lazos sin una estructura secundaria fija (ángulo inferior derecho)).

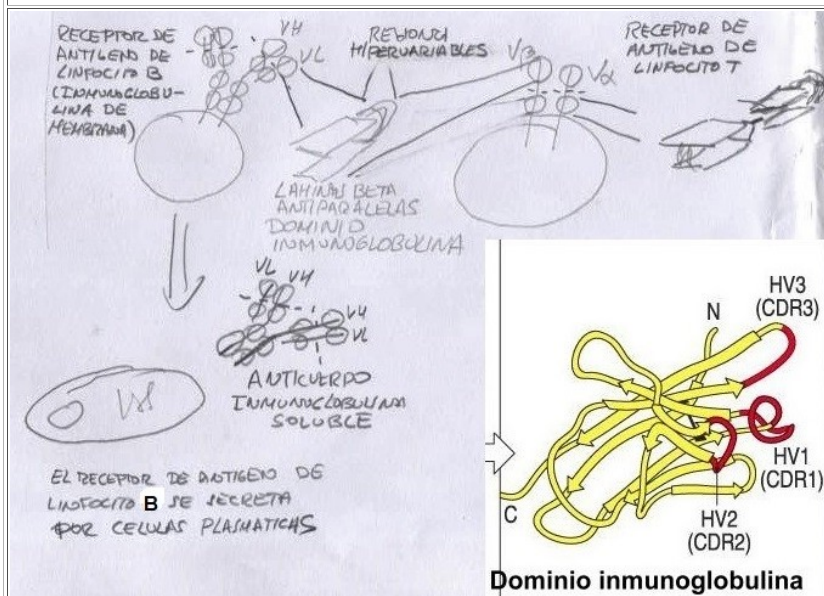
**El receptor de antígeno de linfocito B** está formado cuatro cadenas polipeptídicas iguales dos a dos (con un eje de simetría). Dos de ellas atraviesan la membrana y se denominan cadenas pesadas. Las otras dos son de menor tamaño, quedan unidas a las cadenas pesadas por puentes disulfuro y se denominan cadenas ligeras. A esta estructura compuesta por dos cadenas pesadas y dos ligeras se las denomina **INMUNOGLOBULINA**. (en este caso inmunoglobulina de membrana)

**El receptor de antígeno de linfocito T** está formado dos cadenas polipeptídicas (denominadas cadenas alfa y beta) no iguales entre sí y que atraviesan la membrana citoplásmica.

- Cuando el linfocito B contacta con su antígeno es capaz de secretar la inmunoglobulina de membrana, denominándose la inmunoglobulina secretada **Anticuerpo** o inmunoglobulina soluble. El receptor de antígeno de linfocito T NO se secreta.
- Cada uno de los círculos de esta representación gráfica es un dominio, codificado por un exón. Estos dominios tienen un plegamiento tridimensional especial que se denomina dominio tipo inmunoglobulina
  - Cada una de las cadenas polipeptídicas que forman el receptor de antígeno tienen un único dominio V (variable), pudiendo tener uno o varios dominios constantes (dominios C)
- Definiciones:
  - Linfocito B vírgen: Tiene inmunoglobulina en membrana. No secreta anticuerpos
  - Linfocito B memoria: No secreta Anticuerpos. Ig en membrana
  - Célula plasmática: No tiene Ig en membrana. Secreta anticuerpos.



- Los linfocitos T reconocen una estructura en la membrana de células que **están infectadas** (localizados en citosol o vesículas) o que **han fagocitado el microorganismo** (localizadas entonces en vesícula) denominado complejo pMHC. Los linfocitos T activados se convierten en células efectoras que **modifican a la célula con la que interaccionan** (la matan o la hacen ganar poder microbicida o la hacen secretar anticuerpos) o que secretan citoquinas y quimiocinas producido **INFLAMACIÓN**
- Los linfocitos B reconocen la superficie de microorganismos, toxinas, etc. Tanto la inmunoglobulina anclada a la membrana como la secretada son capaces de unirse a microorganismos en su fase extracelular. (Ver más abajo) . Los linfocitos B lo reconocen el antígeno en órganos linfoides secundarios. Los anticuerpos (Inmunoglobulina soluble) reconocen su antígeno fuera de ganglio linfático



Los aminoácidos de las regiones hipervariables de los dominios variables de cadena pesada y ligera (linfocitos B), o de la cadena alfa y beta del receptor de linfocito T hacen enlaces no covalentes con el antígeno microbiano (linfocito B) o con complejos pMHC en donde el péptido proviene del microorganismo

Tal y como ya se ha señalado, el receptor de antígeno de linfocito B (inmunoglobulina de membrana)/anticuerpo tiene diferente secuencia en diferentes linfocitos B y por ello es capaz de unir diferentes antígenos.

**La variabilidad (diferencias en secuencia) NO está distribuido uniformemente a lo largo de la cadena pesada y ligera, sino que se limita al DOMINIO VARIABLE, de las cadenas polipeptídicas del receptor de antígeno.**

**Estructura inmunoglobulinas**

Los anticuerpos secretados se deben considerar como moléculas bivalentes, con una región de contacto con el antígeno o de reconocimiento (Región Fab), y otra funcional, dado que facilita interacción con células fagocíticas (fagocitosis mediada por anticuerpo) o células NK (citotoxicidad mediada por anticuerpo, ADCC), transporte a través de placenta o la activación de complemento que se llama Región Fc.

