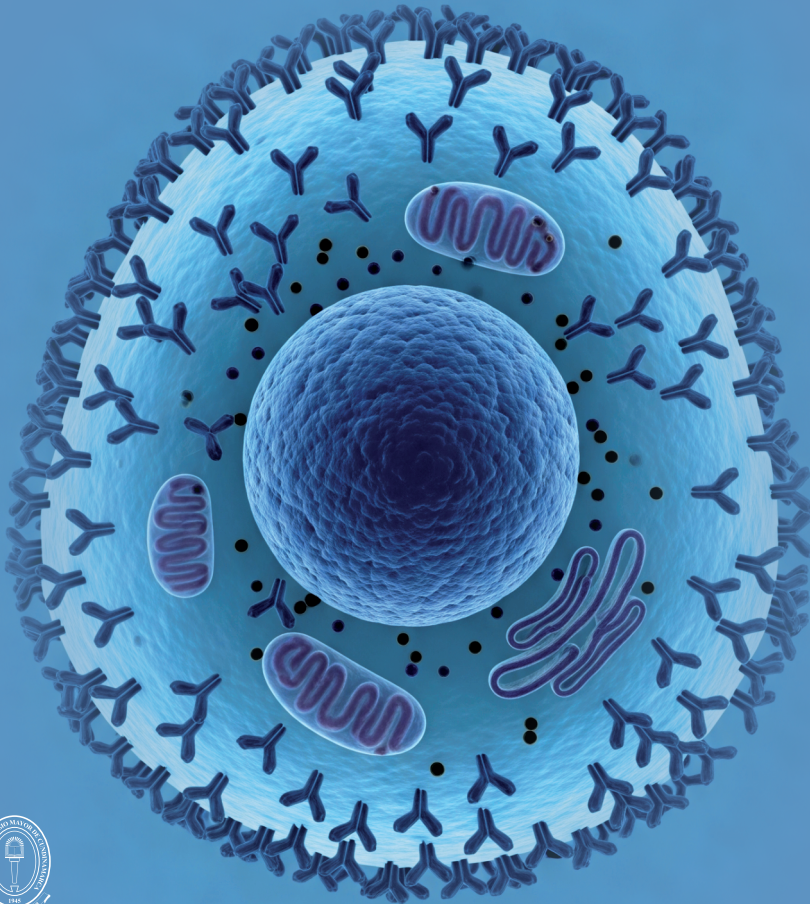


JEANNETTE NAVARRETE OSPINA

INMUNOLOGÍA GENERAL Y FUNDAMENTOS INMUNOLÓGICOS DE PRUEBAS DE LABORATORIO



UNIVERSIDAD COLEGIO
MAYOR DE CUNDINAMARCA

SELLO EDITORIAL

INMUNOLOGÍA GENERAL Y FUNDAMENTOS
INMUNOLÓGICOS DE PRUEBAS
DE LABORATORIO

JEANNETTE NAVARRETE OSPINA

**INMUNOLOGÍA GENERAL
Y FUNDAMENTOS INMUNOLÓGICOS
DE PRUEBAS DE LABORATORIO**



**UNIVERSIDAD COLEGIO
MAYOR DE CUNDINAMARCA**

SELLO EDITORIAL

Catalogación en la publicación – Biblioteca Nacional de Colombia

Navarrete Ospina, Jeannette, autora

Inmunología general y fundamentos inmunológicos de pruebas de laboratorio /
Jeannette Navarrete Ospina. -- Bogotá: Sello Editorial Universidad Colegio Mayor
de Cundinamarca, 2025.

288 páginas

Incluye glosario -- Incluye referencias bibliográficas al final de cada capítulo.

ISBN 978-958-5198-39-5 -- 978-958-5198-40-1 (e-book)

1. Inmunología - Fundamentos 2. Sistema inmune - Manuales de laboratorio 3.
Inmunorrespuesta - Investigaciones 4. Autoinmunidad - Investigaciones

CDD: 616.079 ed. 23

CO-BoBN– a1157106

© JEANNETTE NAVARRETE OSPINA

© UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA

Sello Editorial Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Carrera 13 No. 38- 29, Edificio San Juan, noveno piso
selloeditorial@unicolmayor.edu.co
www.unicolmayor.edu.co

ISBN: 978-958-5198-39-5

ISBN e-book: 978-958-5198-40-1

Queda prohibida la reproducción parcial o total de este libro por cualquier proceso reprográfico o fónico, especialmente por fotocopia, microfilme, offset o mimeógrafo.

Ley 23 de 1982

Corrector de estilo: Delio David Arango Navarro

Diagramación electrónica: Yaneth Guarín A.

Diseño de portada: Vanessa Peña A.

Impresión: GRUPO EDITORIAL IBÁÑEZ

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por guiarme en cada proceso y reto en mi vida.

A la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, por permitirme tener esta gran oportunidad de cumplir con uno de mis sueños como docente, el de escribir un libro en la disciplina en que fui formada.

A mi esposo, mis hijos y nietas, por el apoyo incondicional que recibo de ellos.

A la doctora Martha Castillo, docente de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá, Colombia, experta en el área de hematología, quien no dudó en compartir sus fotos de células del sistema inmune.

CONTENIDO

PRÓLOGO.....	31
--------------	----

CAPÍTULO 1 GENERALIDADES

1.1. HISTORIA DE LA INMUNOLOGÍA	33
1.2. ANTÍGENO.....	42
1.2.1. CARACTERÍSTICAS DE UN INMUNÓGENO.....	44
1.2.1.1. <i>CARACTERÍSTICAS FÍSICAS</i>	44
1.2.1.2. <i>CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS</i>	46
1.2.2. TIPOS DE ANTÍGENO.....	47
1.3. TIPOS DE RESPUESTA INMUNE.....	48
1.3.1. RESPUESTA INMUNE INNATA	49
1.3.2. RESPUESTA INMUNE ADAPTATIVA	50
1.3.3. RESPUESTA INMUNE ACTIVA NATURAL	51
1.3.4. RESPUESTA INMUNE ACTIVA ARTIFICIAL.....	51
1.3.5. RESPUESTA INMUNE PASIVA NATURAL	52
1.3.6. RESPUESTA INMUNE PASIVA ARTIFICIAL.....	52
1.3.7. RESPUESTA INMUNE PRIMARIA Y SECUNDARIA.....	52
1.4. COMPONENTES DEL SISTEMA INMUNE	53
1.4.1. ÓRGANOS.....	53
1.4.1.1. <i>ÓRGANOS PRIMARIOS</i>	54
1.4.1.1.1. <i>Médula ósea</i>	54
1.4.1.1.2. <i>Timo</i>	56

1.4.1.2.	ÓRGANOS SECUNDARIOS	58
1.4.1.2.1.	Ganglio linfático	58
1.4.1.2.2.	Bazo	60
1.4.1.2.3.	Tejido linfoide	61
1.4.1.3.	ÓRGANOS LINFOIDES TERCIARIOS (OLT)	63
1.4.2.	CÉLULAS	64
1.4.2.1.	CÉLULAS DEL SISTEMA INMUNE INNATO	64
1.4.2.1.1.	Polimorfonuclear neutrófilo (PMN)	64
1.4.2.1.2.	Eosinófilo (Eos)	66
1.4.2.1.3.	Basófilos (Bas)	68
1.4.2.1.4.	Mastocito (Mas)	69
1.4.2.1.5.	Natural Killer (NK)	70
1.4.2.1.6.	Células NKT	71
1.4.2.1.7.	Monocito y macrófago (Mφ)	72
1.4.2.1.8.	Célula dendrítica (CD)	74
1.4.2.1.9.	Fibroblasto	75
1.4.2.1.10.	Plaquetas	76
1.4.2.2.	CÉLULAS DEL SISTEMA INMUNE ADAPTATIVO	77
1.4.2.2.1.	Linfocitos T	77
1.4.2.2.2.	Linfocitos B	79
1.4.3.	PROTEÍNAS	80
1.4.3.1.	PROTEÍNAS DEL SISTEMA INMUNE INNATO	80
1.4.3.1.1.	Citoquinas	80
1.4.3.1.2.	Sistema de complemento	81
1.4.3.1.3.	Receptores de membrana en la inmunidad innata	82
1.4.3.2.	PROTEÍNAS DEL SISTEMA INMUNE ADAPTATIVO	83
1.4.3.2.1.	Anticuerpos (Ac) o inmunoglobulinas (Ig)	83
	REFERENCIAS	84

CAPÍTULO 2

RESPUESTA INMUNE INNATA

2.1.	FACTORES DETERMINANTES EN LA FUNCIÓN DE LA INMUNIDAD INNATA	89
2.2.	BARRERAS DE LA INMUNIDAD INNATA	91
2.3.	SISTEMA DE COMPLEMENTO	97
	2.3.1. VÍA CLÁSICA.....	100
	2.3.2. VÍA LECTINAS.....	104
	2.3.3. VÍA ALTERNA.....	106
	2.3.4. ANAFILOTOXINAS.....	107
	2.3.5. RECEPTORES PARA LAS MOLÉCULAS DEL SISTEMA DE COMPLEMENTO....	108
	2.3.6. REGULACIÓN DEL SISTEMA DE COMPLEMENTO	109
2.4.	RECEPTORES SEMEJANTES AL TOLL (TLR).....	111
2.5.	MOLÉCULAS DE ADHESIÓN CELULAR (MAC)	115
2.6.	FAGOCITOSIS	121
	2.6.1. POLIMORFONUCLEAR NEUTRÓFILO (PMN)	122
	2.6.2. MACRÓFAGO (MΦ).....	124
	2.6.3. CÉLULAS DENDRÍTICAS (CDs).....	126
	2.6.4. PROCESO DE LA FAGOCITOSIS	127
	2.6.4.1. ACTIVACIÓN	128
	2.6.4.2. OPSONIZACIÓN	129
	2.6.4.3. ADHESIÓN.....	129
	2.6.4.4. QUIMIOTAXIS	130
	2.6.4.5. RECONOCIMIENTO.....	131
	2.6.4.6. INGESTIÓN.....	132
	2.6.4.7. DEGRANULACIÓN	133
	2.6.4.8. DIGESTIÓN O MUERTE INTRACELULAR.....	133
	2.6.4.8.1. Mecanismos independientes de oxígeno.....	133
	2.6.4.8.2. Mecanismos dependientes de oxígeno.....	135
	2.6.4.9. REGULACIÓN DE LA FAGOCITOSIS.....	137

2.7.	COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD (CMH)	138
2.7.1.	MOLÉCULAS CMH CLASE I	139
2.7.1.1.	<i>SÍNTESIS DE MOLÉCULAS CMH CLASE I</i>	141
2.7.2.	MOLÉCULAS CMH CLASE II	144
2.7.2.1.	<i>SÍNTESIS DE MOLÉCULAS CMH CLASE II</i>	145
2.7.3.	MOLÉCULAS CLASE III	147
2.7.4.	GENÉTICA, POLIMORFISMO Y NOMENCLATURA DEL CMH.....	147
2.7.5.	APLICABILIDAD DEL ESTUDIO DEL CMH	150
2.7.6.	REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL CMH	154
2.8.	CITOQUINAS.....	154
2.9.	INFLAMACIÓN.....	160
2.9.1.	CÉLULAS EN LA INFLAMACIÓN.....	162
2.9.2.	MEDIADORES ACTIVADORES DE LA INFLAMACIÓN	165
2.9.2.1.	<i>MEDIADORES PRIMARIOS</i>	165
2.9.2.2.	<i>MEDIADORES SECUNDARIOS</i>	166
2.9.3.	REGULACIÓN DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA	167
	REFERENCIAS.....	154

CAPÍTULO 3

RESPUESTA INMUNE ADAPTATIVA

3.1.	RESPUESTA INMUNE CELULAR ESPECÍFICA	176
3.1.1.	LINFOCITOS T.....	176
3.1.1.1.	<i>MADURACIÓN Y ESPECIALIZACIÓN DEL LINAJE T</i>	177
3.1.1.2.	<i>RECEPTOR DE CÉLULA T (TCR)</i>	179
3.1.1.3.	<i>SELECCIÓN CLONAL DEL LINFOCITO T</i>	184
3.1.1.4.	<i>RECONOCIMIENTO DEL PATÓGENO POR PARTE DE LOS LINFOCITOS T</i>	185
3.1.1.4.1.	<i>Linfocito T ayudador (LTh)</i>	185
3.1.1.4.2.	<i>Linfocito T citotóxico (LTc)</i>	187
3.1.1.5.	<i>LINFOCITO T REGULADOR (LTREG)</i>	188

3.1.1.6.	<i>LINFOCITOS T GAMMA DELTA</i>	188
3.2.	RESPUESTA INMUNE HUMORAL ESPECÍFICA.....	189
3.2.1.	LINFOCITOS B.....	189
3.2.1.1.	<i>MADURACIÓN DEL LINAJE B</i>	190
3.2.1.2.	<i>RECEPTOR DE LA CÉLULA B (BCR)</i>	191
3.2.1.3.	<i>LINFOCITO B1</i>	194
3.2.1.4.	<i>LINFOCITOS B2</i>	194
3.2.2.	ANTICUERPOS.....	197
3.2.2.1.	<i>FUNCIONES DE LOS ANTICUERPOS</i>	199
3.2.2.2.	<i>CARACTERÍSTICAS DE LOS ACS O IGS</i>	200
3.2.2.3.	<i>RECOMBINACIÓN VDJ</i>	204
3.2.2.4.	<i>RESPUESTA INMUNE PRIMARIA Y SECUNDARIA</i>	206
3.3.	TOLERANCIA INMUNOLÓGICA	207
	REFERENCIAS.....	208

CAPÍTULO 4

FUNDAMENTOS INMUNOLÓGICOS DE PRUEBAS DE LABORATORIO

4.1.	CARACTERÍSTICAS DE LA REACCIÓN ANTÍGENO-ANTICUERPO (AG-AC).....	213
4.2.	TIPOS DE REACCIONES AG-AC	215
4.2.1.	REACCIONES DE INTERACCIÓN PRIMARIA.....	215
4.2.1.1.	<i>INMUNOFLUORESCENCIA (IF)</i>	215
4.2.1.2.	<i>ENSAYO INMUNOENZIMÁTICO (ELISA)</i>	219
4.2.1.3.	<i>QUIMIOLUMINISCENCIA</i>	222
4.2.1.4.	<i>RADIOINMUNOENSAYO (RIA)</i>	223
4.2.2.	REACCIONES DE INTERACCIÓN SECUNDARIA.....	223
4.2.2.1.	<i>PRECIPITACIÓN</i>	224
4.2.2.2.	<i>AGLUTINACIÓN</i>	228
4.2.2.3.	<i>FLOCULACIÓN</i>	229
4.2.3.	OTRAS REACCIONES AG-AC	230

4.2.3.1.	<i>NEUTRALIZACIÓN</i>	230
4.2.3.2.	<i>CITOMETRÍA DE FLUJO</i>	231
4.2.3.3.	<i>NEFELOMETRÍA</i>	234
4.2.3.4.	<i>ACTIVACIÓN Y FIJACIÓN DE COMPLEMENTO</i>	235
4.2.3.5.	<i>PRUEBAS INMUNOGENÉTICAS</i>	235
4.2.3.5.1.	<i>Grupo sanguíneo A, B, O</i>	235
4.2.3.5.2.	<i>Tipificación de antígenos de histocompatibilidad</i>	237
4.3.	PRUEBAS INMUNOLÓGICAS PARA DETERMINAR LA FUNCIÓN DE LA INMUNIDAD INNATA	239
4.3.1.	VALORACIÓN DE LA QUIMIOTAXIS	239
4.3.1.1.	<i>PROTOCOLO DE QUIMIOTAXIS BAJO AGAROSA</i>	239
4.3.2.	VALORACIÓN DE LA FAGOCITOSIS	242
4.3.2.1.	<i>PROTOCOLO DE LA MICROTÉCNICA DE FAGOCITOSIS Y MUERTE INTRACELULAR DE CÁNDIDA</i>	243
4.3.2.2.	<i>PROTOCOLO DE LA PRUEBA REDUCCIÓN DE NITRO AZUL DE TETRAZOLIUM (NBT)</i>	245
4.3.2.3.	<i>QUIMIOLUMINISCENCIA PARA VALORAR LA FAGOCITOSIS</i>	246
4.3.2.4.	<i>CITOMETRÍA DE FLUJO PARA VALORAR LA FAGOCITOSIS</i>	247
4.3.3.	VALORACIÓN DEL PROCESO INFLAMATORIO	247
4.3.3.1.	<i>CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNA C REACTIVA (PCR)</i>	248
4.3.4.	VALORACIÓN DEL SISTEMA DE COMPLEMENTO	248
4.3.4.1.	<i>CUANTIFICACIÓN DE C3 Y C4</i>	248
4.3.4.2.	<i>EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN DE LA VÍA CLÁSICA: COMPLEMENTO HEMOLÍTICO 50</i>	249
4.3.5.	VALORACIÓN DE LAS CITOQUINAS	252
4.4.	PRUEBAS INMUNOLÓGICAS PARA DETERMINAR LA FUNCIÓN DE LA INMUNIDAD ADAPTATIVA	252
4.4.1.	VALORACIÓN DE LOS ANTICUERPOS	252
4.4.1.1.	<i>PRUEBAS DE CUANTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS</i>	252

4.4.1.2.	<i>PRUEBAS QUE ANALIZAN LA DINÁMICA DE LOS ANTICUERPOS</i>	254
4.4.1.2.1.	<i>Anticuerpos anti E.coli (Hemaglutinación pasiva)</i>	255
4.4.1.2.2.	<i>Anticuerpos anti cándida (aglutinación)</i>	257
4.4.1.2.3.	<i>Isohemaglutininas)</i>	258
4.4.2.	<i>VALORACIÓN DE LOS LINFOCITOS T Y B</i>	259
4.4.2.1.	<i>MÉTODOS DE SEPARACIÓN DE POBLACIONES LINFOCITARIAS</i> .	259
4.4.2.1.2.	<i>Separación por gradiente de Ficoll</i>	259
4.4.2.1.3.	<i>Separación por gradientes de Percoll</i>	260
4.4.2.1.4.	<i>Cell sorting</i>	261
4.4.2.1.5.	<i>Formatos de separación celular basada en afinidad</i>	262
4.4.2.2.	<i>CUANTIFICACIÓN DE LINFOCITOS T Y B</i>	262
4.4.2.2.1.	<i>Citometría de flujo</i>	262
4.4.2.2.2.	<i>Rosetas de carnero para la cuantificación de linfocitos T</i>	263
4.4.2.3.	<i>EVALUACIÓN DE LA FUNCIONALIDAD DE LT Y LB</i>	263
REFERENCIAS	264

ANEXO

SISTEMA LUMINEX	267
TITULACIÓN DE LA HEMOLISINA PARA REALIZAR LA PRUEBA CH50	268
GLOSARIO	273

LISTA FIGURAS

Figura 1.1.	<i>Proceso de variolización: implementado por Edward Jenner</i>	34
Figura 1.2.	<i>Lady Mary Montagu (1689-17-62) fue la primera persona en intentar difundir la inoculación en Europa para evitar el contagio de la viruela.....</i>	35
Figura 1.3.	<i>Edward Jenner (1749-1823). Cirujano que inoculó a un niño de ocho años con material obtenido de una llaga de viruela bovina</i>	36
Figura 1.4.	<i>Luis Pasteur (1822-1895) químico que desarrolló la pasteurización, la teoría germinal de las enfermedades infecciosas mediante la transmisión de microorganismos y el desarrollo de vacunas ...</i>	37
Figura 1.5.	<i>Elie Metchnikoff (1845-1916). Médico ruso que trabajo en el laboratorio de Pasteur investigando los procesos de fagocitosis de bacterias</i>	38
Figura 1.6.	<i>Paul Erlich (1854-1915). Médico y bacteriólogo quien realizo grandes aportes a la inmunología, la quimioterapia y la seroterapia ..</i>	38
Figura 1.7.	<i>Jules Bordet: (1870-1961) médico destacado por estudios en inmunología especialmente en el sistema de complemento.....</i>	39
Figura 1.8.	<i>Estructura de los epítomos diversas formas del reconocimiento de los epítomos por parte de los anticuerpos</i>	44
Figura 1.9.	<i>Tipos de respuesta inmune: componentes de la respuesta inmune innata y adaptativa celular y humoral</i>	49
Figura 1.10.	<i>Respuesta inmune primaria y secundaria: tiempo en días de aparición y duración de la respuesta inmune primaria y secundaria y anticuerpo que la dirige</i>	53
Figura 1.11.	<i>Hematopoyesis: etapas de producción y maduración de las líneas celulares eritroide, mieloblástica, linfoblástica y megacariocítica, desarrolladas en la médula ósea y las citoquinas que intervienen en cada proceso</i>	55

Figura 1.12.	<i>Timo: ubicación en el organismo humano</i>	56
Figura 1.13.	<i>Maduración del linfocito T en el timo. Proceso de maduración de los linfocitos T en el timo donde reconocen y toleran lo propio y se diferencian en las diferentes subpoblaciones</i>	57
Figura 1.14.	<i>Recirculación de los linfocitos T y B. Una vez alcanzan la madurez realizan procesos de vigilancia en los diferentes tejidos y órganos ...</i>	58
Figura 1.15.	<i>Ganglio linfático: ubicación de los ganglios linfáticos en el cuerpo humano</i>	59
Figura 1.16.	<i>Ganglio linfático: estructura y componentes del ganglio linfático</i>	60
Figura 1.17.	<i>Bazo: estructura fisiológica del bazo</i>	61
Figura 1.18.	<i>Función inmunológica de las mucosas. Representación de la estructura de la funcionalidad inmunológica de las mucosas (GALT) que está compuesta por células M que son enterocitos especializados en la captación de antígenos lumenales, grandes cantidades de linfocitos T intraepiteliales que son inductores de la respuesta inmune en las placas de Peyer y ganglios linfáticos mesentéricos</i>	62
Figura 1.19.	<i>Órgano linfóide terciario. Estructura celular de un órgano linfóide terciario que en respuesta frente a un antígeno contiene linfocitos T, linfocitos B y células dendríticas foliculares formando agregados que tienen como fin eliminar el agente causal.</i>	64
Figura 1.20.	<i>Polimorfonuclear neutrófilo en circulación sanguínea</i>	65
Figura 1.21.	<i>Eosinófilo en circulación sanguínea</i>	67
Figura 1.22.	<i>Basófilo en circulación sanguínea</i>	68
Figura 1.23.	<i>Funciones inmunológicas efectoras de la NKT donde hay interrelación con otras células del sistema inmune como son los Mφ, PMN, Linfocitos B, Linfocitos T y NK mediadas por la acción de citoquinas</i>	72
Figura 1.24.	<i>Monocito en circulación</i>	73
Figura 1.25.	<i>Histiocito</i>	74
Figura 1.26.	<i>Células dendríticas</i>	75

Figura 1.27.	<i>Fibroblastos en tejido conectivo</i>	76
Figura 1.28.	<i>Plaquetas en sangre periférica</i>	77
Figura 1.29.	<i>Linfocito en sangre periférica</i>	78
Figura 1.30.	<i>Sistema de complemento: vías de activación del sistema de complemento que confluyen en C3 para dar inicio a la vía lítica.</i>	81
Figura 1.31.	<i>Moléculas de adhesión celular. Interacción entre los diversos tipos de moléculas de adhesión</i>	83
Figura 1.32.	<i>Anticuerpo. Estructura de un anticuerpo</i>	84
Figura 2.1.	<i>Acción de las células NK: cuando encuentran en la célula sana moléculas HLA expresadas en su membrana inhibe la acción de las NK. Si estas moléculas no se encuentran en las células afectadas, la NK se activa para la lisis de la célula blanco</i>	94
Figura 2.2.	<i>Citotoxicidad de la NK mediada por anticuerpos: las IgG reconocen el patógeno que se expresa sobre la membrana de la célula blanco y la NK reconoce este complejo antígeno-anticuerpo (Ag-Ac) e inicia su proceso de activación para dar como resultado la lisis de la célula afectada</i>	95
Figura 2.3.	<i>Acción citotóxica del eosinófilo que la ejerce cuando es activado por la IL-5 y une los receptores Fcε de la membrana del eosinófilo con la IgE que ha reconocido al parásito. Esta unión da como resultado la liberación de enzimas que producen poros en la membrana del parásito causando su muerte</i>	96
Figura 2.4.	<i>Esquema de activación del complemento por la vía clásica (azul), alterna (amarillo) y lectinas (verde) hasta llegar al Complejo Ataque de Membrana (CAM) para la formación del poro inductor de la lisis de la célula blanco y la liberación de las anafilotoxinas (fucsia)</i>	99
Figura 2.5.	<i>Molécula C1q: estructura polimérica de la molécula C1q</i>	101
Figura 2.6.	<i>Unidad de reconocimiento unida a los anticuerpos IgG e IgM: (A) unión de la molécula C1q a la IgM que se encuentra plegada sobre la membrana del patógeno que reconoció. (B) Unión de la C1q a dos moléculas de IgG</i>	101
Figura 2.7.	<i>Formación de la unidad de reconocimiento por la vía clásica que reconoce dos anticuerpos IgG a la que se une una molécula C1q y dos moléculas C1r y dos C1s para conformar la unidad de reconocimiento del complejo Ag-Ac</i>	102

Figura 2.8.	<i>Reconocimiento y activación vía clásica por la presencia de una complejo Ag-Ac. En la figura se observa la unión de dos IgG unidas a la célula blanco, donde se forma la unidad de reconocimiento, las convertasas de C3 y de C5 y se llega al Complejo Ataque de Membrana para producir el poro que induce la lisis celular</i>	103
Figura 2.9.	<i>Complejo Ataque de membrana (CAM) compuesto por C5b que fija las moléculas C6, C7, C8 y 12 moléculas de C9 las cuales forman el poro inductor de lisis.....</i>	104
Figura 2.10.	<i>Complejo Lectina Ligadora de Manosa MBL+MASP1 y MASP2 reconociendo manosa y ficolina + MASP1 MASP2 reconociendo N- acetilglucosamina</i>	105
Figura 2.11.	<i>Activación de la vía de las lectinas al reconocer la manosa como componente estructural del microorganismo fracciona las moléculas para producir las convertasas de C3 y de C5 para formar el Complejo Ataque de Membrana que produce el poro en la membrana de la célula blanco</i>	106
Figura 2.12.	<i>Activación de la vía alterna para causar la lisis de la membrana de la célula blanco</i>	107
Figura 2.13.	<i>Vías de señalización del receptor tipo Toll (TLR) extra-membranales y endosómicos para activar en el núcleo de la célula la síntesis de citoquinas proinflamatorias</i>	114
Figura 2.14.	<i>Adhesión celular entre CPA y linfocitos T citotóxico y ayudador para la presentación de antígenos peptídicos endógenos y exógenos respectivamente, donde las moléculas del CMH Clase I y Clase II se unen covalentemente con las moléculas CD8 y CD4 respectivamente.....</i>	116
Figura 2.15.	<i>Superfamilia de las inmunoglobulinas. Representación esquemática de las moléculas que pertenecen a la superfamilia de las inmunoglobulinas tipo C1</i>	119
Figura 2.16.	<i>Fagocitosis del neutrófilo: a. PMNs que han fagocitado <i>Cándida albicans</i>, las <i>cándidas</i> vivas se observan refringentes y las <i>cándidas</i> muertas toman el colorante azul b. PMN que fagocitó y redujo colorante nitroazul de tetrazoilum (NBT)</i>	121
Figura 2.17.	<i>PMN en extendido de sangre periférica</i>	123

- Figura 2.18.** *Opsonización o marcaje del antígeno por medio de proteínas del complemento y anticuerpos para que sean reconocidas por los receptores de los fagocitos 129*
- Figura 2.19.** *Adhesión de los leucocitos al endotelio vascular mediante moléculas de adhesión como la selectina E e integrinas, que le permiten realizar la quimiotaxis o movimiento dirigido hacia el antígeno atravesando el endotelio vascular o diapédesis... 130*
- Figura 2.20.** *Fagocitosis: proceso de emisión de pseudópodos para la ingestión del microorganismo..... 133*
- Figura 2.21.** *Ubicación genómica del CMH en el humano: región del brazo corto del cromosoma n.º 6 donde se encuentran los genes que codifican para la síntesis de moléculas del CMH 138*
- Figura 2.22.** *Moléculas CMH Clase I: estructura y dominios de las moléculas HLA Clase I cadena pesada α y cadena liviana β 2 microglobulina ... 140*
- Figura 2.23.** *Síntesis de CMH Clase I y unión con el péptido proveniente del patógeno endógeno 142*
- Figura 2.24.** *Síntesis de las moléculas Clase I y Clase II: en el recuadro de la vía endocítica se observa cuando el Ag exógeno es introducido en el citosol mediante el fagosoma para degradarlo; a su vez se está sintetizando CMH Clase II en el retículo endoplásmico, el cual sale en una vesícula para fusionarse con el fagosoma que contiene en Ag degradado; el CMH toma el epítipo del Ag, y expresa en la membrana CMH Clase II-epítipo exógeno para presentarlo al linfocito T ayudador. En el recuadro de la vía endógena se observa la degradación del Ag en el proteosoma, epítipo que se va a unir al CMH Clase I en el retículo endoplásmico y expresar el CMH Clase I-epítipo endógeno en la superficie de la membrana celular para presentarlo al linfocito T citotóxico 143*
- Figura 2.25.** *Moléculas CMH Clase II: estructura de las moléculas HLA Clase II: cadena pesada α y cadena liviana β 144*
- Figura 2.26.** *Síntesis de CMH Clase II y unión con el péptido proveniente del patógeno exógeno..... 146*
- Figura 2.27.** *Herencia del HLA: cada progenitor da a su descendencia un haplotipo en cada espermatozoide y óvulo, que al momento de la fecundación se manifiestan de manera codominante permitiendo la combinación al azar de cada haplotipo..... 149*

- Figura 2.28.** *Nomenclatura de las moléculas HLA: el primer campo corresponde al antígeno serológico. El segundo campo distingue los alelos HLA que difieren en una o más variantes sin sentido. El tercer campo distingue los alelos HLA que difieren en una o más variantes sinónimas. El grupo N distingue los alelos HLA que difieren en una o más variantes sinónimas dentro de los exones que codifican las regiones del surco de unión al péptido (exón 2 y 3 para los genes HLA de clase I y exón para los genes HLA de clase II) 150*
- Figura 3.1.** *Estructura del receptor T. A: TCR $\alpha\beta$ compuesto por una cadena α y una cadena β las cuales tienen una región variable y una constante; este TCR está acompañado por el receptor CD3 que está compuesto por cuatro cadenas (γ , 2ε , δ). B: TCR $\gamma\delta$: compuesto por una cadena γ y una cadena δ acompañado por el receptor CD3 180*
- Figura 3.2.** *Organización y reordenamiento de los genes del que codifican el receptor TCR. Se evidencia la configuración de la línea germinal para las cadenas α y β del TCR, con los segmentos génicos variable (V), diversidad (D) y de unión (J). En el desarrollo del Linfocitos T hay recombinación del ADN donde se ensambla el segmento V, para la cadena α , un segmento V se reordena con uno J que crea un exón funcional para el fragmento variable del TCR. Para la cadena β se reordenan un segmento V, uno D y uno J para crear un exón funcional V. Posteriormente hay transcripción, se produce RNAm que codifica para las cadenas α y β del TCR 181*
- Figura 3.3.** *Señalización intracelular del TCR. Con el reconocimiento antigénico por parte del TCR sucede la activación de la tirosinkinasa (LCK y ZAP70), posteriormente está la fosforilación y activación de la fosfolipasa C que hidrolisa los fosfolípidos de la membrana celular, que permite el ingreso de calcio al citoplasma que activa la calmodulina, la calcineurina y el factor de transcripción NF κ B que, liberado de su inhibidor, ingresa al núcleo. Además, la concentración citoplasmática del calcio activa la vía Ras-MPK, activa otros factores de transcripción que ingresan al núcleo, juntos activan los genes responsables de la respuesta efectora del linfocito T. 183*

- Figura 3.4.** *Selección y expansión de los linfocitos T. (A) en la maduración las células progenitoras dan origen a linfocitos T con distintas formas de TCR. (B) Solo unos pocos linfocitos T circulantes reconocen el patógeno. (C) Los linfocitos reactivos proliferan. (D) Los linfocitos activados por el patógeno son células efectoras contra el patógeno.....* 184
- Figura 3.5.** *Activación de la respuesta Th por la presentación de péptidos unidos al CMH Clase II. Los LTh activados reciben estímulos de citoquinas para poder diferenciarse en Th1 o Th2. Los LTh1 producen una respuesta eminentemente celular y los LTh2 humoral.* 186
- Figura 3.6.** *Acción citotóxica de los linfocitos Tc frente a una célula infectada. Una vez el LTc reconoce los péptidos del antígeno endógeno unidos al CMH Clase I, el linfocito Tc prolifera, produce citoquinas y perforinas causantes de la lisis celular* 187
- Figura 3.7.** *Receptor BCR compuesto de una IgM monomérica transmembranal y dos correceptores Iga (CD79a) e Igβ (CD79b) que activa al LB cuando dos BCR reconocen entrecruzadamente el antígeno* 192
- Figura 3.8.** *Señalización del receptor del linfocito B (BCR). El estímulo entrecruzado del antígeno con el BCR es traducido por las moléculas accesorias CD79 mediante una serie de reacciones bioquímicas de tipo enzimático para la liberación de los factores de transcripción (NFκβ) y puedan ingresar al núcleo y activen los genes para la síntesis de proteínas (Igs).....* 193
- Figura 3.9.** *Respuesta efectora del linfocitos B para transformarse en célula plasmática productora de anticuerpos y respuesta de memoria ...* 195
- Figura 3.10.** *Mecanismos de activación del linfocito B mediante la función efectora de los linfocitos T ayudadores. A: presentación de CMH-péptidos proteicos por parte del LB al LTh. B: el LTh se activa, expresa el receptor CD40 L y sintetiza citoquinas. C: el LB se activa por las citoquinas producidas por LTh. D: el LB prolifera y se diferencia para convertirse en célula plasmática* 196
- Figura 3.11.** *Estructura de un anticuerpo: dos cadenas pesadas (H), dos cadenas livianas (L) unidas por puentes disulfuro; dominios variable .. (VH, VL) los cuales conforman el sitio de unión con el antígeno; dominios constantes (CL, CH1, CH2, CH3) que realizan las funciones biológicas del anticuerpo; bisagra que permite la movilidad de la región Fab (Fragmento de unión al antígeno); fragmento cristalizable (Fc)* 198