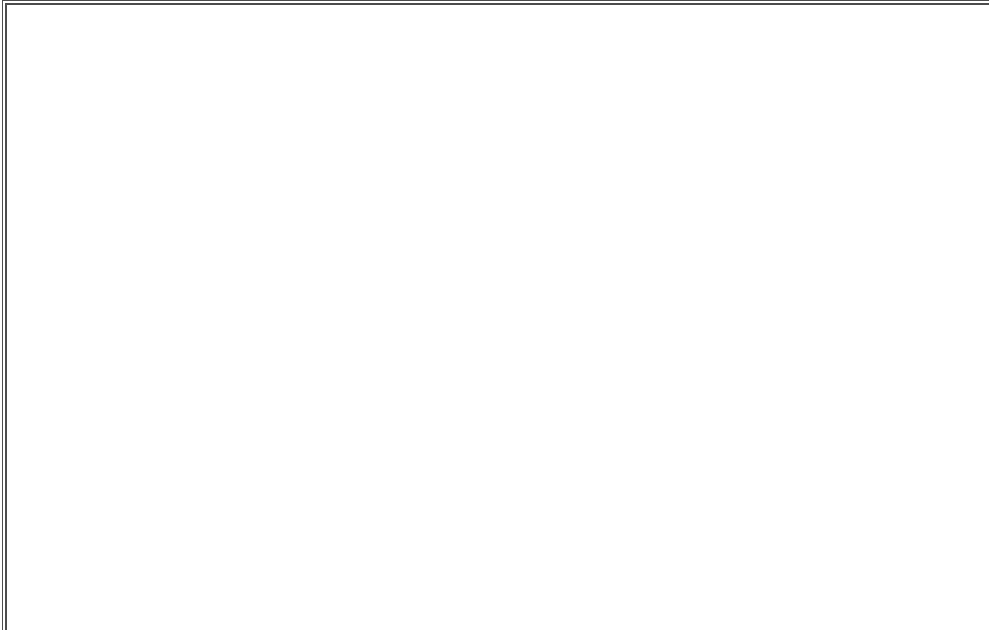
- En esta animación se describen las regiones constantes y variables de la cadena pesada y ligera de inmunoglobulina. [http://www.roitt.com/animationcore.asp?core=coretut/flash/1\\_EM0301NEW](http://www.roitt.com/animationcore.asp?core=coretut/flash/1_EM0301NEW)
- En esta animación se esquematiza dicotomía de anticuerpos. [http://www.roitt.com/animationcore.asp?core=coretut/flash/1\\_EM0308NEW](http://www.roitt.com/animationcore.asp?core=coretut/flash/1_EM0308NEW)
- En esta animación se pone de relieve cuales son los dominios constantes que intervienen en esta función efectora
- **Dominio variable y regiones hipervariables.** La variabilidad en la secuencia de estos receptores (lo que le permite interaccionar con diferentes antígenos) se acumula en el dominio variable, y dentro de este dominio, a los aminoácidos localizados en regiones sin estructura secundaria definida, que forma bucles y a los que se denominan **regiones Hipervariables (HV) o CDR.** En cada dominio variable hay **3 o 4 regiones hipervariables**. Ello también ocurre en las cadenas que forman el receptor de antígeno de linfocito T.



- Se denomina **inmunoglobulina** a la molécula formada por dos cadenas pesadas (idénticas entre sí) y dos ligeras (idénticas entre sí).
- Los **linfocitos B son las únicas células del organismo que expresan inmunoglobulina en su membrana (BCR o receptor de linfocito B)** gracias a que la cadena pesada tiene una región transmembranos e intracitoplasmática y a que las células progenitoras de linfocitos B son las únicas que expresan las enzimas necesarias para el reordenamiento VDJ o VJ (Enzimas RAG con factores de transcripción de estirpe B)
- Si se secreta se denomina anticuerpo.
- Los dominios reordenados se denominan dominios variable de cadena pesada (VH) y dominio variable de cadena ligera (VL)
- Hay donios que en línea germinal están codificados por exones convencionales (presentes en cigoto) que se denominan dominios C. La cadena ligera tiene único dominio denominado CL, y la cadena pesada varios, que se denominan CH1, CH2, CH3 y a veces hay un exón/dominio extra denominado CH4
- Hay células que no son linfocitos B, que pueden tener unida INDIRECTAMENTE a su membrana anticuerpos. Ello se hace dado que hay células que tiene receptores para la región Fc de determinados isotipos. Esta Inmunoglobulina NO está producida por estas células, sino que las captan del espacio extracelular

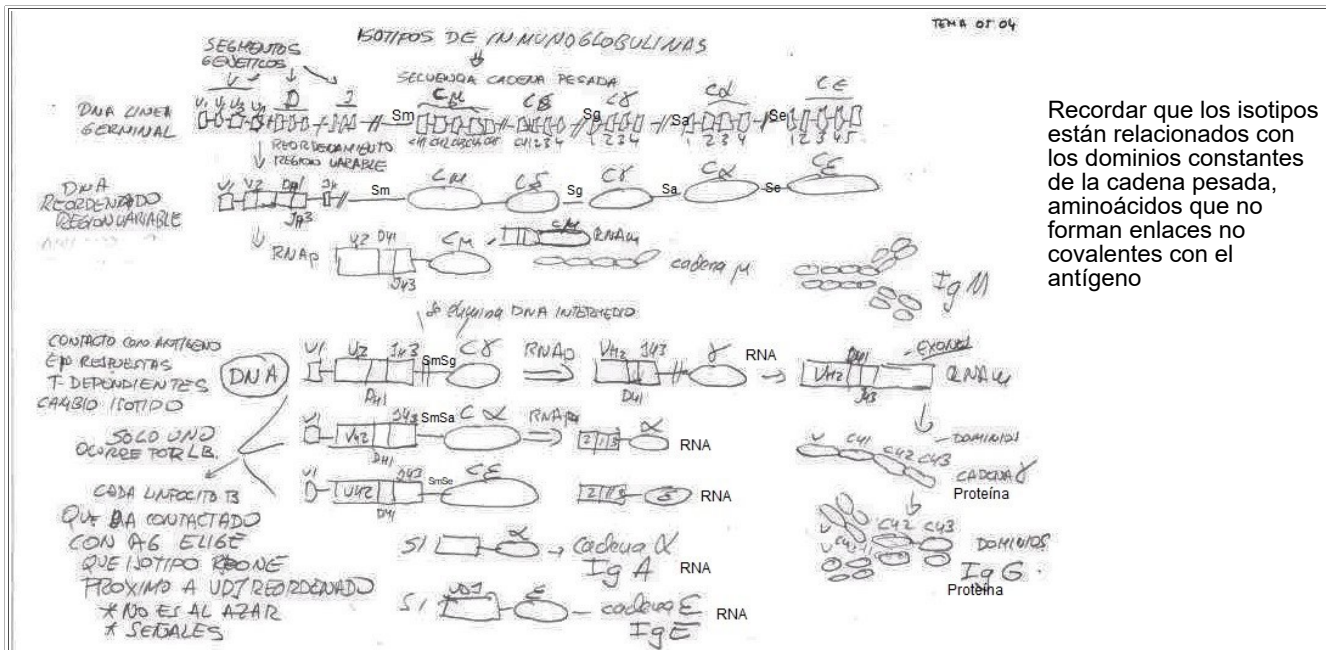
Cuando una inmunoglobulina se ha secretado (anticuerpo), los dominios constantes quedan expuestos al entorno, y le permite interactuar con otras moléculas. Ello no ocurre cuando permanecen unidos a la membrana en linfocitos B vírgenes o B memoria.. Los anticuerpos (Ig soluble) son moléculas divalentes. Las regiones funcionales (Fab y Fc) se pueden obtener al romper la molécula de anticuerpo soluble con papaina. Las regiones de la molécula de inmunoglobulina íntegra toman nombre de la de su fragmentos cuando se rompen por papaina. **La región Fab es la que contacta con el antígeno (dominos VH y VL) y la región Fc es la responsable de la unión a receptores de inmunoglobulinas o a la activación de complemento**, a veces tras sufrir un cambio conformacional secundario a la unión antígeno:anticuerpo.

Dominio VH	Está en región Fab. <b>Contacta con el antígeno.</b> Requiere reordenamiento segmentos geneticos para traducirse. <b>Formada por segmentos VDJ</b>
Dominio CH1	Está en región Fab. No contacta con el antígeno. El exón que lo codifica no se reordena
Dominio VL	Está en Región Fab. <b>Contacta con el antígeno.</b> Requiere reordenamiento segmentos geneticos para traducirse. <b>Formada por segmentos VJ</b>
Dominio CL	En región Fab. No contacta con el antígeno. El exón que lo codifica no se reordena
Dominios CH2, CH3 /CH4)	En región Fc. No contactan con el antígeno. Zona de unión a C1q y receptores Fc. Los exones que lo codifican no se reordenan



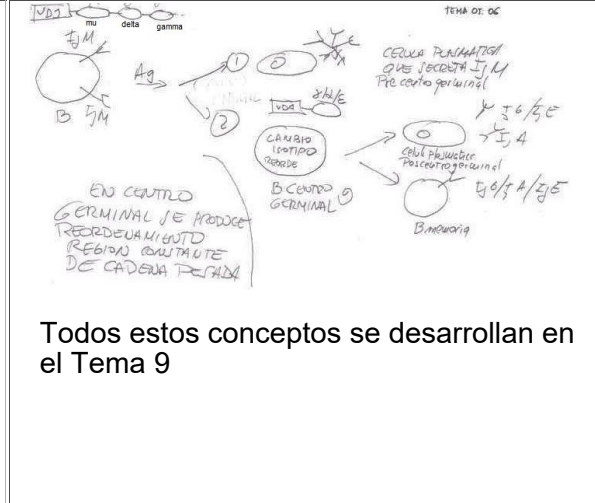
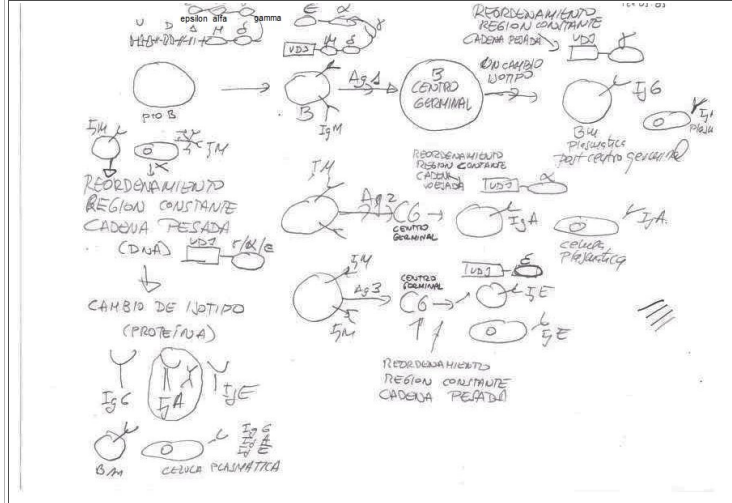
Reordenamiento del receptor de antígeno de linfocito T alfa,beta. Se tiene que crear los exones que codifiquen los dominios aminoterminales uniendo un segmento V con un segmento J (cadena alfa) o un segmento V con un D y un J en el caso de la cadena beta del receptor de antígeno. Así se generan linfocitos con [distinta secuencia en su receptor de antígeno](#), con distinta afinidad antigénica capaz de reconocer diferentes ligandos

Las regiones hipervariables están codificados en las zonas DJ (CDR3) y en dos regiones codificados en el segmento V (CDR1 y CDR2). [Ejemplo en linfocitos T](#)



Recordar que los isotipos están relacionados con los dominios constantes de la cadena pesada, aminoácidos que no forman enlaces no covalentes con el antígeno

Como veremos a lo largo del curso la región cromosómica que codifica la cadena pesada de inmunoglobulina es muy compleja, y hay información para diferentes dominios constantes de cadena pesada que forman los denominados **isotipos** de inmunoglobulinas. El proceso se hace por un proceso de reordenamiento del DNA que NO es cabeza con cola, sino en regiones intrónicas, poniendo haguas abajo del neoexón V(D) diferentes regiones que codifican los exones de los dominios variables. Por ello el cambio de isotipo NO cambia la especificidad antigénica ya que sólo afecta a las regiones de DNA que codifican regiones constantes de la cadena pesada. Cada isotipo de inmunoglobulina se puede unir a Receptores Fc distintos expresados en un subgrupo de células del sistema inmune.



Todos estos conceptos se desarrollan en el Tema 9

A diferencia de lo que ocurre en otras representaciones, en este caso los rectángulos denominados C no son exones, sino un conjunto de exones que NO se reordenan y que dan lugar a los dominios constantes de cadena PESADA. El concepto de **isotipo** radica en la secuencia de los dominios constantes de cadena pesada. En el tema 9 estudiaremos con detalle como se produce el cambio de isotipo, dado que en médula ósea los linfocitos B expresan en membrana IgM.

Exones dominio constante	Cμ1, Cμ2, Cμ3, Cμ4	Cδ1, Cδ2, Cδ3	Cγ1, Cγ2, Cγ3	Cε1, Cε2, Cε3, Cε4	Cα1, Cα2, Cα3	Cκ	Cλ
Proteína cadena pesada o Ligera con VH o VL	mu	delta	gamma	epsilon	alfa	Kappa	Lambda
Pesada + Ligera	IgM	IgD	IgG	IgE	IgA	IgM, IgD, IgG, IgE, IgA	IgM, IgD, IgG, IgE, IgA
						Depende de cadena pesada a la que se una.	