Figura 3.12.	<i>Estructura de los anticuerpos en pentámero, dímero y monómero</i>	199
Figura 3.13.	<i>Disposición estructural de la IgM cuando reconoce un Ag se dobla en forma de grapa y cuando está en circulación su estructura es plana.....</i>	201
Figura 3.14.	<i>IgA en dímero unidos por la cadena J y para evitar la degradación por proteasas de la mucosa, está el componente secretor que rodea el dímero.....</i>	202
Figura 3.15.	<i>Recombinación VDJ en el locus de la IGH humano que permite la diversidad en la síntesis de los anticuerpos</i>	204
Figura 3.16.	<i>Cambio de clase en el locus del gen IGH C humano en la región constante lo cual permite la producción de cada isotipo de Ig</i>	205
Figura 3.17.	<i>Respuesta inmune primaria y secundaria: niveles de anticuerpos en relación con el tiempo de haber tenido contacto con el antígeno en primera y segunda exposición.....</i>	206
Figura 4.1.	<i>Inmunofluorescencia directa: determinación del Ag en la muestra del paciente.....</i>	216
Figura 4.2.	<i>Inmunofluorescencia indirecta: determina Acs específicos en la muestra de suero del paciente, generalmente IgG, contra el Ag. Estos Acs reconocen la células que posee el antígeno (inmuno-reactivo) y la reacción Ag-Ac se evidencia mediante un segundo anticuerpo marcado con fluorocromo</i>	217
Figura 4.3.	<i>Patrones de Anticuerpos Antinucleares (ANA): se observan de izquierda a derecha patrón homogéneo, patrón moteado y patrón nucleolar</i>	218
Figura 4.4.	<i>ELISA directa en sándwich para la determinación de Ag en la muestra biológica.....</i>	219
Figura 4.5.	<i>ELISA indirecta en sándwich para la determinación de Ac en la muestra biológica.....</i>	220
Figura 4.6.	<i>ELISA de captura para la determinación de IgM en la muestra biológica y que es específica para el antígeno.....</i>	221
Figura 4.7.	<i>ELISA competitiva usada para determinar presencia de antígeno ó Acs en la muestra biológica.....</i>	221
Figura 4.8.	<i>Quimioluminiscencia para determinar Ac en la muestra biológica...</i>	222

- Figura 4.9.** *Reacción de precipitación en condiciones de equilibrio Ag-Ac, es decir, cuando hay exceso de alguno de los componentes no se produce la reacción de precipitación.....* 224
- Figura 4.10.** *Inmunodifusión doble de Ouchterlony: las bandas de precipitación de identidad total, es cuando los Acs reconocen el mismo Ag; identidad parcial cuando además de reconocer el mismo Ag, el Ac reacciona contra otros componentes del Ag; no identidad cuando los Acs reconocen diferentes tipos de componentes del Ag* 226
- Figura 4.11.** *Inmunodifusión radial: en la placa con pozos en donde el Ag (IgG, IgM, IgA, C3 ó C4) que se encuentra en la muestra, ha sido reconocido por el Ac anti inmunoglobulinas o anti complemento inmerso en el gel de cada placa, forma un precipitado de forma radial; la concentración de Ag es proporcional al diámetro del aro de precipitación, que según curvas con estándares de concentración conocida, proporcional a la cantidad en mg/dL del Ag que se esté cuantificando* 227
- Figura 4.12.** *Contrainmunolectroforesis: la lámina portaobjetos con gel de alta electro-endo-osmosis. Una vez solidificado se enfrentan Ag y Ac a una distancia de 1 cm entre ellos. Si después del corrido electroforético se produce una banda de precipitación esto indica que hay reconocimiento del Ag por parte de Ac específico* 228
- Figura 4.13.** *Reacciones de aglutinación simple donde el Ac reconoce partículas de Ag y las agrupa en grumos. La aglutinación pasiva puede usar un soporte (látex) que se agrupa para visualizar la reacción Ag-Ac. La hemoaglutinación usa como soporte eritrocitos para agrupar los complejos Ag-Ac* 229
- Figura 4.14.** *Neutralización: los Acs neutralizantes ocupan el sitio activo de la partícula e inhiben el efecto sobre la célula blanco.....* 230
- Figura 4.15.** *Citometría de flujo: los componentes del citómetro donde se indican tres sistemas que lo componen, sistema de fluido, óptico y electrónico así como el procesamiento y la detección* 231
- Figura 4.16.** *A. Histograma que evidencia picos de población de células positivas para un marcador B. Células marcadas con un anticuerpo monoclonal representadas en grafico de puntos, pseudocolor, zebra y densidad.....* 234

- Figura 4.17.** *Clasificación de grupo sanguíneo: se produce aglutinación usando los antiseros anti A, anti B, anti D con los glóbulos rojos de la muestra para la determinación de grupo sanguíneo sistema ABO y Grupo Rh D* 236
- Figura 4.18.** *Placa de gel de agarosa para la realización de la prueba de quimiotaxis: el agar utilizado debe estar suplementado para elaborar la prueba de quimiotaxis bajo agarosa usando PMN del paciente y una muestra control, FMLP como sustancia quimioatrayente que estimulará el movimiento quimiotáctico de los PMN y buffer Hank's como sustancia blanco* 241
- Figura 4.19.** *Lectura de la migración de los PMN bajo la agarosa con el estímulo quimiotáctico del FMLP. El verdadero movimiento quimiotáctico se obtiene restando el movimiento al azar de la movimiento quimiotáctico* 242
- Figura 4.20.** *Neutrófilos que han fagocitado cándida. La observación al microscopio de luz a 100X donde se encuentran los PMN adheridos que han fagocitado cándidas. Las vivas se observan refringentes, las cándidas muertas por la acción microbicida del PMN, lesionan la membrana de la cándida y el colorante puede penetrar y se observan de color azul* 245
- Figura 4.21.** *Reducción de azul de tetrazolium (NBT). El neutrófilo que fagocitó el colorante azul de tetrazolium, por la actividad enzimática que este posee en sus gránulos, reduce el colorante produciendo un precipitado de formazán de color azul* 246
- Figura 4.22.** *Gráfica para CH50 en papel semilogarítmico se grafican los valores hallados de cada tubo del suero del paciente vs el porcentaje de hemólisis. Se requiere hallar la cantidad de suero capaz de hemolizar el 50% para la determinación de las unidades hemolíticas* 251
- Figura 4.23.** *Cuantificación de IgE mediante inmunoensayo (PRIST) marcado con enzima, con radioisótopo o con luminol* 254
- Figura 4.24.** *Determinación de IgE específica para un alergeno (RAST) causante de procesos alérgicos* 254
- Figura 4.25.** *Anticuerpos anti E.coli. protocolo de hemaglutinación pasiva para determinar el título de anticuerpos anti E.coli* 256

- Figura 4.26.** *Anticuerpos anticándida. Protocolo para determinar título de anticuerpos anticándida..... 257*
- Figura 4.27.** *Isohemaglutininas. Protocolo para determinar IgM antiggrupo sanguíneo..... 258*
- Figura 4.28.** *Separación de mononucleares mediante el gradiente de Ficoll. La muestra de sangre diluida (2 partes) sobre el Ficoll (1 parte) se centrifuga para obtener la interfase inferior donde están los glóbulos rojos y los PMN, luego está la interfase de Ficoll y sobre esta se encuentra la capa de mononucleares y en la parte superior se encuentra el plasma y las plaquetas..... 260*
- Figura 4.29.** *Separación de mononucleares mediante el gradiente de Percoll. La muestra de sangre total es colocada en el fondo del tubo y posteriormente se adiciona cada gradiente de Percoll por el borde del tubo. Al centrifugar se observan las diversas interfases de separación celular separadas por cada gradiente de Percoll..... 261*

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.1.	<i>Línea del tiempo en la inmunología. Descubrimientos que impactaron el desarrollo de la inmunología</i>	40
Tabla 1.2.	<i>Interacción en la respuesta inmune: fases entre la respuesta inmune innata y adaptativa.....</i>	51
Tabla 1.3.	<i>Características y diferencias entre los mastocitos, basófilos y eosinófilos</i>	69
Tabla 1.4.	<i>Subtipos de linfocitos T y sus receptores: cada población de linfocitos T posee receptores específicos que lo identifican y clasifican según su función dentro de la respuesta inmune.....</i>	78
Tabla 2.1.	<i>Barreras de la inmunidad innata: componentes físicos, químicos, celulares y proteicos que actúan contra un agente agresor por parte de la inmunidad innata.....</i>	91
Tabla 2.2.	<i>Vías del sistema de complemento: componentes y características de activación.....</i>	100
Tabla 2.3.	<i>Función de las anafilotoxinas derivadas de la activación de las moléculas de complemento</i>	108
Tabla 2.4.	<i>Receptores de las moléculas del complemento</i>	109
Tabla 2.5.	<i>Mecanismos reguladores del sistema de complemento</i>	110
Tabla 2.6.	<i>Receptores TLR. Patrones Moleculares Asociados a Patógenos (PAMP) reconocidos por los receptores tipo toll (TLR).....</i>	111
Tabla 2.7.	<i>Familia de las selectinas</i>	117
Tabla 2.8.	<i>Integrinas, ligandos y función.....</i>	118
Tabla 2.9.	<i>Moléculas de la superfamilia de las inmunoglobulinas tipo C2.....</i>	119
Tabla 2.10.	<i>Tipos de macrófagos. Sistema fagocítico mononuclear y tejido donde se encuentra.....</i>	124

Tabla 2.11.	<i>Diferencias entre los PMN y los Mφ</i>	125
Tabla 2.12.	<i>Componentes enzimáticos y proteicos microbicidas que se encuentran en los gránulos de los PMN</i>	134
Tabla 2.13.	<i>Complejo Mayor de Histocompatibilidad en el humano. Cuadro comparativo de las características y funciones de las Moléculas HLA Clase I y HLA Clase II</i>	145
Tabla 2.14.	<i>Polimorfismos de las Moléculas CMH Clase I y Clase II en el humano</i>	148
Tabla 2.15.	<i>CMH y enfermedad. Asociación de antígenos de histocompatibilidad (HLA) con algunas enfermedades.....</i>	152
Tabla 2.16.	<i>Citoquinas (interleuquinas, FNT, IFN, CSF): células que la producen, células blanco y efectos principales que ejercen función en la respuesta inmune</i>	156
Tabla 3.1.	<i>Anticuerpos. Características estructurales y funcionales de los anticuerpos</i>	203
Tabla 4.1.	<i>Inmunodifusión doble de Ouchterlony: las bandas de precipitación de identidad total, es cuando los Acs reconocen el mismo Ag; identidad parcial cuando además de reconocer el mismo Ag, el Ac reacciona contra otros componentes del Ag; no identidad cuando los Acs reconocen diferentes tipos de componentes del Ag ..</i>	222
Tabla 4.2.	<i>Principales fluorocromos comerciales de uso en la citometría de flujo.....</i>	233
Tabla 4.3.	<i>Protocolo para realizar el CH50: las cantidades se encuentran en ml...</i>	250
Tabla 4.4.	<i>Rangos normales de inmunoglobulinas según la edad.....</i>	253

PRÓLOGO

Este libro sobre la inmunología, escrito de manera magistral, describe cómo esta ciencia estudia las defensas de un organismo vivo cuando se enfrenta a un agente agresor. La presente obra es un compendio del proceso de protección que realiza el ser humano. El recorrido parte de su contexto histórico y sigue por cada uno de los componentes orgánicos, celulares y proteicos necesarios para la comprensión del funcionamiento del sistema inmune innato y adaptativo.

Este libro está diseñado para quienes se encuentran realizando estudios en cualquier área de la salud, pues cada temática se presenta de manera sencilla y clara, alcanzando conocimientos que permean la profundización sobre la acción del sistema inmune en diversas áreas como la microbiología, la bacteriología, la medicina, entre otras disciplinas.

Además del contexto teórico del funcionamiento del sistema inmune, se encuentra un capítulo sobre diversas técnicas con fundamento inmunológico, las cuales constituyen un valioso aporte para el desarrollo de pruebas diagnósticas y de investigación basadas en la determinación de antígenos o anticuerpos.

Por último, el desarrollo de este libro ha permitido plasmar conocimientos adquiridos por la experiencia como docente e investigadora en el área de inmunología, y poderlos ofrecer durante décadas a estudiantes del programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.

CAPÍTULO 1

GENERALIDADES

La inmunología es una rama amplia de las ciencias biomédicas y de la medicina que se ocupa del estudio del sistema inmunitario (humano y animal), analiza los mecanismos de protección que poseen los organismos vivos en contra de agresores o antígenos, como son los microorganismos (bacterias, parásitos, virus, hongos) y moléculas (proteínas, toxinas), las cuales se comportan como agentes extraños causantes de patologías infecciosas, contra los cuales los órganos, células y proteínas del huésped actúan de manera coordinada para lograr la eliminación de estos antígenos, dando como resultado una respuesta inmune.

1.1. HISTORIA DE LA INMUNOLOGÍA

Del concepto *inmunidad o defensa contra las infecciones* se habla desde épocas muy remotas. La disciplina de la inmunología surgió cuando se observó que los individuos recuperados de ciertos trastornos infecciosos quedaban protegidos frente a una posible segunda infección. Se sabe que la viruela causaba muchas muertes en una población, para combatir esta amenaza, en China en el año 1.000 a. C., se realizaron los primeros procesos de variolización que consistía en pulverizar costras que provenían de pacientes con viruela para inocular por vía nasal en jóvenes, logrando una inmunidad en los que lograban sobrevivir a este proceso (**figura 1.1**).

El historiador Tucídides cuenta que durante la guerra del Peloponeso en la antigua Grecia –entre el 431 a. C y el 404 a. C.– se refiere una plaga en Atenas en la que *solo los que se habían recuperado de ella podían cuidar a los enfermos porque no contraían el padecimiento por segunda vez*. Cosme y Damían de Arabia, en el siglo IV realizaron un trasplante “exitoso” de una pierna a un paciente enfermo, convirtiéndose en uno de los primeros reportes de transferencia de tejidos en humanos.

Figura 1.1. *Proceso de variolización: implementado por Edward Jenner*



Nota. Tomada de cdn.britanica.com Creative Commons CC 3.0

La presencia de epidemias como consecuencia del crecimiento del imperio Bizantino sucedió en los años 541 a 543 d. C en el Imperio romano, cuando la propagación de una enfermedad proveniente de África causó la *plaga de Justiniano* que producía en los enfermos pústulas, fiebre y ganglios linfáticos inflamados, su contagio se daba en sitios de mayor afluencia de personas, como las iglesias y mercados, pero el mayor problema eran los cadáveres insepultos que causaron una pandemia propagada por las ratas, no obstante, algunas personas lograban recuperarse luego de padecer la enfermedad.

Volviendo a La técnica de variolización, esta fue dada a conocer cuando en la provincia sureña de Sicuani, en China, el hijo mayor del soberano Wang Dan (957 a 1017 d. C) murió de viruela, desesperados por esta enfermedad, se realizó la vacunación con el polvo de las costras de viruela más leve proveniente de niños infectados, macerado que fue pulverizado y conservado en frascos fechados para la inoculación nasal de una cepa tal vez atenuada.

Ibn Sináo Avicena, médico persa, en 980 d. C. propuso que la causa de algunas enfermedades eran pequeñas semillas hoy conocidas como gérmenes. Por otra parte, la peste negra introducida en Europa entre 1347 y 1353 logró eliminar 25 millones de personas y hoy se sabe que el agente causal fue la *Yersinia pestis*, la cual fue transmitida por la picadura de la pulga que estaba en las telas. A consecuencia de esto quemaban toda la ropa de los que padecían la enfermedad, introduciendo el concepto de contagio.

En 1520, el capitán Pánfilo de Narváez llegó al puerto de Veracruz en México, desembarcó esclavos y uno de ellos transmitió la viruela, introduciendo esta enfermedad en el continente americano causando la muerte de mucha población azteca que no tenía defensas contra este virus, a diferencia de los conquistadores españoles.

Lady Mary Montagu (**figura 1.2**), padeció la viruela y de regreso del Imperio turco a Inglaterra en 1716, inició la práctica de la inoculación como profilaxis contra la viruela inoculando a sus propios hijos, pero esta práctica no fue acogida en su medio social. Este procedimiento se generalizó en 1721 después de la epidemia que llegó a América Central y del Norte.

Figura 1.2. *Lady Mary Montagu (1689-17-62) fue la primera persona en intentar difundir la inoculación en Europa para evitar el contagio de la viruela*



Nota. Tomada de Charles Jervas Wikimedia Commons CC0 1.

Desde 1771 Edward Jenner (**figura 1.3**), a quien se le reconoce como el iniciador de la ciencia de la inmunología, identificó una variante leve de la viruela que se daba en las vacas, notó que la población ordeñadora no padecía la viruela de forma mortal, esta observación lo llevó a extraer material de una pústula de la mano de una ordeñadora llamada Sarah Nelmes quien se contagió de la viruela bovina. Este material purulento se lo inoculó a un niño sano de 8 años (James Phipps), el cual presentó síntomas leves hacia el séptimo y noveno día y desarrolló una vesícula en el sitio de inoculación, la cual desapareció posteriormente. Luego inoculó al niño con la viruela y el niño no enfermó. Jenner informó este logro a la Royal Society de Londres, pero su reporte fue rechazado. No obstante, la práctica de la vacunación fue difundida debido a la gravedad de la enfermedad. Cinco años después, en 1805, por orden del Rey Carlos IV de España, se realizó una expedición en México para vacunar a la población, así, el Virrey José de Iturrigaray y sus hijos iniciaron la vacunación en la Nueva España. El audaz experimento de Edward Jenner fue exitoso pues para 1801 ya se habían vacunado más de 100.000 personas, sin embargo tomó casi dos siglos que la vacunación contra la viruela se realizara en todo el mundo.