**Y + Ag  $\rightleftharpoons$  Y<sub>Ag</sub>**

**Ab + Ag  $\rightleftharpoons$  Ab<sub>Ag</sub>**

Probabilidad de que una Ac/B se una a un Ag con  $K_D > 10^5 M^{-1} \approx 1/100.000$

Si el Ac es  $\alpha Ag_1 - K_D > 10^5 M^{-1}$   
 Si el Ac interactúa con Ag<sub>2</sub> con  $K_D < 10^5 M^{-1}$   
 NO ES ANTI- $Ag_2$   
 NO ES ESPECÍFICO FRENTE A  $Ag_2$   
 SE PUEDE UNIR  $\rightarrow$  NO REPERTECION AL UNO

**ENLACES NO COVALENTES ENTRE Ag y Ac**

**RESIDUOS QUE HACEN ENLACES SON AC, POR TANTO EN EL ANTÍGENO**

**RESIDUOS DE VH y VL NO INTERACTÚAN EN DOMINIOS NO COVALENTES CON Ag**

**ESPECIFICIDAD**

FRECUENCIA DE LINFOCITOS B ESPECÍFICOS FRENTE A UN Ag = 1/100.000

SOLO POSIBLE EN ORGANISMO CON 100.000 CELULAS

**EPÍTOPO** = 6 de los dominios DETERMINANTE ANTIGÉNICO

A este AREA se le denomina EPÍTOPO A

Ac1  $\neq$  Ac2  
 Ambos  $\alpha$  Ag<sub>1</sub>  
 Diferente secuencia de VH, VL  
 Diferente secuencia Epítopo A y epítopo B

**RESPUESTA POLICLONAL**

EPÍTOPO A (residuos 118, 119, 120, 121, 124, 125)

EPÍTOPO B (residuos 18, 19, 22, 24, 27)

AA 18, 19, 20, 21, 24, 25 - B<sub>1</sub> (con VL)  
 18, 19, 22, 24, 27 - B<sub>2</sub> (con VH)

**EPÍTOPO CONFORMACIONAL**  
 SOLO EN ESTRUCTURA NATURAL  
 LOS AA ESTÁN PROXIMOS EN EL ESPACIO

El reconocimiento del antígeno por los dominios VH y VL de la inmunoglobulina se hace por enlaces no covalentes.

**ZONA DE INTERACCIÓN ANTÍGENO: ANTICUERPO/BCR**

La interacción con el antígeno es **no covalente** en ambos casos (Linfocitos B y T). En esta figura se muestra la interacción entre un **fragmento Fab** de inmunoglobulina soluble (compuesto por dos dominios variables (VH y VL) y dos constantes (CL y CH) y lisozima.

- Intervienen en unión a antígeno **ambos dominios variables VH y VL**
  - o Ello aumenta diversidad total ya que inmunoglobulinas con mismo dominio variable de cadena pesada pero distinto dominio variable de cadena ligera tienen diferente especificidad antigénica y a la inversa
  - o **Regiones Hipervariables (HV) o CDR**. En cada dominio variable hay **3 o 4 regiones hipervariables**. Ello también ocurre en las cadenas que forman el receptor de antígeno de linfocito T.
- LA ZONA DE CONTACTO CON EL ANTÍGENO ES DE PEQUEÑO TAMAÑO. Ello hace que un antígeno pueda ser reconocido por varios anticuerpos que reconozcan diferentes regiones (**epítopos o determinantes antigénicos**).
- En linfocitos T ocurre algo semejante. Ver más adelante

**Especificidad Antigénica.** Experimentalmente se ha comprobado que sólo 1 de cada 50.000-100.000 linfocitos B o T es capaz de contactar con un determinado microorganismo con afinidad suficiente para cumplir funciones efectoras ( $10^5 M^{-1}$ ). Cuando interacciona con **afinidad superior a este umbral se considera que el linfocito es específico para ese antígeno**. Es muy poco probable que un determinado linfocito T o B contacte con su antígeno específico

**SEROTIPOS COMO MECANISMO ESCAPE DE MICROORGANISMOS**

**BACTERIAS**

AC OBTIENEN BACTERIA  $\rightarrow$  FAGOCITOSIS  
 SE UNEN A Ag EN SUPERFICIE BACTERIA  
 EN BACTERIAS CON CAPSULA  $\rightarrow$  EPÍTOPO EN CAPSULA DE POLISACÁRIDOS

DIA 0: Bacteria (Bac1) con Ag en superficie.

DIA 7: Fagocitosis mediada por complemento.

DIA 14: Fagocitosis mediada por anticuerpos (REF).

DIA 30: Anticuerpos anti-Bac-1 serotipo 2. Buremia anti-Ba 1 serotipo 1. Protección frente a re-infección por Bac-1 serotipo 1.

DIA 200: Infección por Bac-1 pero con una secuencia de HLA diferente  $\rightarrow$  serotipo 2. Replicación bacteria serotipo 2 en presencia de anticuerpos anti-Bac-1 serotipo 1. Requiere cambios en epítopos. Gran cambio en afinidad.

Ac proteínas anti-Bac1

Ac proteínas anti-Bac1

$K_D > 10^5 M^{-1}$

$K_D < 10^5 M^{-1}$

La existencia de serotipos hace que nos podamos re-infectar con un mismo microorganismo varias veces aún cuando hemos hecho una adecuada respuesta inmune y generación de memoria

Las vacunas frente a estos microorganismos contienen varios serotipos (neumococo) para así estar protegido con la vacunación frente a los principales serotipos circulantes o los implicados en transformación tumoral como es en la vacuna de papiloma virus

Los anticuerpos son capaces de **distinguir cambios muy sutiles, que alteran de forma dramática la constante de afinidad**. Por ello a esta inmunidad se le denomina específica.

Se muestra el cambio de una anticuerpo que se une a su antígeno específico pero NO con los antígenos semejantes (analizar cada fila), o lo hace con una afinidad menor de  $10^5 M^{-1}$ . Este experimento demuestra el concepto de especificidad antigénica.

Los anticuerpos secretados se deben considerar como **moléculas bivalentes**, con una región de contacto con el antígeno o de reconocimiento, y otra funcional, dado que facilita interacción con células fagocíticas (fagocitosis mediada por anticuerpo) o células NK (citotoxicidad mediada por anticuerpo, ADCC), transporte a través de placenta o la activación de complemento.