Figura 1.3. *Edward Jenner (1749-1823). Cirujano que inoculó a un niño de ocho años con material obtenido de una llaga de viruela bovina*



Nota. Tomada de Library London CC BY 4.0

Louis Pasteur, químico francés, en el decenio 1880-1889, refutó la teoría de la generación espontánea a través del proceso de pasteurización y determinó los mecanismos de transmisión de la cólera aviar mediante un experimento infectando a unos pollos con una bacteria denominada *Pasteurella multocida*. Para esta tarea encargó a su ayudante Chamberland, pero ambos estaban de vacaciones y al ayudante se le olvidó realizar la inoculación. Al cabo de un mes regresaron, los pollos estaban intactos y las bacterias estaban íntegras donde las dejaron, pero debilitadas. El ayudante las iba a desechar y Pasteur lo detuvo, inoculó los pollos con esa bacteria debilitada y los animales no murieron.

Pasteur trató de repetir este experimento con un cultivo nuevo que al inyectar sobre los pollos los mataría, no obstante, su abastecimiento de pollos era limitado y tuvo que usar los mismos pollos ya inoculados. Con esto Pasteur concluyó que una versión débil del agente causal de la enfermedad podría desarrollar inmunidad. Para confirmar esto, expuso a los pollos al cólera y sobrevivieron, concluyó que hubo respuesta inmune y a este proceso lo llamó “vacunación” en honor a Edward Jenner quien introdujo las primeras dos vacunas con patógenos atenuados. Pasteur aún desconocía el funcionamiento de la vacuna, entonces vacunó ovejas con el bacilo del carbunco (*Bacillus anthracis*) atenuado con calor. En este experimento solo las ovejas vacunadas vivieron. En 1885, Pasteur vacunó por primera vez a un humano, Joseph Meister, un niño que había sido mordido por un perro con rabia. Pasteur le administró virus de la rabia con lo que evitó el progreso de la enfermedad. Joseph creció y se convirtió en el custodio del Instituto Pasteur (figura 1.4).

Figura 1.4. *Luis Pasteur (1822-1895) químico que desarrolló la pasteurización, la teoría germinal de las enfermedades infecciosas mediante la transmisión de microorganismos y el desarrollo de vacunas*

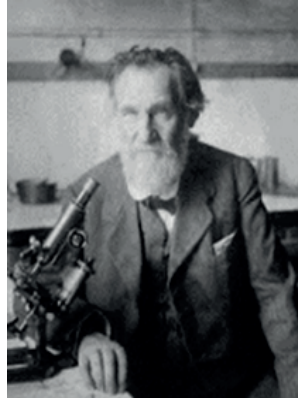


Nota. Tomado de upload.wikimedia.org CC 4.0

El concepto de inmunidad innata se conoció por los trabajos realizados en 1884 por Elie Metchnikoff, microbiólogo ruso quien expuso la teoría de la fagocitosis en la respuesta inmune no específica. La idea surgió al observar una célula ameboide –conocida hoy como macrófago– que migraba hacia una espina que tenía un estrella de mar, concluyó que en la respuesta inmune se dan batallas para lograr sobrevivir e impulsó el conocimiento de la hoy denominada inmunidad innata (**figura 1.5**).

Robert Koch, padre de la bacteriología, demostró que las enfermedades infecciosas son causadas por microorganismos específicos, en 1870 descubrió un bacilo causante del ántrax y en 1882 el microorganismo que produce la tuberculosis. Emil Von Behring y Shibasaburo Kitasato en 1890-1899 descubrieron la antitoxina del tétanos mediante el experimento de inyectar el suero sanguíneo de un animal afectado por el tétanos a otro, el procedimiento genera inmunidad a la enfermedad en el segundo, lo que los hizo pensar que había alguna sustancia en la sangre (antitoxina) que era capaz de controlar la infección causada por las bacterias.

Figura 1.5. *Elie Metchnikoff (1845-1916). Médico ruso que trabajo en el laboratorio de Pasteur investigando los procesos de fagocitosis de bacterias*



Nota. Tomada de: Bain News Service Wikimedia Commons.

Paul Erlich (**figura 1.6**) descubrió la base química que da a la respuesta inmune la especificidad contra el patógeno mediante los receptores externos de las células, que interactúan específicamente con determinados grupos químicos de la toxina con el fin de contrarrestar la enfermedad, si estas células sobreviven a la interacción, se produce un excedente de moléculas que son liberadas por la célula sanguínea en forma de antitoxina circulante, es decir los anticuerpos.

Figura 1.6. *Paul Erlich (1854-1915). Médico y bacteriólogo quien realizo grandes aportes a la inmunología, la quimioterapia y la seroterapia*



Nota. Tomada de Wikimedia Commons CC 4.0

Hacia 1899, Jules Bordet (**figura 1.7**) descubrió el agente causal de la tosferina la *Bordetella pertusis* y produjo una vacuna contra esta enfermedad, además, halló la capacidad bactericida del suero por parte una molécula termoestable, los anticuerpos y una termolábil, el sistema de complemento. Así que los conocimientos dominantes eran de la denominada Inmunidad humoral: moléculas solubles, los humores del organismo.

Figura 1.7. Jules Bordet: (1870-1961) médico destacado por estudios en inmunología especialmente en el sistema de complemento



Nota. Tomado de https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/ed/Jules_Bordet_nobel.jpg

Charles Richet introdujo el término *anafilaxia* que significa hipersensibilidad desarrollada por un organismo después de recibir una inyección parenteral de una toxina. En 1902 realizó experimentos en perros con una toxina de las medusas. Uno de los animales fue inoculado con una pequeña dosis y desarrolló síntomas como urticaria, somnolencia y descenso de la temperatura. Un mes después se le inyectó la misma dosis y el perro enfermó gravemente, a los 25 minutos murió, como resultado de este experimento surgió el término anafilaxia o anafilaxis.

Diferentes científicos probaron durante la década siguiente, que un componente activo del suero inmune podía neutralizar y precipitar toxinas y aglutinar bacterias. Este componente activo recibió nombres como antitoxina, precipitina y aglutinina. En 1930 Elvin Kabat demostró que la fracción de suero gamma (inmunoglobulinas) era la que generaba todas estas actividades. Las moléculas activas de esta fracción se llamaron *anticuerpos*.

Karl Landsteiner observó que al mezclar la sangre de dos personas había ocasiones en que los glóbulos rojos se aglutinaban formando grumos visibles; el científico encontró tres tipos distintos de glóbulos rojos denominados A, B y O, que daban lugar a reacciones de aglutinación.

Por su parte, Peter Medawar en 1949 desarrolló el concepto de *tolerancia inmunológica* al investigar sobre los trasplantes de piel durante la Segunda Guerra Mundial, más adelante, en 1953, investigó cómo el feto no desencadena las defensas de la madre y esta tolerancia solo se da en la gestación.

Frank Macfarlane Burnet, estimuló un linfocito en sus receptores el cual después de reconocer el estímulo causó proliferación y diferenciación de estas células con las mismas características de reconocimientos de los linfocitos originales.

George Snell descubrió factores genéticos que participan en los reconocimientos de los tejidos trasplantados entre individuos de una misma especie y que el éxito de este proceso dependía de las moléculas proteicas de la superficie celular que tienen estructuras diferentes entre los individuos y los denominó *genes del Complejo Mayor de Histocompatibilidad*.

En 1983, Luc Montagnier, virólogo francés, descubrió el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), antes denominado virus asociado a linfadenopatía (LAV), y en 1984 Robert Gallo confirmó que este virus es causante del SIDA y fue el grupo de investigación que logró el primer aislamiento.

Podemos constatar entonces que la inmunología es una ciencia dinámica y en constante actualización. Gracias a cada descubrimiento y a la tecnología de punta, se han podido dilucidar los componentes celulares, proteicos y moleculares, la función de cada uno de ellos dentro del sistema inmune y la interrelación entre sus componentes. La **tabla 1.1** ilustra el desarrollo histórico de la inmunología.

Tabla 1.1. Línea del tiempo en la inmunología. Descubrimientos que impactaron el desarrollo de la inmunología

Año	Autor	Descubrimiento
1798	Edward Jenner	Vacunación con virus de viruela bovina
1862	Erns Haeckel	Reconocimiento de la fagocitosis
1879	Louis Pasteur	Vacuna atenuada contra cólera aviar
1883	Elie Metchnikoff	Teoría celular de la vacunación, fagocitosis
1885	Louis Pasteur	Vacuna contra la rabia

1888	Pierre Roux y Alexandre Yersin	Toxinas bacterianas
1894	Jules Bordet	Anticuerpos y complemento en lisis bacteriana
1902	Paul Porter y Charles Richet	Anafilaxia
1907	Svante Arrhenius	Introducción a la inmunoquímica
1910	Peyton Rous	Teoría de la inmunidad viral
1917	Karl Landsteiner	Haptenos
1934-8	John Marrack	Hipótesis de la unión antígeno-anticuerpo
1941	Albert Coons	Técnica de Inmunofluorescencia
1942	Jules Freund y Caterine McDermott	Adyuvantes
1942	Karl Landsteiner y Merrill Chase	Transferencia de células en cobayos para sensibilidad por anafilaxis
1948	Astrid Fagraeus	Demostración de producción de anticuerpos por células plasmáticas B
1949	McFarlane Burnet y Frank Fenner	Hipótesis de la tolerancia inmunológica
1950	Richard Gherson y K. Kondo	Células T supresoras
1953	Rupert Billingham, Leslie Brent, Peter Medawar, Milan Hasek	Experimentos de tolerancia inmunológica
1955-9	Niels Jerne, David Talmage, Macfarlane Burnet	Teoría de la selección clonal
1957	Alick Isaacs y Jean Lindemann	Interferón
1961-2	Jaques Millar <i>et al.</i>	Participación del timo en la inmunidad celular
1961-2	Noel Warner <i>et al.</i>	Distinción entre la respuesta inmune celular y humoral
1964-8	Anthony Davis <i>et al.</i>	Cooperación entre los linfocitos T y B en la respuesta inmune
1965	Thomas Tomasi <i>et al.</i>	Inmunoglobulinas secretoras
1967	Kimishige Ishizaka <i>et al.</i>	IgE como anticuerpo en la anafilaxia
1975	Kholer y Milstein	Anticuerpos monoclonales
1975	Kiessling	Identificación de las células NK

1980	Baruj Benacerraf, Jean Dausset, George Davis Snell	Estructuras genéticas de la superficie celular que regula reacciones inmunológicas
1980	Reinherz	Define marcadores para diferenciar LT y LB
1984	Organización Mundial de la Salud	Establece la nomenclatura oficial para definir las subpoblaciones de linfocitos (<i>Cluster of Differentiation</i> CD)
1986	Mosmann y Coffman	Identificación de las subpoblaciones de los LT CD4+, Th1 y Th2
1987	Susumu Tonegawa	Mecanismo genético que produce la diversidad de anticuerpos
1996	Hoffman y Lemaitre	Mutación en Toll en el desarrollo de la mosca <i>Drosophila megalonaster</i>
1997	Medzhitov y Janeway	TLR-4
1997	Stanley B. Prusiner	Prion como partícula infecciosa
2001	Sidney Brenner	Muerte celular programada
2007	Mario R. Capecchi	Células madre y manipulación genética
2011	Bruce Beutler, Jules Hoffman, Ralph M. Steinman	Aportes en inmunología y vacunas
2016	Yoshinori Ohsumi	Mecanismos de autofagia
2017	Tasuku Honjo, James P. Allison	Papel del sistema inmune en la regulación del cáncer
2018	James P. Allison y Tasuku Hongo	Terapia del cáncer mediante la inhibición de la regulación inmunológica negativa
2019	William Kaerlin, Gregg Semenza, Peter Ratcliffe	Adaptación de las células a la disponibilidad de oxígeno
2020	Harvey James Alter	Premio Nobel por sus investigaciones en virus de la hepatitis C

1.2. ANTÍGENO

Por definición, un **antígeno** es toda molécula extraña que es capaz de despertar respuesta inmune y reaccionar con las células y proteínas que componen las defensas del organismo para su eliminación, pero este resultado depende de las características físicas y químicas que la molécula posea.

El **inmunógeno** es toda molécula que cumple con las características físicas y químicas para despertar la respuesta inmune. Es decir que no todo antígeno es inmunógeno.

La **inmunogenicidad** y la **antigenicidad** son propiedades inmunológicas relacionadas, pero distintas. Inmunogenicidad es la capacidad para inducir respuesta inmune humoral o celular o ambas, mientras que antigenicidad es la capacidad de combinarse de forma específica con los productos finales de la respuesta inmune (anticuerpos, receptores celulares).

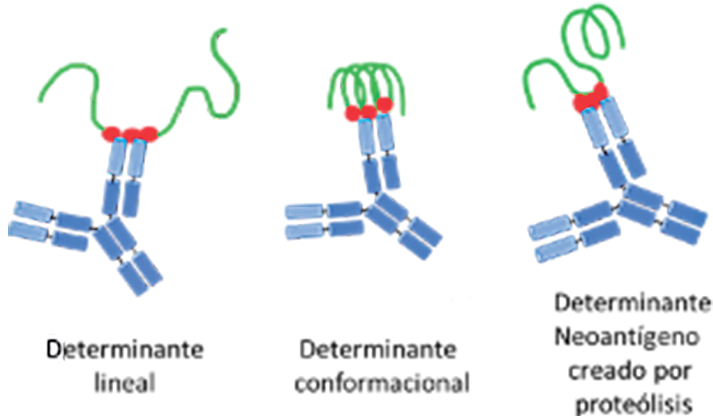
Un **epítopo** o determinante antigénico, es la región con actividad inmunológica de la porción del inmunógeno que desencadena la respuesta inmune y es reconocido por los anticuerpos o los receptores de los linfocitos T (TCR) o de los linfocitos B (BCR). Existen diferentes tipos de epítomos:

- Epítopo conformacional o discontinuo: epítomos con una secuencia continua de aminoácidos que se aproximan entre sí por el plegamiento o conformación tridimensional de la proteína.
- Epítopo lineal o continuo: epítopo con secuencia continua de aminoácidos de forma lineal que son reconocidos si se encuentran en la superficie de la molécula o luego de la desnaturalización de la proteína.
- Epítomos nuevos o neodeterminantes antigénicos: epítomos nuevos que aparecen luego de la modificación enzimática de la proteína procesada (figura 1.8).

El término **hapteno**, introducido por Karl Landsteiner (1917), fue definido como partícula orgánica pequeña que es antigénica pero no inmunogénica y que requiere de un transportador (proteína grande, lípido, aminobenceno) para desencadenar una respuesta inmune.

Por otra parte, los **coadyuvantes**, son sustancias que, inoculadas con el antígeno, potencializan la respuesta inmune del huésped. Utiliza varios mecanismos para lograr su efecto en la respuesta inmune, como ser facilitadores de la presentación del antígeno y prolongar su persistencia, promover e incrementar las señales coestimuladoras de la respuesta inmune, propiciar la inflamación local e incentivar la proliferación linfocitaria y la polarización Th1/Th2. Los adyuvantes se usan en procesos de vacunación humana y animal con antígenos de inmunogenicidad baja o de baja concentración, para producir anticuerpos mono y policlonales para el estudio de la respuesta inflamatoria en biomodelos experimentales y evaluar reacciones de hipersensibilidad.

Figura 1.8. Estructura de los epítomos diversas formas del reconocimiento de los epítomos por parte de los anticuerpos



Nota. Elaboración propia.

1.2.1. CARACTERÍSTICAS DE UN INMUNÓGENO

La inmunogenicidad depende de varias propiedades del inmunógeno: características físicas como el tamaño molecular, características químicas como su composición y complejidad química, la alteralidad y la capacidad para ser procesados y presentados por el Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) en la superficie de una célula presentadora de antígeno o una célula propia alterada. Además, para que el inmunógeno despierte respuesta inmune, hay que tener en cuenta la constitución genética del organismo inmunizado ya que el control genético de la respuesta inmune es limitado por los genes del CMH. Para lograr despertar la respuesta inmune, los inmunógenos deben cumplir con las características que se explican a continuación.

1.2.1.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS

- **Alteralidad y origen**

Para inducir una respuesta inmune, el sistema biológico debe reconocer a la molécula como extraña. Este reconocimiento depende de lo que en el proceso de maduración de los linfocitos T, estos hayan reconocido como propio y sea tolerado. La gran mayoría de antígenos del organismo son presentados en esta etapa de maduración, sin embargo, hay antígenos que no fueron expuestos a los LT inmaduros, los que en el futuro pueden ser reconocidos como extraños.

Cuando un antígeno ingresa al organismo, la respuesta inmune que activa depende de su grado de alteridad, es decir, cuanto más distante filogenéticamente esté el antígeno entre especies, más grandes son sus diferencias estructurales y por ende va a ser más inmunógena. Es decir, cuando estimulamos el organismo con proteínas de su misma especie, la gran mayoría no va a despertar respuesta inmune. Por ejemplo, si inmunizamos una vaca con albúmina bovina, esta proteína no va a ser reconocida como extraña porque es la misma albúmina que posee el receptor, pero si inmunizamos con albúmina bovina a un ratón, este la va a reconocer como extraña y va a producir respuesta inmune contra la proteína por la distancia filogenética entre los dos organismos. Sin embargo, existen antígenos propios o de la misma especie que, bajo ciertas condiciones, pueden despertar respuesta inmune.