La presencia de dos zonas de contacto con el antígeno puede formar inmunocomplejos de gran tamaño que si no son captados por eritrocitos pueden precipitar en vasos provocando inflamación por activación de complemento

Respuesta policlonal mejora avidez de la interacción antígeno:anticuerpo y optimiza respuesta a antígenos solubles

Los dominios constantes sufren un cambio conformacional cuando los dominios variables de cadena pesada y ligera contactan con el antígeno, y les permite ejecutar funciones efectoras. al interactuar con :

- C1q. Activación del complemento por vía clásica
- Receptores Fc, presentes en numerosas células del organismo. Las funciones que despierta la interacción Región Fc con Receptor Fc son variables, dependiendo del tipo de célula y del tipo de receptor.

	Fc-gamma RI CD64	Fc-gamma RIIA CD32	Fc-gamma RIIB CD32	Fc-gamma RIIC CD16	Fc-epsilon RI	Fc-alfa R1
Isotipos que une por región Fc	IgG	IgG	IgG	IgG	IgE	IgA
Estirpe celular que lo expresa	Macrófagos Neutrófilos Eosinófilos Dendríticas	Macrófagos Neutrófilos Eosinófilos Plaquetas	Mastocitos Células B	Células NK Eosinófilos Macrófagos Neutrófilos Mastocitos Células dendríticas foliculares (FDCs)	Mastocitos Basófilos Eosinófilos FDCs	Macrófagos Neutrófilos Eosinófilos
Consecuencias de la Unión Ac-FcR	Fagocitosis Estallido respiratorio Degranulación	Fagocitosis Degranulación	NO fagocitosis Inhibición de señales de otros receptores	Citotoxicidad medida por anticuerpos (ADCC) en células NK	Secreción de gránulos en mastocitos y basófilos ADCC en eosinófilos	Fagocitosis
Función activadora o inhibidora	Activadora	Activadora	INHIBIDORA	Activadora	Activadora	Activadora

Consecuencias de la interacción Fc:RfC si ha habido interacción Ag:Ac de alta afinidad. Hay que tener en cuenta que hay Varios receptores Fc (CD64, CD32, CD16, CD89, etc), y que NO todas las células expresan TODOS los receptores, sino sólo algunos. Además los diferentes receptores Fc pueden tener funciones diferentes.

- Fagocitosis: Ocurre en **células fagocíticas**
- Aumento poder microbicida (estallido respiratorio)
- Secreción de gránulos: **Eosinófilos**
- **Inhibición de la activación celular:** Ocurre en células no fagocíticas como **linfocitos B** y mastocitos. Lo veremos en otro capítulo posterior.
- Citotoxicidad mediada por anticuerpos: Ocurre en **células NK** (células no fagocíticas) al poseer estas células el receptor Fc CD16, no presente en células fagocíticas como macrófagos

*MEM. 01 04*

$Y + Ag \rightleftharpoons Y \cdot Ag$

$K_A = \frac{[Y \cdot Ag]}{[Y][Ag]}$

Si  $K_A > 10^5 M^{-1}$  ( $10^6 - 10^8$ )  $\rightarrow$  ESPECIFICO

Si  $K_A < 10^5 M^{-1}$  ( $10^4, 10^3$  etc)  $\rightarrow$  NO ESPECIFICO

**ESPECIFICIDAD**

FRECUENCIA DE LINFOCITOS B ESPECIFICOS FRENTE A UNO Ag  $\approx 1/100.000$

$\rightarrow$  SOLO POSIBLE EN ORGANISMO LINFOCITOS  $\approx 100.000$  CÉLULAS

**EPITOPLO**  $\rightarrow$  4-6 de los devolvias DETERMINANTE ANTIGENICO

PROBABILIDAD DE QUE UNA AC/B SE UNIA A UNO Ag con  $K_A > 10^5 M^{-1} \approx 1/100.000$

Si el Ac es  $\alpha Ag_1 \beta - K_A > 10^5 M^{-1}$

Si el Ac  $\beta$  interactúa con  $Ag_2$  con  $K_A < 10^5 M^{-1}$

NO ES ANTI- $Ag_2$

NO ES ESPECIFICO FRENTE  $Ag_2$

SE PUEDE UNIR  $\rightarrow$  NO REPERCUSSION EN UNO

ENLACES NO COVALENTES ENTRE Ag y AC

RESIDUOS QUE HACEN ENLACES CON AC, POR TANTO EN EL ANTIGENO

RESIDUOS DE VH y VL NO TERCEROS EN UNIDADES NO ASUALENTES CON Ag

A este AREA se le devolvias EPITOPLO A

Ac1  $\alpha$  Ac2

Ambos  $\alpha Ag_1$

Diferente secuencia Cx VH y VL

Diferente secuencia Epitopo A y epitopo B

**RESPUESTA POLICLONAL**

EPITOPLO A B C D

Ag1

Ag2

AA 18,19,22,24,27-8/10 con VL

18,19,22,24,27-8/10 con VH

**EPITOPLO CONFORMACIONAL**

SOLO EN ESTRUCTURA NATIVA

LOS AA ESTAN PROXIMOS EN EL ESPACIO

SI UN ANTICUERPO DE UNO A DOS ANTIGENOS DIFERENTES CON AFINIDAD SIEMPRE SE DICE QUE HAY REACCION CRUZADA ENTRE ANTIGENOS

EL AC DA REACCION CRUZADA

¿Cuándo se dice que el anticuerpo o el linfocito B es específico frente a un antígeno? **ESPECIFICIDAD ANTIGÉNICA**

- Depende de la afinidad por el antígeno. Se decide un umbral mínimo. A partir de ese umbral la interacción con el antígeno tiene consecuencias fisiológicas
  - Linfocito B: Se convierte en célula plasmática
  - Anticuerpo. Puede unirse al antígeno en condiciones fisiológicas y tiene funciones antimicrobianas.
- A veces se habla de avidez si varios anticuerpos se unen al mismo antígeno. Cooperan unos con otros y aumentan probabilidad de interacción estable. No ocurre en