- **Tamaño**

Se ha observado que el tamaño influye en la inmunogenicidad y está directamente relacionado con el peso molecular, el cual debe ser superior a los 5.000 daltons (d) y un peso óptimo para desencadenar respuesta inmune debe ser mayor a 100.000 d.

- **Carga eléctrica**

Las células del organismo presentan una composición iónica diferente con respecto al líquido extracelular, dada la permeabilidad selectiva de la membrana plasmática principalmente al Na^+ , al K^+ y al Cl^- . El resultado de esta distribución asimétrica es la polarización de la membrana, que presentará una carga eléctrica positiva en su superficie externa y una carga negativa en el contenido intracelular. Así mismo, las proteínas del sistema inmune, como los anticuerpos, en la porción que reconoce el antígeno es amino-terminal con carga positiva. Por lo anterior, si el antígeno o inmunógeno tiene carga eléctrica, especialmente negativa, van a tener mayor afinidad por los receptores y moléculas del sistema inmune para ser reconocidos.

- **Complejidad**

Las moléculas que tengan estructuras químicas de mayor complejidad van a ser más extrañas para el sistema inmune. Ejemplo: si la molécula tiene grupos aromáticos, como el benceno, hace que incremente la respuesta inmune.

- **Concentración**

Cada inmunógeno experimental evidencia una curva de dosis y respuesta particular, que se determina al medir la reacción inmunitaria a diferentes dosis

y vías de inoculación. En procesos de inmunización de un individuo, se realizan inoculaciones periódicas del antígeno para lograr el efecto esperado que es la producción de anticuerpos. La concentración del antígeno debe ser la adecuada; una dosis ineficaz no estimulará la respuesta inmune porque no activa los linfocitos o con dosis bajas se puede inducir un estado de falla en la respuesta inmunitaria o inducir tolerancia; por el contrario, si las dosis de las inoculaciones están a altas concentraciones de antígeno, puede dar como resultado parálisis inmunológica.

- **pH**

El pH del medio donde se encuentra el antígeno, le va a conferir las características a la molécula para ser más inmunógena. Por ejemplo: poseer aminoácidos básicos fuertes como la tirosina y la fenilalanina aumenta la capacidad inmunógena y el medio donde se encuentre la molécula puede proporcionar carga eléctrica que le va a dar más inmunogenicidad.

- **Configuración óptica**

Las moléculas, especialmente las proteínas, tienen estructuras tridimensionales y si se encuentran en una solución por la que se hace pasar luz polarizada, esta puede tomar dos vías: si logra atravesar la molécula y se dirige al lado izquierdo de la misma, se le llama levógira; si la luz se desvía hacia el lado derecho, se llama dextrógira. Las moléculas levógiras son más fácilmente degradables, se pueden evidenciar los epítomos que la componen, por lo tanto son más inmunógenas. Las dextrógiras no lo permiten ya que sus epítomos no son fácilmente reconocidos.

- **Vía de ingreso del inmunógeno**

Los antígenos que ingresan por mucosas oral, respiratoria, digestiva y genitourinaria van a ser presentados en los nódulos linfáticos submucosos y los ganglios linfáticos cercanos. Por lo general, los inmunógenos experimentales se administran por vía parenteral distinta al sistema digestivo, como es la vía intravenosa que presenta los antígenos directamente en el bazo; la vía subcutánea e intradérmica que permite la presentación de los antígenos en los ganglios linfáticos locales; otras vías de inoculación menos frecuentes son la intramuscular e intraperitoneal. En estos ensayos experimentales, es importante tener en cuenta este aspecto, ya que de la vía de ingreso puede resultar una respuesta inmune exitosa o no.

1.2.1.2. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS

Las moléculas más inmunógenas son las proteínas en las que los epítomos peptídicos generados de una proteína deben tener entre 8 y 10 aminoácidos como

mínimo. Los carbohidratos son moléculas complejas que pueden generar una respuesta inmune de manera individual, como los monosacáridos o combinados como glicoproteínas, fosfolípidos y glicolípidos. Los lípidos y las lipoproteínas pueden activar a los LT $\gamma\delta$ y los lipopolisacáridos son reconocidos por los Receptores Semejantes al Toll (TLR 4) para iniciar la respuesta inmune al producir citoquinas proinflamatorias.

1.2.2. TIPOS DE ANTÍGENO

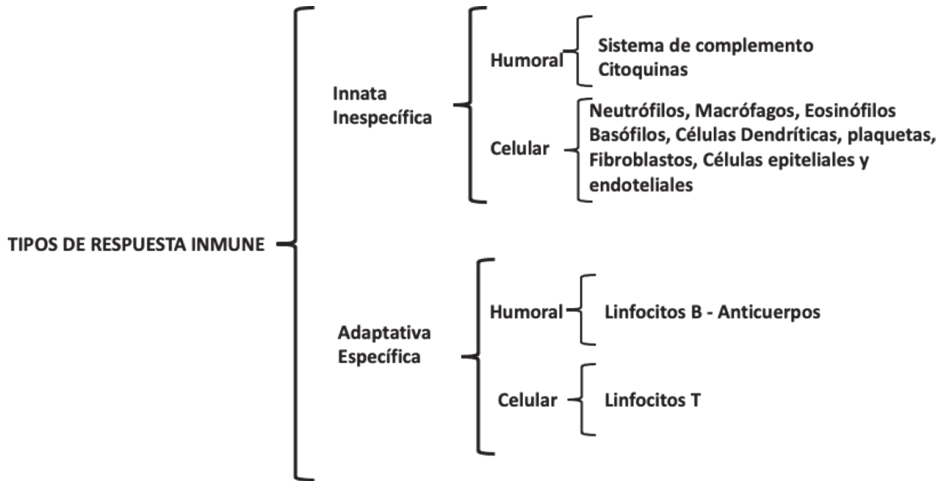
- **Naturales:** son los antígenos que se encuentran en la naturaleza y pueden provenir de microorganismos, células animales, alimentos y plantas y que en circunstancias especiales puede desencadenar repuesta inmune.
- **Artificiales:** antígenos que han sido producidos en laboratorio mediante la unión de un inmunógeno y su transportador (hapteno).
- **Sintético:** son polipéptidos producidos mediante síntesis química en el laboratorio semejantes a epítomos originales de una proteína Eemplo:: vacunas sintéticas.
- **Autoantígeno:** antígenos propios del individuo y que en condiciones normales no son reconocidos como extraños.
- **Aloantígeno:** antígeno que se comparte con un individuo de la misma especie, genéticamente diferente. Ejemplo: personas que comparten el mismo grupo sanguíneo pero que son individuos genéticamente diferentes.
- **Antígeno de especie:** cada especie animal y humana posee sus propios antígenos.
- **Antígeno leucocitario:** es el mismo Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) que en el humano se denomina HLA (Antígeno Leucocitario Humano) que cumple funciones de reconocimiento de lo propio, diferencia individuos entre especies y dentro de la misma especie y presenta epítomos a los linfocitos para desencadenar una respuesta inmune.
- **Antígeno eritrocitario:** glicoproteínas que están en la superficie de los GR y determinan el grupo sanguíneo del individuo.
- **Antígenos ocultos:** son antígenos que permanecen dentro de los órganos protegidos por barreras, son indetectables para el sistema inmune (ojo, cerebro, testículo), pero por disrupción de dichas barreras, estos antígenos pueden despertar respuesta inmune.
- **Antígeno tumoral:** son los producidos por la modificación de las células propias en células tumorales y se expresan en la membrana celular.

- **Antígenos modificados:** son los que por medios físicos o químicos alteran la estructura inicial del mismo. Ejemplo: de toxina a toxoide.
- **Antígeno de reacción cruzada:** es cuando un anticuerpo reconoce una molécula que no ha actuado como antígeno, pero que sí comparte en su estructura componentes con otro antígeno y confunden el reconocimiento por parte del Ac.
- **Antígenos heterófilos:** son los antígenos que se comparten entre dos especies diferentes. Ejemplo: el antígeno de Forssman lo tienen las ovejas y los humanos
- **Alergeno:** antígeno que estimula la respuesta inmune en un individuo que tenga predisposición genética a sufrir alergias.
- **Antígeno timodependiente:** son antígenos que estimulan la producción de citoquinas por parte de los LT para inducir la producción de los anticuerpos por parte de los Linfocitos B.
- **Antígeno timoindependiente:** son antígenos que solo están en capacidad de estimular la producción de IgM por parte de los linfocitos B y no inducen la estimulación de los linfocitos T.
- **Superantígeno:** es un antígeno que une la cara externa del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) Clase II que se expresa en la membrana de la Célula Presentadora de Antígeno (CPA) y el dominio β variable del Receptor de la Célula T (TCR) en el de un LT. Esta unión produce una sobreestimulación de la respuesta por parte de los LTh productores de citoquinas. Hay dos respuestas como resultado de la activación de un superantígeno, la parálisis inmunológica por sobreestimulación de activación de los LT o la activación de un LT autorreactivo que puede dar como resultado una enfermedad autoinmune. Los superantígenos más reconocidos son las toxinas de origen bacteriano.
- **Xenoantígeno:** antígenos que provienen de una especie diferente.

1.3. TIPOS DE RESPUESTA INMUNE

Existen varios tipos de respuesta inmune encargadas de eliminar los microorganismos o sustancias extrañas que afectan al huésped. Tanto la respuesta inmune innata, que es inespecífica, como la adaptativa, altamente específica, tienen componentes humorales (proteínas) y celulares que de manera coordinada interactúan para cumplir su función inmunológica (**figura 1.9**).

Figura 1.9. *Tipos de respuesta inmune: componentes de la respuesta inmune innata y adaptativa celular y humoral*



1.3.1. RESPUESTA INMUNE INNATA

Constantemente el organismo está en contacto con microorganismos que compiten con los residentes no patógenos por espacio y nutrientes. La respuesta inmune innata está compuesta de mecanismos bioquímicos y celulares presentes desde la creación de cada organismo antes de que suceda algún proceso infeccioso y están preparados para responder con rapidez ante cualquier microorganismo. Las barreras de la inmunidad innata impiden que la mayoría de los agentes logren causar infección, sin embargo, si estos logran atravesar las barreras físicas o químicas, pueden ser eliminados en pocos días gracias a la acción de los componentes de la inmunidad innata, que están a disposición en todo momento y son eficaces desde el inicio de la infección cuando células y proteínas inmunológicas detectan el patógeno e inducen la respuesta eficaz contra él.

La inmunidad innata comprende cuatro barreras de defensa: *i)* anatómica, *ii)* fisiológica, *iii)* fagocítica y *iv)* inflamatoria. Entre las barreras anatómicas están la piel y las mucosas; como barrera fisiológica está la temperatura, el pH bajo y los mediadores químicos; como barrera fagocítica está la fagocitosis realizada por los polimorfonucleares neutrófilos (PMN), los macrófagos (Mφ) y las células dendríticas (CD) y como barrera inflamatoria, proteínas séricas con actividad antimicrobiana como el sistema de complemento (ver **figura 1.9**).

La respuesta inmune innata no deja memoria, es inespecífica, es decir, siempre va a actuar en contra de los patógenos con herramientas y mecanismos acordes con el tipo de microorganismo para que su eliminación sea exitosa; es el caso

de los agentes intracelulares, la respuesta inmune requiere destruir la célula, lo que interfiere con el ciclo del patógeno y es expuesto a moléculas solubles del sistema inmunitario. A pesar de las diferencias entre bacterias, virus, parásitos y hongos, pasan por un tiempo en los espacios extracelulares donde pueden ser detectados por moléculas efectoras del sistema inmune.

1.3.2. RESPUESTA INMUNE ADAPTATIVA

Cuando un patógeno no se logra eliminar por medio de la inmunidad innata, se produce una respuesta contra el microorganismo que se adapta a este, aumenta en magnitud y defensa con cada exposición sucesiva al mismo, es altamente específica contra el antígeno y deja memoria contra este patógeno, la cual es rápida y eficaz en un contacto repetitivo con el mismo. Su especificidad se debe a que es capaz de distinguir entre moléculas y microorganismos diferentes o muy relacionados entre sí, debido a esto también se denomina inmunidad específica característica que adquiere el sistema inmune por los contactos previos con el agente y se denomina inmunidad adquirida.

Las células que participan la respuesta inmune adaptativa son los linfocitos T, encargados de la respuesta inmune celular específica y los linfocitos B y sus productos los anticuerpos encargados de la respuesta inmune humoral específica (**figura 1.9**). Los anticuerpos son glicoproteínas de cinco tipos denominadas también inmunoglobulinas (Igs): IgG, IgM, IgA, IgE e IgD. Están encargadas de reconocer el antígeno que los estimuló y generar funciones biológicas en contra del patógeno para su eliminación, como es el caso de la activación del sistema de complemento por la IgG, IgM e IgA; permitir que se realice la citotoxicidad mediada por las NK por la IgG; actuar en contra de parásitos mediante la activación de los eosinófilos por acción de la IgE; intervenir en procesos de inflamación activando los basófilos por la IgG e IgE; dejar memoria para actuar de manera eficiente y rápida ante un segundo contacto por la IgG; proteger las mucosas realizando una barrera proteica específica mediante la IgA, entre otras funciones. Las características de estas glicoproteínas y su función en el sistema inmune se encuentran en el capítulo 3 (Inmunidad adaptativa).

Existe un vínculo entre la inmunidad innata y la adaptativa y es que la inmunidad innata estimula e influye en el tipo de inmunidad adaptativa contra el patógeno, y la inmunidad adaptativa utiliza mecanismos de la respuesta inmune innata para ejercer su efecto sobre el microorganismo, todo con el fin de eliminar el agente que causó su activación en minutos, horas, días o semanas (**tabla 1.2**).

Tabla 1.2. *Interacción en la respuesta inmune: fases entre la respuesta inmune innata y adaptativa*

Tipo de respuesta	Acción efectora para eliminar el patógeno
R. I. Innata	Inflamación, activación de complemento, activación de los TLR, fagocitosis y destrucción del patógeno
	Presentación de antígeno por parte de las CPA (Mφ, CD) a los linfocitos T, interacción celular por acción de las moléculas de adhesión celular, proliferación y diferenciación de los linfocitos T (Th1, Th2, Th17, Tc1, Tc2), producción de citoquinas
	Activación de los linfocitos B
	Producción de linfocitos T efectores y de memoria
R. I. Adaptativa	Interacción de linfocitos T y B, producción de células plasmáticas, linfocitos B de memoria y producción de anticuerpos
	Salida de los linfocitos efectores de los órganos linfoides secundarios periféricos
	Eliminación del patógeno por acción de las células efectoras y los anticuerpos
Memoria de los LT y LB	Son los que protegen el organismo ante un nuevo contacto con su antígeno específico y mantienen el título de anticuerpos en suero y mucosas

1.3.3. RESPUESTA INMUNE ACTIVA NATURAL

Es la inmunidad que adquiere el organismo al entrar en contacto con un patógeno produciendo defensas celulares y proteicas contra el mismo, es decir, produciendo anticuerpos y linfocitos de memoria específicas que se dan cuando se supera de manera exitosa un proceso infeccioso causado por cualquier tipo de patógeno.

1.3.4. RESPUESTA INMUNE ACTIVA ARTIFICIAL

Es el tipo de respuesta inmune que se logra en procesos de inmunización como la vacunación, donde el organismo entra en contacto con patógenos vivos atenuados, muertos, porciones antigénicas del microorganismo o cadenas de aminoácidos del patógeno sintetizadas *in vitro*, que al ser reconocidos como

extraños, son capaces de inducir una respuesta inmune de memoria con linfocitos y anticuerpos que van a reconocer el patógeno en contactos posteriores, lo neutralizan y no permiten que se produzca infección y enfermedad.

1.3.5. RESPUESTA INMUNE PASIVA NATURAL

Son los anticuerpos que produjo la madre al entrar en contacto con diferentes patógenos, y en el momento del embarazo son transferidos de madre a feto por medio de la circulación materno fetal, específicamente IgG, la cual es la única inmunoglobulina que logra atravesar la placenta. Además, cuando nace el bebé, a través del calostro y la leche materna, la madre le está suministrando IgA. Estos anticuerpos permiten defender al bebé durante los primeros 6 a 8 meses de vida, mientras desarrolla su propia respuesta inmune (respuesta inmune activa natural). Cuando estos anticuerpos desaparecen, el bebé aún no ha logrado producir el pico máximo de anticuerpos, este periodo de transición se denomina inmunodeficiencia transitoria del lactante, la cual desaparece hacia los 10 a 12 meses de vida, cuando ya tiene un arsenal de anticuerpos que lo defiende de los agentes agresores que le rodean, adquiridos por la inmunidad activa natural o artificial.

1.3.6. RESPUESTA INMUNE PASIVA ARTIFICIAL

Este tipo de respuesta inmune no requiere presencia del antígeno, es una inmunidad prestada en la que en el huésped se introducen anticuerpos sintetizados por otro individuo para defender específicamente contra el patógeno. Es el caso de los sueros hiperinmunes que contienen anticuerpos contra una patología determinada, estos pueden ser obtenidos en animal (generalmente caballo) de donde se aíslan y purifican los anticuerpos del suero para ser inoculados en la persona infectada o pueden ser anticuerpos obtenidos del suero de una persona que ha superado el proceso infeccioso. Estos sueros hiperinmunes se usan en casos tales como sospecha de infecciones en mujeres embarazadas con miras a evitar una infección congénita o en pacientes que presenten inmunodeficiencias. La acción contra el patógeno es bastante rápida, pero los anticuerpos suministrados tienen duración limitada (semanas) y en el caso de sueros hiperinmunes obtenidos en animales, pueden causar reacciones de rechazo.

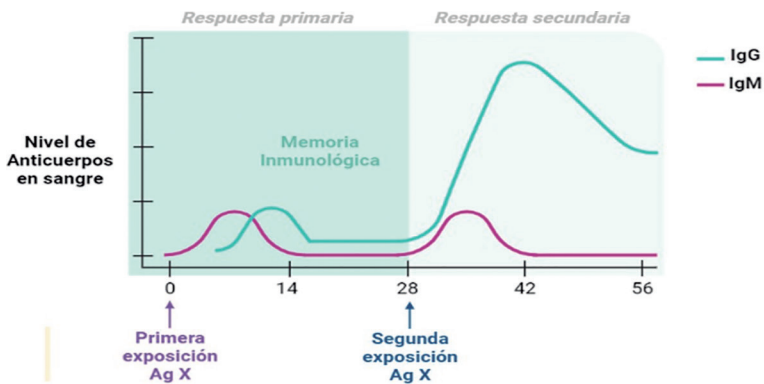
1.3.7. RESPUESTA INMUNE PRIMARIA Y SECUNDARIA

Este tipo de respuesta está a cargo de proteínas circulantes altamente específicas producidas por los linfocitos B, denominadas anticuerpos (Acs) o inmunoglobulinas (Igs), de las cuales hay cinco: IgG, IgM, IgA, IgE e IgD. Estos actúan en diferentes lugares del organismo y con diversas funciones efectoras.

Los primeros anticuerpos que se producen son los de tipo IgM que son de baja afinidad, pero con mayor capacidad de enlace con el antígeno ya que tienen diez sitios de unión en su región variable, esto confiere una gran avidéz pero requiere de altas dosis de antígeno. Debido a su estructura, tiene la capacidad de activar eficientemente las proteínas del Sistema de Complemento, lo que permite actuar en los primeros estadios de la infección y así evitar consecuencias funestas. Esta respuesta primaria se da en la primera semana de contacto con el microorganismo y llega a su pico máximo a los siete días, para luego iniciar su disminución en la concentración sérica (segunda semana).

La respuesta secundaria que se activa por los linfocitos de memoria generados en la respuesta primaria, es más rápida (tres días), está a cargo de la IgG; la respuesta máxima de IgG es 100 a 1.000 veces mayor que en la respuesta primaria y de mayor afinidad por el antígeno, es inducida por bajas dosis de antígeno, dura más tiempo, aunque se producen cantidades pequeñas de IgM, y algo de IgA e IgE (figura 1.10).

Figura 1.10. Respuesta inmune primaria y secundaria: tiempo en días de aparición y duración de la respuesta inmune primaria y secundaria y anticuerpo que la dirige



Nota. Imagen generada por inteligencia artificial a través de ChatGPT. OpenAI, 2025 <https://chat.openai.com>.

1.4. COMPONENTES DEL SISTEMA INMUNE

1.4.1. ÓRGANOS

Los órganos y las células que lo conforman son los que participan funcionalmente en la defensa del organismo, permiten la producción y maduración de células inmunes y la presentación de los antígenos induciendo una respuesta

inmune. Los órganos se clasifican en primarios, secundarios y terciarios según su función fisiológica e inmunológica.

1.4.1.1 ÓRGANOS PRIMARIOS

1.4.1.1.1. Médula ósea

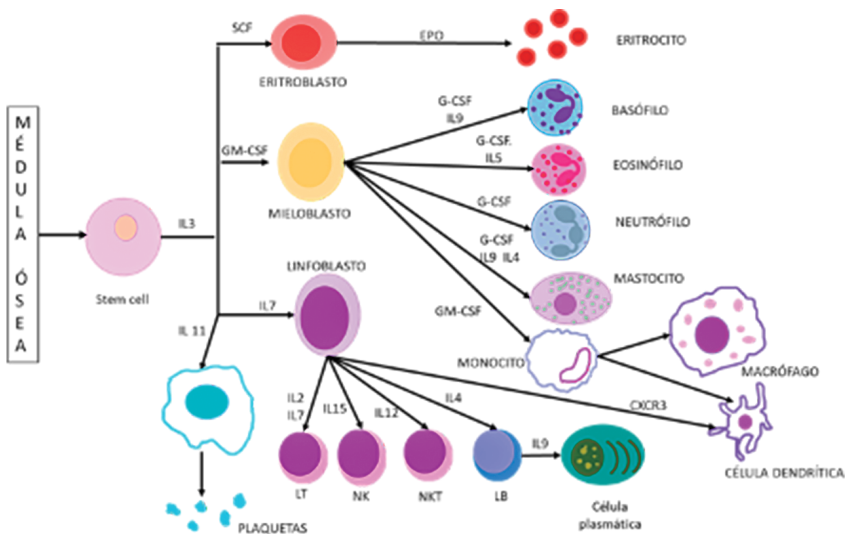
La médula ósea es el tejido inmunológico más abundante, se encuentra principalmente en el interior de los huesos largos y esponjosos como el esternón, las vértebras, los huesos ilíacos y las costillas. Es el principal órgano hematopoyético, es decir, que su función es la producción y maduración de toda la línea celular que se encuentra en la circulación sanguínea y linfática. Está compuesta de células precursoras sanguíneas desde las pluripotenciales, que gracias al estímulo de proteínas inmunes denominadas citoquinas, logra producir líneas celulares maduras excepto los linfocitos T ya que estos maduran en el timo (**figura 1.11**). La médula ósea también es rica en macrófagos, células reticulares, células del estroma y tejido adiposo; además, es alimentada por arterias que desembocan en senos venosos

La función de hematopoyesis se inicia cuando la célula madre (*Stem Cell*) es estimulada por proteínas como las citoquinas (interleuquinas IL) y los factores estimuladores de colonias (FSC), que son producidas por células del estroma y macrófagos, lo que le proporciona el medio apropiado para la hematopoyesis y un mecanismo para reconstruir los leucocitos que han sido consumidos durante la respuesta inmune (**figura 1.11**). Las interleuquinas y los FEC permiten a las células progenitoras transformarse en diferentes líneas celulares dentro de las cuales están:

- *Línea mieloide*: la célula progenitora mieloide por acción del Factor Estimulador de Colonia Granulocito-Monocito (FSC-GM) se diferencia en línea granulocítica y monocítica. La línea granulocítica por acción del FSC-G da origen a los basófilos, eosinófilos, neutrófilos y mastocitos. De la línea monocítica, gracias al estímulo del M-CSF, maduran los monocitos que posteriormente llegan a ser los macrófagos y a las células dendríticas (**figura 1.11**).
- *Línea eritroide*: la célula progenitora hematopoyética Stem cell da origen a la Unidad Formadora de Colonia Eritroide (UFC-E) que recibe el estímulo de la hormona eritropoyetina para replicar las células y diferenciarlas en eritrocitos o glóbulos rojos. Las etapas de maduración son proeritroblasto, eritroblasto basófilo, eritroblasto policromatófilo, eritroblasto acidófilo, reticulocito y eritrocito o glóbulo rojo (**figura 1.11**).

- **Línea megacariocítica:** en la trombopoyesis interviene la IL-11 donde la célula madre, que también recibe el estímulo de la hormona trombopoyetina, da origen a los megacarioblastos que luego de sucesivas divisiones produce el promegacariocito, posteriormente el megacariocito granular y por último el megacariocito, célula de la médula ósea de mayor tamaño que, finalmente, es la que da origen a las plaquetas (figura 1.11).

Figura 1.11. Hematopoyesis: etapas de producción y maduración de las líneas celulares eritroide, mieloblástica, linfoblástica y megacariocítica, desarrolladas en la médula ósea y las citoquinas que intervienen en cada etapa del proceso



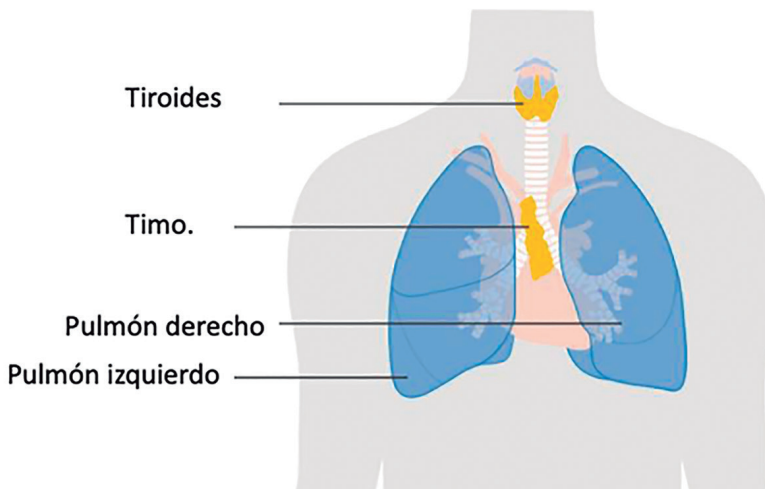
- **Línea linfoide:** se ha identificado un grupo de células progenitoras que genera precursores linfoides comunes para células T, B, Natural Killer (NK) y células dendríticas. Por estímulo de la IL 12, el linfoblasto se diferencia en Natural Killer (NK), y por acción de la IL 15 el linfoblasto se diferencia en NKT. Parte de los linfoblastos precursores son estimulados por La IL 4 para que se diferencie e inicie el proceso de maduración como linfocito B. El proceso de maduración de los linfocitos B inicia en la etapa pro-B que por acción de la IL 7 expresan en su membrana moléculas CD34 y CD19, prosiguen a Pre-B al perder el CD34 y expresar en la membrana moléculas BCR (receptor de célula B) que es un anticuerpo tipo IgM monomérico, luego expresan el anticuerpos IgD en su membrana, que indica madurez del linfocito B. Dentro de este proceso de maduración, el BCR que reconoce antígenos propios es eliminado por apoptosis (selección negativa) y los que aún siguen en la capacidad de reaccionar

contra antígenos propios son eliminados en el bazo (figura 11). El linfocito B maduro y autotolerante sale a los órganos linfoides secundarios y a circulación para recibir el estímulo antigénico y culminar su última etapa de maduración en célula plasmática que finalmente es la productora de anticuerpos. Por otra parte, la IL 2 y la IL 7 permiten la diferenciación en linfocitos T que salen de la médula ósea y se dirigen hacia el timo para realizar y completar su proceso de maduración (figura 1. 11).

1.4.1.1.2. *Timo*

El timo es un órgano donde los linfocitos T que se produjeron en la médula ósea, sufren un proceso de maduración, proliferación, selección y diferenciación antes de salir al torrente circulatorio y ubicarse en los órganos linfoides secundarios en espera de estímulo antigénico. Este órgano se encuentra en el mediastino anterior, detrás del esternón. Al momento de nacimiento del bebé, este órgano pesa 70 g, alcanza su mayor tamaño en la pubertad y luego se atrofia con una disminución considerable de las células corticales y medulares hasta llegar a un peso aproximado de 3 g en la edad avanzada, sin embargo continúa con la misma función para compensar la necesidad de tener LT maduros (**figura 1.12**). El timo produce hormonas que contribuyen al proceso de maduración de los timocitos como son la timopoyetina, el factor humoral del timo, timosina y la timulina.

Figura 1.12. *Timo: ubicación en el organismo humano*

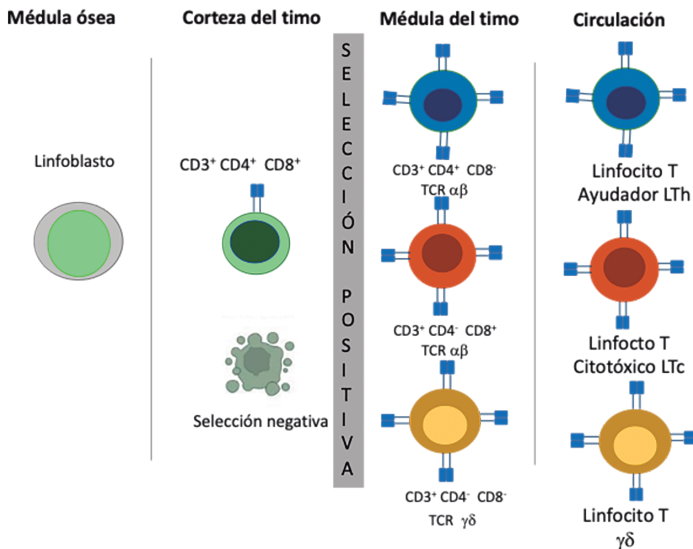


Nota. Modificada de Cancer Research UK CC BY-SA 4.0

El timo está compuesto por corteza y médula, en la corteza hay células epiteliales, dendríticas y macrófagos que interactúan físicamente con los timocitos en desarrollo. Algunas de las células epiteliales llamadas también células nodriza, tienen extensiones de su membrana que rodean alrededor de 50 timocitos; otras células epiteliales forman una red de interconexiones celulares entre ellas y los timocitos van atravesando la corteza. Los timocitos que se encuentran en la corteza se llaman desnudos o doblemente negativos, es decir que no expresan en su membrana receptores CD4, CD8 ni TCR (receptor de célula T). Al ir atravesando la corteza adquieren el receptor TCR y los receptores CD4 y CD8, en este momento se denomina LT doblemente positivos. En el proceso de maduración realizan la **selección positiva** y selección negativa (ver Linfocito T, capítulo 3) para eliminar los clones que quieren reaccionar contra lo propio y continuar con la diferenciación de los subtipos de linfocitos T (**figura 1.13**).

Una propiedad que tienen los linfocitos T y B maduros, a diferencia de otras células sanguíneas, es que circulan por todo el organismo por vía linfática y sanguínea. Cuando los linfocitos B y T maduran en la médula ósea y en el timo respectivamente, salen a circulación sanguínea y cuando van por los capilares de los vasos sanguíneos a otro tejido linfático secundario, los linfocitos pequeños logran atravesar hacia los ganglios linfáticos donde se establecen mediante moléculas de adhesión celular y allí esperan un tiempo para recibir el estímulo de un agente extraño.

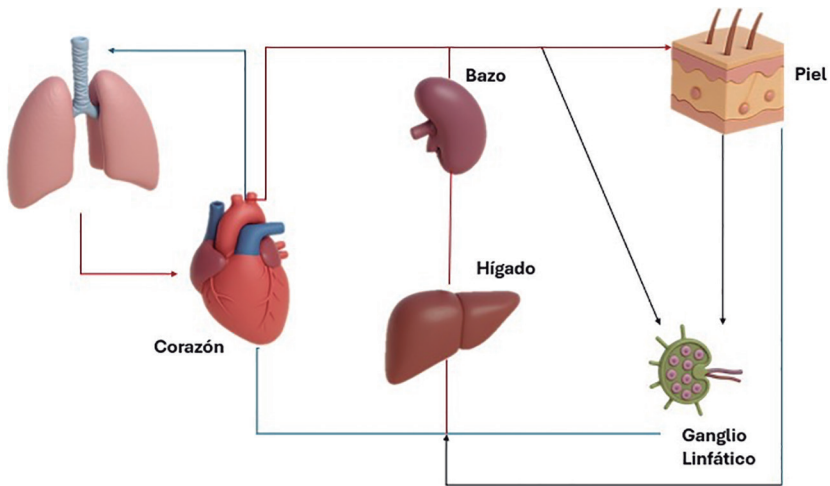
Figura 1.13. Maduración del linfocito T en el timo. Proceso de maduración de los linfocitos T en el timo donde reconocen y toleran lo propio y se diferencian en las diferentes subpoblaciones



Nota. Elaboración propia.

Si esto no sucede, se desprenden y por la linfa eferente pasan de nuevo a circulación sanguínea (**figura 1.14**). Esto significa que los linfocitos están en permanente movimiento, lo que permite que la población linfocitaria esté en continua renovación en los ganglios linfáticos en busca de posibles agentes causales de infección, situación que difiere en el bazo ya que no hay conexión con la circulación linfática. La proporción en número de linfocitos circulantes es muy inferior a la que se encuentra en los órganos linfoides secundarios.