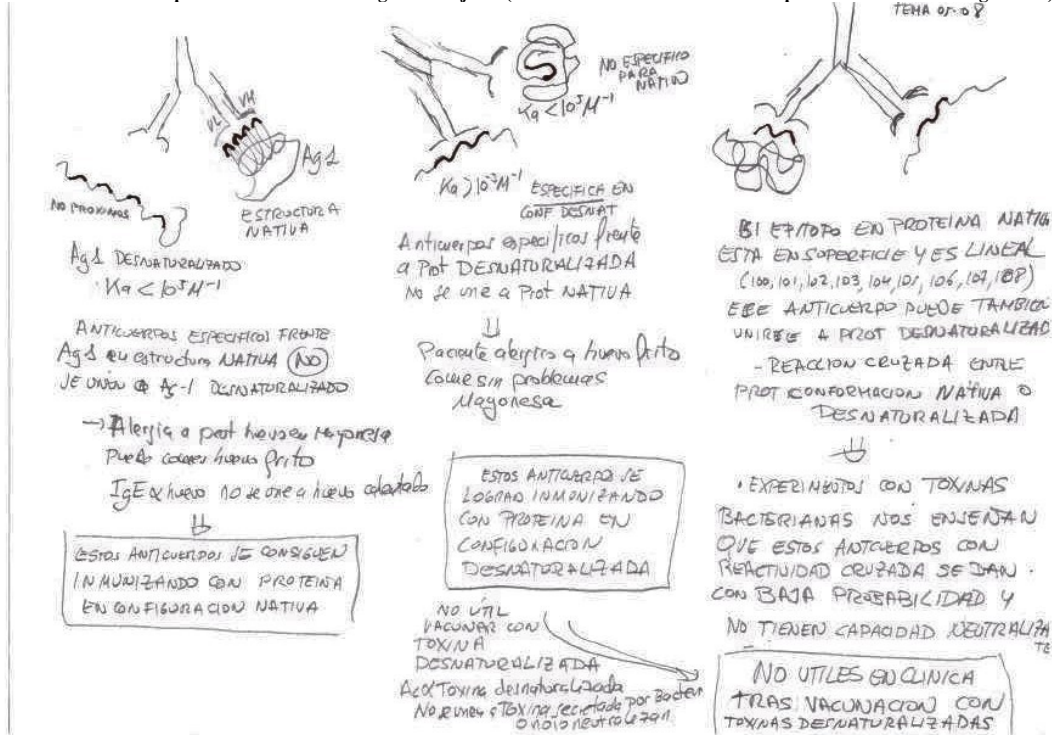
Muy útil reconocimiento que una célula está infectada.

La interacción entre el receptor de antígeno de linfocito T o B con el antígeno es NO COVALENTE. [http://www.roitt.com/animationcore.asp?core=coretut/flash1\\_EM0503NEW](http://www.roitt.com/animationcore.asp?core=coretut/flash1_EM0503NEW)

AMBAS RAMAS SISTEMA INMUNE SON COMPLEMENTARIOS Y NO REDUNDANTES.

- LINFOCITOS T NO RECONOCEN MOLÉCULAS ÍNTEGRAS, SÓLO RECONOCEN COMPLEJOS pMHC
- LINFOCITOS B RECONOCEN MOLÉCULAS ÍNTEGRAS y NO RECONOCEN COMPLEJOS pMHC (hay una excepción que son los anticuerpos contra aloantígenos HLA en trasplantes, pero reconocen epítomos alejados de la zona de contacto con el péptido).

**RECONOCIMIENTO DE ANTÍGENO POR PARTE DE LINFOCITOS B/Ac.** Los linfocitos B<sub>v</sub> y B<sub>m</sub> contactan con el antígeno en ganglio linfático. Por el contrario los anticuerpos contactan con el antígeno en tejidos (zona de invasión donde se está reproduciendo el microorganismo)



Lo más frecuente es que los epítomos se **PIERDEN** durante la desnaturalización (no hay reacción cruzada). Menos del 10% de los anticuerpos reconocen determinantes lineales presentes en la proteína desnaturalizada y en la nativa.

Por ello **los anticuerpos producidos al inmunizar un animal con una proteína desnaturalizada pueden no reconocer la proteína nativa**. Este aspecto es muy relevante en vacunaciones, en donde **NO** se pueden utilizar toxinas desnaturalizadas como vacunas, dado que **no se generan anticuerpos que reconozcan la proteína nativa**. Aunque algunos se pueden generar, lo habitual es que **NO tengan capacidad neutralizante**.

Sin embargo hay ejemplos de existencia de proteínas desnaturalizadas con los que podemos tener contacto: la comida cocinada. Hay personas que hacen anticuerpos contra ovoalbúmina (presente en el huevo) que les impide ingerir comidas que contengan huevo no cocinado (mahonesa) ya que tienen anticuerpos contra ovoalbúmina. Sin embargo algunos de estos pacientes sí pueden ingerir huevos cocinados, en forma de tortilla, huevos fritos, etc, dado que los anticuerpos no reconocen ovoalbúmina desnaturalizada (son específicos frente a determinantes conformacionales).

Los aminoácidos presentes en el antígeno con los que los linfocitos presentes en los anticuerpos establecen enlaces NO covalentes se denominan **epítomos o DETERMINANTES ANTIGÉNICOS**. Estos epítomos se encuentran en la superficie de la estructura reconocida, sea esta un microorganismo o una proteína.

- El epítomo (determinante antigénico) se define como el conjunto de aminoácidos con los que el receptor de antígeno establece enlaces **No covalentes**. El epítomo está en el ANTÍGENO. Estos aminoácidos deben estar próximos en el espacio aunque estén alejados en la secuencia. Por ello se denominan **epítomos conformacionales**. Dependen de la conformación. Los números representan la posición en la secuencia de lisozima de los aminoácidos que forman el epítomo. Los colores representan si el enlace no covalente se realiza con aminoácidos presentes en VH o VL.
- El tamaño de un epítomo es de unos 10 aminoácidos
- A veces el epítomo puede ser **lineal** (aminoácidos que la forma están contiguos en el espacio)
- Los aminoácidos presentes en la cadena pesada y ligera que hacen enlaces no covalentes con el antígeno se denomina paratopo y puede ser reconocido por anticuerpos **anti-idiotípicos**, anticuerpos que reconocen como un antígeno el paratopo.
- Animación Roit epítomos conformacionales

**Epitopo S** → Varia en serotipos  
Epitopo C → Menos variables

**Epitopo Sa**  
Zona de interacción con el receptor de la célula diana.

Regiones variables de la proteína y que no son la misma en todos los virus y no se parecen a las de las proteínas de la célula diana.  
→ Durante la infección crítica

**HEMAGLUTININA**

Hemaglutinina  
Nucleocapsid  
Envoltura

**05.11**

NO CELULAR / INFECTADA

- EPÍTOPOS QUE INDUCEN EL DOMINIO ALÓFÉRICO E IMPIDEN LA UNIÓN DE HA A SU RECEPTOR EN LA CÉLULA DIANA → IMPIDEN INTERACCIÓN Y UNIÓN DEL VIRUS A LA CÉLULA

- EPÍTOPOS VALEJADOS DE ZONA DE INTERACCIÓN Y QUE NO DEBERÍAN IMPIDIR EL DOMINIO ALÓFÉRICO → DIFÍCIL PREDECIR CAMBIO CONFORMACIONAL?