Figura 1.14. *Recirculación de los linfocitos T y B. Una vez alcanzan la madurez realizan procesos de vigilancia en los diferentes tejidos y órganos*



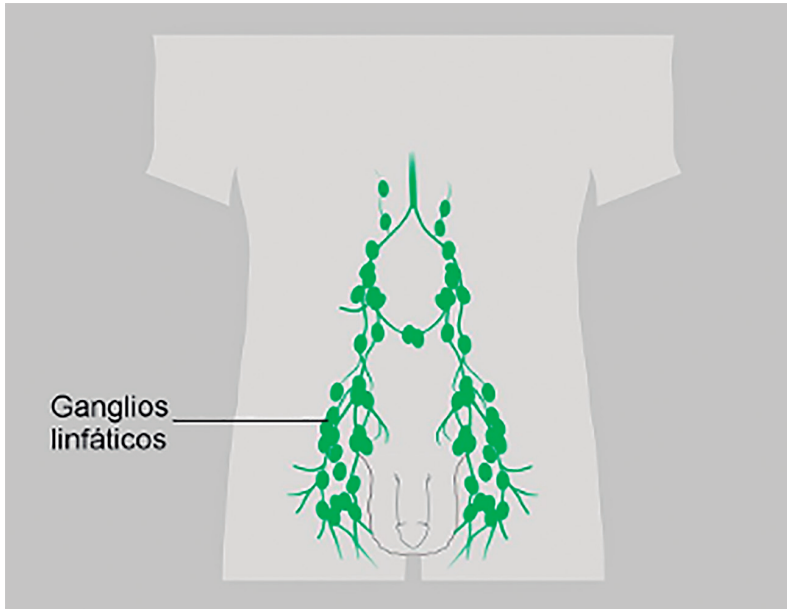
Nota. Imagen generada por inteligencia artificial a través de ChatGPT. OpenAI, 2025 <https://chat.openai.com>

1.4.1.2. ÓRGANOS SECUNDARIOS

1.4.1.2.1. Ganglio linfático

Los ganglios linfáticos son órganos encapsulados, redondos y pequeños del sistema linfático que se encuentran en todo el organismo humano, especialmente en cuello, axilas, abdomen e ingle (**figura 1.15**); contienen linfocitos, macrófagos y células dendríticas cuya función es permitir que se presenten antígenos de agentes infecciosos que se encuentren en vía linfática. A medida que se filtra la linfa en el ganglio, cualquier antígeno de un agente infeccioso es atrapado por fagocitos (macrófagos) y células dendríticas (foliculares e intersticiales), los cuales crean un microambiente adecuado para que los linfocitos se encuentren con el antígeno y puedan responder contra él de manera eficiente.

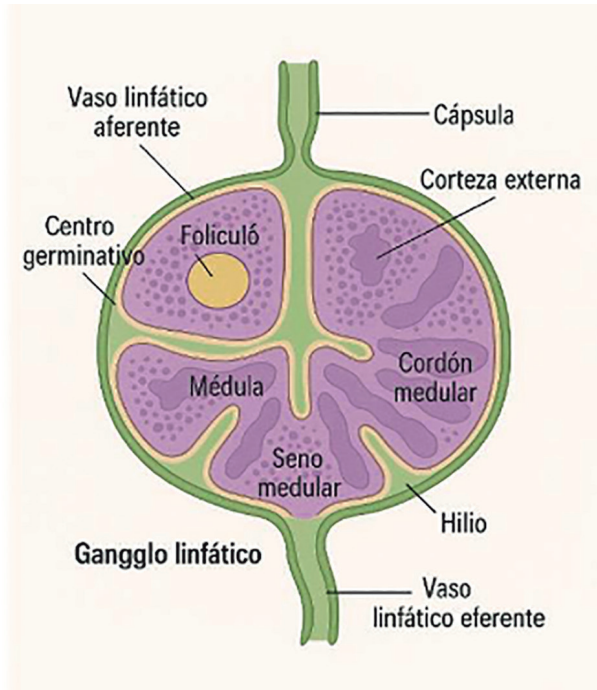
Figura 1.15. *Ganglio linfático: ubicación de los ganglios linfáticos en el cuerpo humano*



Nota. Tomada de <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Ganglioslinfaticosabdomen.jpg> CC 4.0

Un ganglio tiene internamente tres regiones concéntricas: corteza, paracorteza y médula. La corteza posee unas estructuras denominadas centros germinales que contienen linfocitos B, macrófagos y células dendríticas foliculares. Posteriormente se encuentra la paracorteza que contiene linfocitos T y células dendríticas interdigitales que expresan Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) Clase II (HLA en el humano Clase II) que son las moléculas necesarias para presentar antígenos exógenos a los linfocitos T ayudadores (LTh). La capa más interna del ganglio linfático es la médula la cual contiene en menor proporción células linfoides (**figura 1.16**). Cuando un antígeno es atrapado por las células fagocíticas que se encuentran en la paracorteza es presentado a los linfocitos Th, el cual prolifera y produce citoquinas que activan a los linfocitos B y estos a su vez producen anticuerpos que son transportados por la linfa y salen por medio del vaso eferente del ganglio. Esto se debe a que en la activación de estos linfocitos hay replicación celular como respuesta al antígeno causante de la infección, igualmente hay incremento en el tránsito de linfocitos sanguíneos a través del ganglio, lo que resulta en el aumento de tamaño del ganglio que lo hace visible.

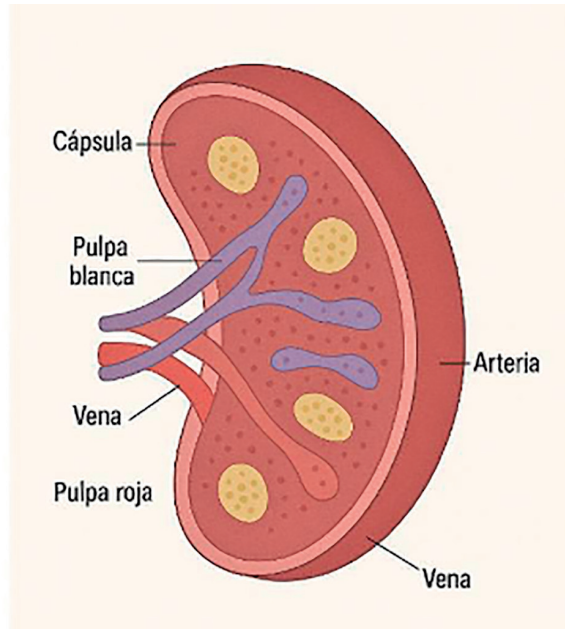
Figura 1.16. *Ganglio linfático: estructura y componentes del ganglio linfático*



Nota. Imagen generada por inteligencia artificial a través de ChatGPT. OpenAI, 2025 <https://chat.openai.com>

1.4.1.2.2. Bazo

Es un órgano encapsulado, ovalado y grande que está situado en el lado izquierdo superior de la cavidad abdominal, cuya función es filtrar la sangre, lo cual le permite atrapar antígenos que se encuentran en circulación sanguínea, por lo tanto, participa activamente en infecciones sistémicas y, además, filtra células envejecidas, como glóbulos rojos crenados y restos celulares, entre otros. Tiene en el interior trabéculas que forman una estructura segmentada de compartimientos denominados pulpa blanca y pulpa roja (**figura 1.17**). En la pulpa roja hay macrófagos y glóbulos rojos o eritrocitos y pocos linfocitos, en esta porción se destruyen los eritrocitos viejos y defectuosos. La pulpa blanca está compuesta en su mayoría por linfocitos T, Linfocitos B, macrófagos y células dendríticas interdigitales. Estas últimas capturan el antígeno y lo presentan por medio del CMH Clase II a los linfocitos Th que se diferencian y producen citoquinas que estimulan a los linfocitos B para producir los anticuerpos contra el antígeno causante de la infección.

Figura 1.17. *Bazo: estructura fisiológica del bazo*

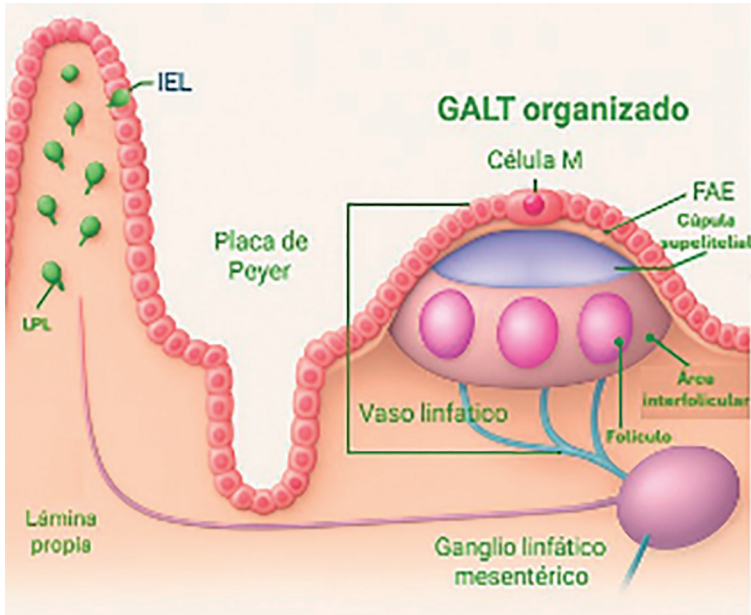
Nota. Imagen generada por inteligencia artificial a través de ChatGPT. OpenAI, 2025 <https://chat.openai.com>

1.4.1.2.3. *Tejido linfoide*

El tejido linfoide asociado a las mucosas (MALT) se encuentra en las mucosas genitourinaria, respiratoria y digestiva las cuales son las principales puertas de ingreso para muchos patógenos. Sin embargo, las mucosas tienen mecanismos físicos, químicos y tejidos linfoides asociados a las mucosas (MALT) que le permiten actuar contra un agente agresor.

El tejido linfoide asociada al tracto gastrointestinal (GALT) incluye las amígdalas, las adenoides, el apéndice y las placas de Peyer. En el caso de las amígdalas, están las linguales, las palatinas y las faríngeas compuestas por células reticulares entremezcladas con macrófagos, linfocitos, granulocitos y células cebadas. En estas estructuras y especialmente en las placas de Peyer, el antígeno es recogido por unas células especializadas llamadas células de micropliegue o células M, ya que permiten la captación y transporte de antígenos desde la luz intestinal hacia la lámina propia y la submucosa, para que se dé la respuesta inmune presentando el antígeno y activando células linfoides (**figura 1.18**).

Figura 1.18. *Función inmunológica de las mucosas. Representación de la estructura de la funcionalidad inmunológica de las mucosas (GALT) que está compuesta por células M que son enterocitos especializados en la captación de antígenos luminales, grandes cantidades de linfocitos T intraepiteliales que son inductores de la respuesta inmune en las placas de Peyer y ganglios linfáticos mesentéricos*



Nota. Imagen generada por inteligencia artificial a través de ChatGPT. OpenAI, 2025 <https://chat.openai.com>

En el nódulo linfático, los linfocitos forman un folículo que consiste en gran cantidad de linfocitos B rodeados por linfocitos T. Las células dendríticas toman el antígeno por endocitosis y lo presentan a los linfocitos T para producir citoquinas que activan a los linfocitos B. Algunos de estos linfocitos B activados, van por la linfa para migrar hacia la circulación sanguínea y regresan a los capilares de la lámina propia del intestino, con el fin de distribuirse de manera extensa para diferenciarse en células plasmáticas productoras de inmunoglobulina A secretora, la cual atraviesa las células epiteliales y recubre el tejido de la mucosa que da hacia la luz intestinal, convirtiéndose en una barrera altamente específica para el antígeno causante de la infección.

El tejido linfoide asociado al árbol bronquial (BALT) y el tejido linfoide asociado al tracto nasofaríngeo (NALT) se encuentran en el tracto respiratorio, poseen agregados linfocitarios difusos, están cubiertos por células M que permiten el paso de microorganismos o antígenos inhalados y atrapados en la mucosa

respiratoria. La activación de la respuesta inmune tiene el mismo principio de acción relacionado en los GALT, hay presentación de los antígenos por las células dendríticas a los linfocitos migratorios para activar la respuesta inmune adaptativa con el fin de producir anticuerpos IgAs específicos contra el antígeno. El tejido linfoide asociado a la piel (SALT) sirve como barrera inmunológica y consta de células como los queratinocitos, células dendríticas como las de Lanherhans y los dendrocitos dérmicos, linfocitos, células endoteliales, células cebadas, polimorfonucleares neutrófilos (PMN) y fibroblastos. Al recibir el estímulo antigénico, los queratinocitos producen citoquinas como la interleuquina (IL) 1, IL3, IL6, IL10, IL 12, IL 18, interferón alfa y beta, factor de necrosis tumoral, que promueven la inflamación y la activación de la inmunidad adaptativa, las células presentadoras de antígeno que expresan CMH Clase I y II, activan los linfocitos T para expandir la respuesta inmune frente al agente agresor que ingresó por la piel.

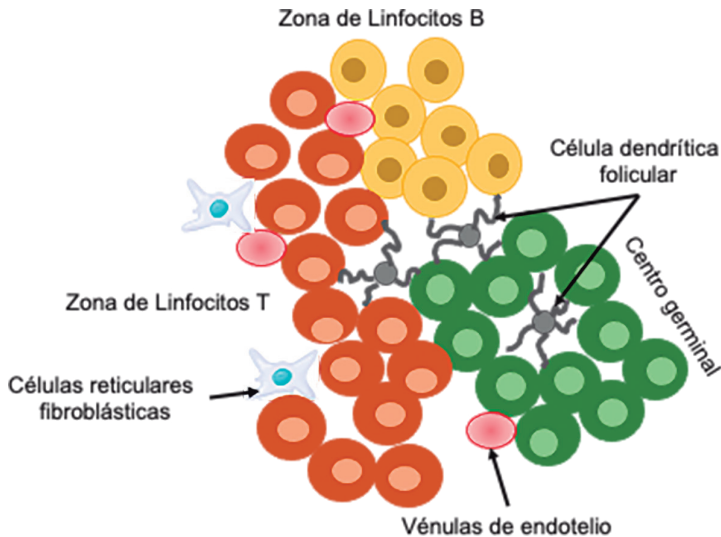
Además de estos tejidos linfoides asociados a las mucosas y a la piel, se encuentran también los tejidos linfoides asociados a la glándula mamaria, tejidos linfoides asociados a glándulas salivares y lagrimales, tejido linfoide asociado a órganos genitourinarios y tejido linfoide asociado al oído interno.

Por otra parte, en las mucosas están los linfocitos T que poseen el receptor TCR $\gamma\delta$, reconocen antígenos lipídicos (fosfolípidos, glucolípidos y oligonucleótidos fosforilados) que son presentados por la molécula CD1, y activan ese tipo de linfocitos T para producir citoquinas proinflamatorias y quimioquinas (citoquinas que inducen movimiento celular) que atraen polimorfonucleares neutrófilos y los macrófagos.

1.4.1.3. ÓRGANOS LINFOIDES TERCIARIOS (OLT)

Estas estructuras se pueden desarrollar en cualquier órgano y tejido no linfoide del individuo, se encuentran asociados a infecciones crónicas, rechazo crónico de injertos y órganos trasplantados, enfermedades autoinmunes y multitud de cánceres sólidos en los que persista una inflamación crónica que mantenga una constante activación celular y humoral de la respuesta inmune. Estos OLT pueden desaparecer una vez finalice el proceso inflamatorio. La función de los OLT es mantener la respuesta adaptativa adecuada en el tejido afectado la cual depende de factores como la localización, el tipo de estímulo que los generó, la cinética de la inflamación y la activación celular producida. La respuesta inmune ocasionada en los OLT puede dar como resultado una respuesta deletérea, como en el caso de la artritis reumatoide o puede ser beneficioso como ocurre en diferentes tipos de cáncer.

Figura 1.19. Órgano linfoide terciario. Estructura celular de un órgano linfoide terciario que en respuesta frente a un antígeno contiene linfocitos T, linfocitos B y células dendríticas foliculares formando agregados que tienen como fin eliminar el agente causal



Nota: Elaboración propia

En su estructura es similar a los órganos linfoides secundarios donde se concentran centros germinales de linfocitos T y B proliferativos y células dendríticas; los fibroblastos forman una estructura reticular en el que las citoquinas transmiten señales de activación; poseen vasos sanguíneos y linfáticos que permiten la comunicación con el medio externo del OTL, que a través de las vénulas endoteliales, permite la recirculación linfocitaria de los linfocitos de la sangre al tejido linfoide para su posterior activación (**figura 1.19**).

Hay dos tipos de OLT: fisiológicos y patológicos. La aparición de los fisiológicos está dada por una exposición antigénica constante y están asociados a las mucosas. Los patológicos están asociados con enfermedades autoinmunes.

1.4.2. CÉLULAS

1.4.2.1. CÉLULAS DEL SISTEMA INMUNE INNATO

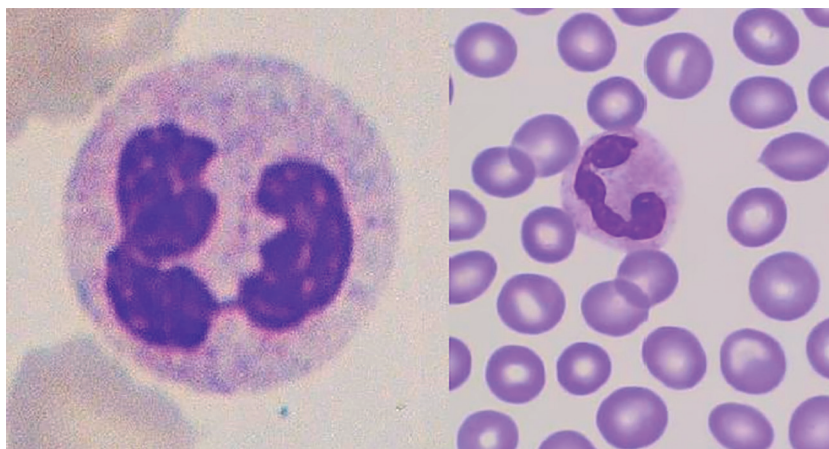
1.4.2.1.1. Polimorfonuclear neutrófilo (PMN)

Estas células pertenecen a la línea hematopoyética mieloide que da origen a los granulocitos, también llamados leucocitos polimorfonucleares. Existen tres

tipos de granulocitos: *i)* los eosinófilos, *ii)* los basófilos y *iii)* los neutrófilos. Los polimorfonucleares neutrófilos (PMN) son la población más abundante de los leucocitos circulantes (70 %) e intervienen en las primeras etapas de la respuesta inflamatoria; son células fagocíticas que participan en la inmunidad innata con la función de reconocer, ingerir y destruir una gran variedad de microorganismos extracelulares (bacterias, hongos, parásitos extracelulares).