HAY CÉLULAS INFECTADAS

- EPÍTOPOS LEJOS DE ZONA DE INTERACCIÓN CON RECEPTOR EN HA

- DIRIGIDOS CONTRA PROTEÍNAS VIRALES QUE NO INTERVIENEN EN LA UNIÓN A LA CÉLULA DIANA → NUCLEOPROTEÍNAS

En SARS-Cov2 los anticuerpos neutralizantes reconocen el dominio RBD (receptor binding domain) de la proteína S, (spike) que es el dominio que se une al receptor celular ACE2. Se han descrito al menos cuatro epítomos en el dominio RBD capaces de neutralizar la infección celular. Aunque la proteína S tiene otros dominios, no se generan contra ellos anticuerpos con capacidad neutralizante (aunque hay excepciones).

Sars-Cov2 no tiene serotipos sino linajes/variantes en donde han mutado aminoácidos del dominio RBD y que forman parte de los epítomos reconocidos por anticuerpos neutralizantes. Ello supone una amenaza y un motivo de preocupación que hace necesario hacer un seguimiento muy riguroso de esas variantes y de su distribución en la población

El pequeño tamaño de los epítomos reconocidos por linfocitos B (10 aminoácidos) hace que una proteína con Hemaglutinina del virus de la gripe pueda tener varios epítomos no solapantes. Normalmente durante la respuesta inmune existe una respuesta frente a todos ellos, por ello se denomina **policlonal**.

**Neutralización** implica evitar que la **toxina o un virus pueda intraccionar con su receptor en una célula diana**. La toxina o el virus neutralizados serán fagocitados y destruidos por células fagocíticas al estar opsonizados. La generación de anticuerpos neutralizantes tiene una enorme importancia, y su concentración se ha [corelacionado con protección frente a la infección o patología si alcanza una determinada concentración.](#)

**ESPECIFICIDAD ANTIGÉNICA:**

Al definir la especificidad de un determinado anticuerpo se debe especificar TRES posibles escalones: microorganismo al que se une, estructura a la que se une dentro del microorganismo, epítomo reconocido.

Ejemplo. Descripción de la especificidad antigénica de un anticuerpo que se une a epítomo Cb:

- Anticuerpo específico frente al virus de la gripe
- Ac específico frente a Hemaglutinina
- Ac Específico frente a epítomo Sb (no se suele saber)
- La estructura de las inmunoglobulinas permite el contacto **con dos moléculas de un mismo antígeno** a la vez
- Animación sobre ventajas de **policlonalidad**
  - [http://www.roitt.com/animationcore.asp?core=/coretut/flash/I\\_EM0504NEW](http://www.roitt.com/animationcore.asp?core=/coretut/flash/I_EM0504NEW)

**NO TODOS LOS ANTICUERPOS ANTI-HA TIENEN CAPACIDAD NEUTRALIZANTE**  
Células B reconocen:

	Microorganismo	Fragmentos/Partes de microorganismos	Cuerpos apoptóticos	Célula infectadas con proteínas virales en membrana.
Llega a ganglio	SÍ	SÍ	SÍ	NO
Anticuerpos pueden unirse a:	SÍ	SÍ	SÍ. Sin relevancia	SÍ

No todos los anticuerpos generados contra proteínas de membrana de los virus tienen capacidad neutralizante. De todas maneras estos anticuerpos pueden ser útiles ya que facilitan fagocitosis y ADCC.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25341782>  
Hay anticuerpos que se unen a proteínas virales de superficie pero no tienen capacidad neutralizante. NO impiden la infección de células aunque el virus haya unido anticuerpos. Se han descrito los epítomos que neutralizan la infección del virus VIH. Se aprecia como son cuatro epítomos que reconocen zonas muy distintas de la proteína viral (en realidad es un complejo formado por 3 moléculas de gp41 y tres de gp120. A veces es difícil predecir si la unión de un anticuerpo a un determinado epítomo va o no a tener capacidad neutralizante.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27959740>  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16498452>

A veces no es fácil generar anticuerpos con capacidad neutralizante. Las razones son muy variadas, que esa proteína viral aún estando en la superficie no sea utilizada por el virus para infectar (hay más de una proteína en la superficie del virus), porque los epítomos utilizados por el virus para infectar quedan ocultos (por conformación, glicosilación, interacción con otras proteínas virales, etc). En esta gráfica se introduce el concepto de Inmunogenicidad de las superficies virales.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21219187>

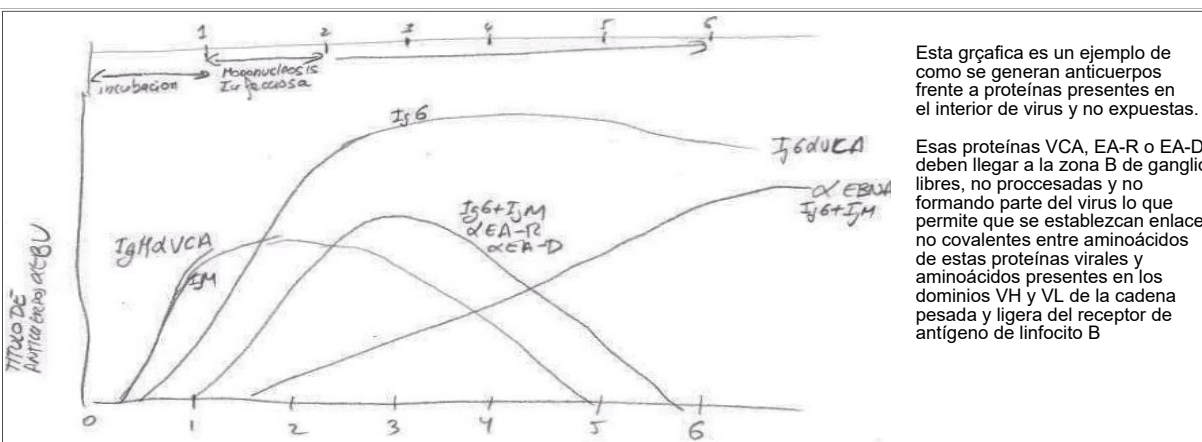
Incluso los anticuerpos no neutralizantes pueden ser perjudiciales, si facilitan la fagocitosis de microorganismos que sean capaces de infectar células fagocíticas, como es el caso de Dengue (antibody-dependent enhancement (ADE)). En este caso aparece la palabra anticuerpo **heterotípico**. Son anticuerpos dirigidos contra un serotipo de Dengue que se unen a otro serotipo de Dengue, pero que no tiene capacidad neutralizante frente al nuevo serotipo. Como son serotipos diferentes NO debería unirse a ambos, pero lo hacen y en este caso tiene una consecuencia negativa para el paciente.



¿Sirven para realizar diagnóstico de infección presente a opasada?	SÍ	SÍ
¿La formación de inmunocomplejos HBsAg-anti-HBsAg dificulta la detección de anticuerpos anti-HBcAg o anti-HBsAg?	<b>NO</b>	SÍ

Incluso los anticuerpos pueden en ocasiones ser perjudiciales y beneficiar la replicación de virus y bacterias si:

- No tienen poder neutralizante
- Se reproducen en células fagocíticas como macrófagos. [Ejemplo en re-infección de Dengue.](#)



<http://www.lww.co.uk/immunology/fundamental-immunology>

En este caso (respuesta frente al virus EBV), los antígenos reconocidos por anticuerpos son todos internos (VCA en la cápside viral y otros presentes en célula infectada). **Es sorprendente la poca atención que se ha prestado a la glicoproteína presente en la envoltura (gp350 y gp220)** y que es frente a la que se generan anticuerpos neutralizantes. Sin embargo por alguna razón no se utilizan en clínica como diagnóstico, aunque lo más lógico es que aparezcan en el suero de los pacientes infectados por EBV.

Proceso	Resultado de la prueba <sup>a</sup>					
	Heterófilo	Anti-VCA IgM	Anti-VCA IgG	Anti-EA EA-D	Anti-EA EA-R	Anti-EBNA
Mononucleosis infecciosa aguda	+	+	++	+	-	-
Convalecencia	±	-	+	-	±	+
Infección antigua	-	-	+	-	-	+

Los anticuerpos **HETERÓFILOS**, podrían ser un ejemplo de reacción cruzada inesperada. Pudiera ser que algunos de los anticuerpos anti-EBV (desconozco cuáles) se pudieran unir con afinidad superior a  $10^5 M^{-1}$  a hematies no humanos (carnero, caballo o vaca). Aunque no tiene consecuencias en el tratamiento fue utilizado para realizar el diagnóstico de mononucleosis infecciosa en el pasado, ya que era una sencilla prueba de aglutinación como la que hacemos en prácticas. Es una teoría que no he podido corroborar Como son de isotipo IgM no se puede descartar otras opciones, como que sean anticuerpos "naturales" cuya concentración aumenta en esa infección por activación de los linfocitos B que la producen, por ejemplo cuando se infectan por el virus.

- **Antígenos de superficie:** VCA, antígeno de cápside viral
- **Antígenos internos:** EA, antígeno temprano; anticuerpo EA-D, anticuerpo frente al antígeno precoz, patrón **difuso en el núcleo y el citoplasma** de las células infectadas; anticuerpo EA-R, anticuerpo frente al antígeno precoz, **restringido al citoplasma**; EBNA, antígeno nuclear del virus de Epstein-Barr.  
*Fuente:* Harrison (adaptado de Okano, 1988.). <http://harrisonmedicina.mhmedical.com/book.aspx?bookid=1717>
- El que no se detecten anticuerpos anti-EA-D y EA-R hasta pasados 1 mes puede radicar en que esas proteínas virales son no estructurales y tardan tiempo en aparecer y llegar a órganos linfoides secundarios. El que no se generen células plasmáticas de vida media larga anti-EA-D y EA-R sugiere que si no hay una transformación tumoral de células B o epiteliales, ese antígeno sólo se expresa poco tiempo o no llega a ganglio porque las células que lo expresan no mueren por piroptosis o necroptosis.
- La existencia de anticuerpos contra proteínas virales internas no es un a excepción. Por ejemplo también se pueden detectar en el virus EBV (Epstein-Barr) y en la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (no mostrado).
- Curiosamente VCA es una proteína de la cápside, y no se detectan en estos pacientes anticuerpos contra la proteína de la envoltura viral que se denomina gp350/220 y cuyo receptor es CR2 (CD21).

	PROTEÍNAS SITUADAS EN SUPERFICIE DEL VIRUS (por ejemplo Hemaglutinina (HA), neuraminidasa (NA), HBsAg o VCA)	PROTEÍNAS LOCALIZADAS EN EL INTERIOR DEL VIRUS (Por ejemplo HBcAg o EBNA)
RECONOCIMIENTO POR PARTE DE LINFOCITOS B EN GANGLIO LINFÁTICO	Reconocen la proteína formando parte del virus o aislada si esta proteína se encuentra en espacio extracelular	Reconoce necesariamente esta proteína aislado (no formando parte del virus). Se ha tenido que encontrar aislada e íntegra en el espacio intersticial y haberse transportado por circulación linfática a ganglio linfático
RECONOCIMIENTO POR PARTE DE ANTICUERPOS	Reconocen la proteína en superficie del virus (formando parte del virus), como proteína aislada y en superficie de célula infectada si es un virus con membrana	Reconocen la proteína viral aislada, sin formar parte del virus. Ha tenido que encontrarse aislada (sin formar parte del virus) e íntegra (no degradada) en espacio intersticial
CAPACIDAD DE NEUTRALIZACIÓN	SÍ	NO
PARTICIPACIÓN DE ANTICUERPOS EN ADCC (CITOTOXICIDAD MEDIADA POR ANTICUERPOS)	SÍ, sólo si virus con membrana ( <b>NA y HA</b> de gripe: Sí, <b>gp120 de HIV</b> ; Sí, HBsAg no dado que es un virus sin membrana)	NO

En esta gráfica se aprecia el polimorfismo de los receptores de las regiones constantes de IgG e IgE en diferentes células del organismo.

- Los linfocitos B expresan la molécula CD32, que se une a IgG1 (por eso es un receptor Fc-gamma) y que inhibe la estimulación de linfocitos B vírgenes. Este receptor NO favorece la fagocitosis de los inmunocomplejos con los que hay podido contactar.
- Las células NK expresan la molécula CD16 que reconoce IgG1 y que estimula la secreción de granzimas y perforinas en la sinapsis lítica cuando la membrana de una célula (helminto o células infectada por un virus con membrana) a unido IgG de manera específica.
- Las células fagocíticas expresan la molécula CD64, Que une IgG1 y cuya función es fagocitar microorganismos opsonizados (recubiertos por IgG).