Los PMN se sintetizan y maduran en la médula ósea donde se producen millones de ellas por día con el fin de tener una gran reserva para actuar en un proceso infeccioso o inflamatorio. En la maduración de estas células participan el factor estimulador de colonias granulocíticas (G-CSF), la IL 3, IL 17 y la CXCL12. A medida que se da el proceso de maduración, aparecen en su citoplasma los gránulos primarios o azurófilos en la fase de promielocito y los secundarios en la fase de mielocito. Una vez esta célula completa su proceso de maduración, tiene la capacidad de adherirse, migrar (quimiotaxis), reconocer el patógeno mediante receptores de membrana, deformarse enviando pseudópodos de la membrana para envolver e ingerir el microorganismo, destruirlo dentro del fagosoma y producir mediadores que promuevan la inflamación, contribuyendo de forma efectiva a la destrucción del patógeno causante de la infección.

Figura 1.20. *Polimorfonuclear neutrófilo en circulación sanguínea*



Nota. Crédito: M. Sc. Martha Leonor Castillo Bohórquez¹.

¹ Docente de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Facultad de Ciencias de la Salud. Bogotá, Colombia.

Los PMN circulan en forma de células esféricas de 12 a 15 μm de diámetro, tienen numerosas proyecciones de su membrana externa y expresan receptores que actúan en las diferentes funciones del PMN como: integrinas (LFA-1, VLA-4), receptor para moléculas de complemento (CR1, CR2, CR3, iC3b y C5a), selectina L, receptor para selectina E y P, receptores para las moléculas MAC-1 y CD44, receptores para los anticuerpos (FcR), Complejo Mayor de Histocompatibilidad Clase I y en procesos inflamatorios Clase II y receptores para quimioquinas (CXCR1 y CXCR2). Posee un núcleo segmentado de 3 a 5 lóbulos conectados, de allí su nombre polimorfonuclear (**figura 1.20**).

En el citoesqueleto contiene filamentos de actina que pueden ensamblarse y desmontarse con rapidez y le permiten realizar motilidad celular, desplazarse hacia el agente agresor, deformarse para poder trasladarse de vaso sanguíneo a tejido (diapédesis), y cuando se encuentra con el patógeno, enviar pseudópodo para atraparlo e ingerirlo. Por esta cualidad de movimiento, son las células que migran hacia el foco de infección en pocas horas (14 mm/seg), su vida media en circulación es de 4 a 5 días la cual se incrementa si debe migrar a ejercer su función fagocítica, si, por lo contrario, no recibe estímulo durante este periodo, activa la muerte celular programada (apoptosis) y suele ser fagocitado por macrófagos residentes en el hígado o en el bazo.

El citoplasma contiene gránulos primarios, secundarios y terciarios que tienen componentes bioquímicos que le permiten eliminar el patógeno que se encuentra en la vacuola fagocítica y no se tiñen con intensidad básica ni ácida (hematoxilina y eosina respectivamente), es decir, son neutros a diferencia de los basófilos y los eosinófilos. Todo el contenido de estos gránulos en el proceso de la fagocitosis, específicamente en la desgranulación, son liberados en el fagosoma con el fin de destruir el patógeno fagocitado.

Otra función de los PMN es la producción de citoquinas como el Factor de Necrosis Tumoral (FNT) y la IL 12 las cuales participan en la activación de la inmunidad adaptativa junto con los macrófagos y las células dendríticas.

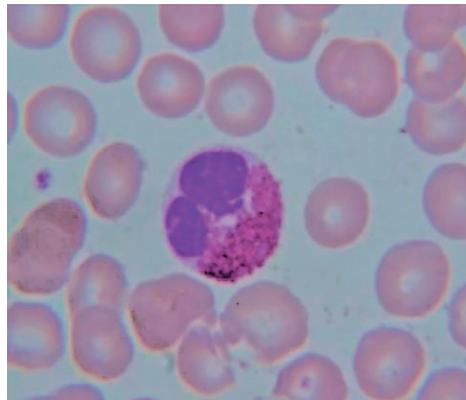
1.4.2.1.2. *Eosinófilo (Eos)*

Célula que fue descrita por Paul Erlich (1879) al notar su tinción característica con colorantes acidófilos, por muchos años se asoció su función a la eliminación de helmintos y a la causa del daño tisular. El eosinófilo es producido en la médula ósea, de origen mielóide que madura por acción de la IL3, IL5, GM-CSF y la eotaxina. La concentración de estas células en circulación es de 1% a 3 %, la vida media en circulación es de 8 a 18 horas y se incrementa en infiltrados inflamatorios de reacciones tardías contribuyendo a la eliminación de parásitos y hongos, a los procesos patológicos de las enfermedades alérgicas y a la remodelación de

tejidos. En condiciones normales se encuentran en las mucosas de los aparatos respiratorio, digestivo y urinario. Tiene núcleo bilobulado y posee en su citoplasma gránulos acidófilos ricos en arginina y con el colorante ácido de eosina, toman un color rosado intenso (**figura 1.21**).

En la actualidad se conoce también que desempeñan un papel en el crecimiento celular, la adhesión, la quimiotaxis, la degranulación, la interacción entre células, activa el complemento por vía clásica y alterna, sintetizan, almacenan y secretan citoquinas y factores de crecimiento, pueden procesar antígenos, estimular linfocitos T y promover respuesta humoral al interactuar con los linfocitos B, actúan como células presentadoras de antígeno y regulan la función de los LTh1 y LTh2. Desde siempre se ha conocido su función en la eliminación de helmintos, ahora se conoce la interacción de los eosinófilos con otros patógenos parasitarios, en infecciones virales, fúngicas y bacterianas.

Figura 1.21. *Eosinófilo en circulación sanguínea*



Nota. Crédito: M. Sc. Martha Leonor Castillo Bohórquez

En la membrana externa poseen varios receptores, como el receptor para la eotaxina (CCR3), para IL5, selectina E, receptores para leucotrienos, receptores para IgG4, IgE e IgA, receptores para complemento CR1 y CR3, siendo estos dos últimos los que activan al eosinófilo a degranular para la eliminación del parásito o la acción en tejido de procesos alérgicos. Cuando el eosinófilo degranula, ejerce su acción antiparasitaria pero también causa lesión al tejido circundante debido a la liberación de proteínas altamente tóxicas y radicales libres. Además, el eosinófilo sintetiza mediadores bioquímicos como las prostaglandinas, los leucotrienos y las citoquinas que amplifican la respuesta inflamatoria para activar células epiteliales y convocar a más eosinófilos y leucocitos que ayuden en la eliminación del parásito o a inducir procesos inflamatorios crónicos como la rinitis.

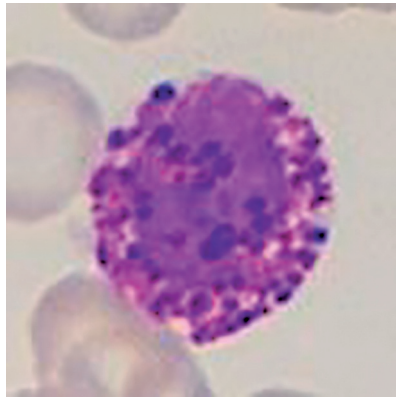
1.4.2.1.3. *Basófilos (Bas)*

El basófilo es un granulocito identificado por primera vez por Paul Erlich hace más de 140 años, representan menos del 1 % de los leucocitos de sangre periférica. Entre sus funciones primordiales está la de migrar hacia el tejido donde hay inflamación para liberar histamina, contribuyen en el desarrollo pulmonar, promueven localmente la polarización de los macrófagos a M2, sintetizan citoquinas y factores angiogénicos y tienen función tumorigénica en varios tipos de cáncer.

Al igual que otros granulocitos, los basófilos se desarrollan a partir de la célula madre hematopoyética en médula ósea que al ser estimulada por la IL 3 y la linfopoyetina estromal tímica estimula el desarrollo de los basófilos.

Dentro del citoplasma poseen gránulos basófilos que se tiñen de azul con coloraciones como la hematoxilina; en la membrana posee receptores para la porción Fcε (FcεRI) que tiene afinidad por la IgE, tiene marcadores para la degranulación CD63, receptor para la inmunoglobulina IgG (FcγRIIA, FcγRIIB), receptor para la IL-3 (CD123), para el factor estimulante de colonias granulocito monocito (GM-CSF), para la IL 33 y para la IL5 (CD125) (**figura 1.22**).

Figura 1.22. *Basófilo en circulación sanguínea*



Nota. Crédito: M. Sc. Martha Leonor Castillo Bohórquez

Tienen una función importante en la inflamación ya que liberan mediadores como la histamina y los cisteinil-leucotrienos. Anteriormente, por estas características que comparten con los mastocitos, se les consideraba como precursor circulante del mastocito, concepto que ya no es válido, ya que las dos células difieren morfológica, ultraestructural, inmunológica, bioquímica y farmacológicamente (**tabla 1.3**).

1.4.2.1.4. Mastocito (*Mas*)

También denominadas células sebáceas, se originan en la médula ósea a partir de la línea mieloide y recibe el estímulo por parte de la IL 9 y la IL3 para su maduración. En condiciones normales no hay mastocitos circulantes. Los progenitores se ubican en los tejidos periféricos en estadio inmaduro y allí se diferencian *in situ*. Están distribuidos en todo el organismo, especialmente en los vasos sanguíneos, nervios, bajo los epitelios y en algunos órganos linfoides.

Presentan formas variables con núcleos redondeados y citoplasmas ricos en gránulos redondos que contienen proteoglucanos ácidos que se tiñen con colorantes básicos (**tabla 1.3**).

La función de los mastocitos está relacionada con la acción contra parásitos y bacterias. Contienen en sus gránulos histamina, heparina, citoquinas y factores de crecimiento, que al ser liberadas participan en reacciones alérgicas y ciertas respuestas inmunológicas. El efecto de la liberación de estas moléculas es participar activamente en la inflamación dilatando los vasos sanguíneos y en la angiogénesis, en procesos alérgicos son las responsables del enrojecimiento y el prurito. Las propiedades de los mastocitos, basófilos y eosinófilos se encuentran resumidas en la **tabla 1.3**

Tabla 1.3. Características y diferencias entre los mastocitos, basófilos y eosinófilos

Característica	Mastocitos	Basófilos	Eosinófilos
Precursor	Células progenitoras hematopoyéticas CD34+	Células progenitoras hematopoyéticas CD34+	Células progenitoras hematopoyéticas CD34+
Lugar de maduración	Tejido conectivo	Médula ósea	Médula ósea
Citoquinas de maduración hematopoyética	G-CSF, IL4, IL9	G-CSF, IL9	G-CSF, IL3, IL5
Diámetro	10-15 um	5-8 um	10-12 um
Circulación	No	Sí	Si
Núcleos	1	2	2
Residencia	Tejido conectivo (glándula mamaria, lengua, próstata, pulmón, peritoneo), vasos sanguíneos, mucosas	Órganos linfoides, circulación, tejido epitelial, mucosas respiratorias	Mucosas, glándula mamaria, órganos linfoides secundarios y circulación

Concentración en la sangre	-	0,5 – 1 %	1-4 %
Vida media en circulación	Semanas a meses	Horas	8-18 h
Vida media en tejido	Semanas	Días	Días a semanas
Expresión de FcγRI	Elevada	Elevada	Baja
Contenido de losgránulos	Histamina, heparina, sulfato de condroitina, proteasas	Histamina, sulfatode condroitina, proteasas	Proteína básica principal, proteína catiónica eosinófila, peroxidasa, hidrolasas, lisofosfolipasa

1.4.2.1.5. *Natural Killer (NK)*

Las células asesinas naturales (NK) fueron descritas por primera vez en 1976, cuando se demostró que el organismo humano tiene unos linfocitos granulados y grandes que poseían una actividad citotóxica contra una gran variedad de tumores y contra células infectadas por virus. Son células mononucleares que pertenecen a la inmunidad innata y ejercen sus funciones de manera inmediata y natural, sin necesidad de un aprendizaje previo. Se encuentran principalmente en los nódulos linfoides y en la circulación sanguínea, aunque también están en la piel, el intestino, el hígado, el pulmón y el útero, entre otros tejidos.

Constituyen el 7 % al 15 % de la línea linfoide circulante, son producidos en la médula ósea y su función efectora esta medida por la producción de citoquinas y su actividad citotóxica. La función citotóxica para destruir células anormales las reconoce de dos formas diferentes. En primer lugar, las NK distinguen anomalías en la superficie de la célula diana (célula infectada con virus) al encontrar disminuida la expresión de moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad Clase I, lo que reduce las señales inhibitorias recibidas de los receptores KIR; o cuando hay moléculas expresadas en células anormales (tumores) que son reconocidas por los receptores naturales de citotoxicidad. Por otra parte, puede reconocer células con anticuerpos IgG unidos a la membrana plasmática que activa la citotoxicidad mediada por anticuerpos, mecanismo que lo lleva a cabo las NK CD16+.

Cuando se unen las dos células mediante alguno de los mecanismos mencionados anteriormente, la NK libera de sus gránulos perforinas que producen poros sobre la membrana de la célula blanco y granzimas que induce la apoptosis

mediante la activación de las caspasas para dar muerte a la célula afectada. Además, las NK producen citoquinas como el Factor de Necrosis Tumoral (FNT) alfa, el interferón (IFN) gamma, Factor Estimulante de Granulocito-Monocito (GM-CSF), IL 17, IL 12, IL1B, proteína inflamatoria de macrófagos MIP-1, citoquinas que amplifican la respuesta inmune contribuyendo al control de la replicación viral, activa macrófagos, potencian la fagocitosis e inducen respuesta Th1.

Por otra parte, existen diferentes tipos de subpoblaciones de NK que dependen de la expresión de los receptores CD16, CD56 y receptores KIR y difieren en sus funciones al producir citoquinas y tener una alta o baja capacidad citotóxica.

1.4.2.1.6. *Células NKT*

Son una pequeña población de células T que se diferencian de las T convencionales en que su receptor reconoce lípidos en lugar de péptidos y está restringido por una molécula no clásica semejante a la CMH Clase I llamada CD1d, expresa CD16 y TCR $\alpha\beta$, además, tiene la capacidad de producir rápidamente citoquinas proinflamatorias, de manera similar a las células de la inmunidad innata.

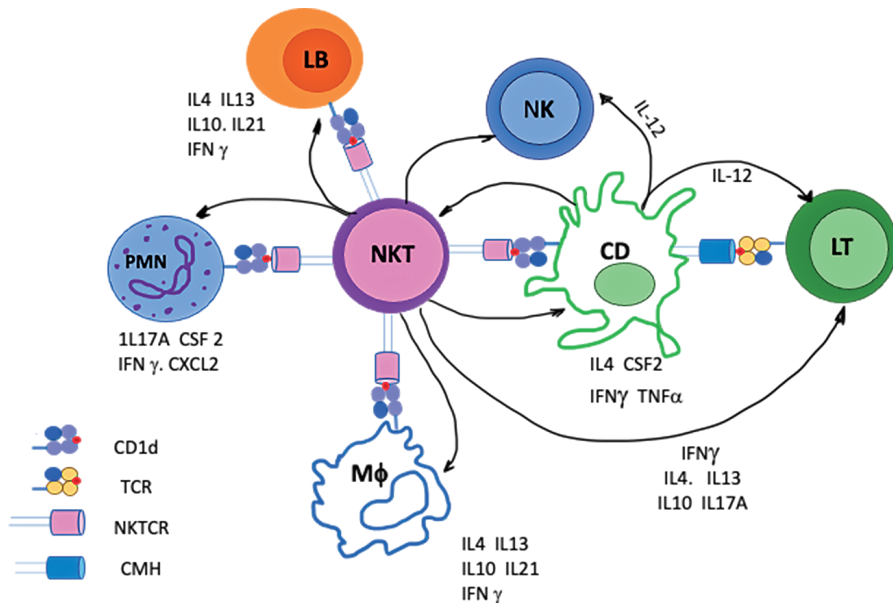
Se denominan NKT porque coexpresan un marcador para la línea T que es el NK1.1, sin embargo, la expresión de este receptor es baja, por lo que se le reconoció como células T asesinas naturales que tienen la capacidad de reconocer antígenos lipídicos o glicolípidos como parte de la inmunidad adaptativa, es decir que tiene la opción de reconocer este tipo de antígenos lo cual no deja limitada la respuesta de los LT al reconocer solamente antígenos peptídicos por medio del CMH.

En su membrana posee un receptor TCR $\alpha\beta$ semiinvariable, además, existen NKT tipo I, que responde a un lípido de patrón común a la α -galactosilceramida (α GalCer), tienen la capacidad de reconocer ciertos patógenos bacterianos especialmente los que carecen de lipopolisacáridos, reconocen lípidos presentados por CD1d, pueden mejorar enfermedades autoinmunes como la diabetes o encefalitis autoinmune a través de la producción de citoquinas Th2 (IL4, IL3), tienen la función de protección contra el cáncer por medio de la producción de citoquinas Th1 especialmente con el interferón γ o exacerbar la respuesta inmune en el caso de la hepatitis. Las células NKT tipo II, que son restringidas a CD1d, no usan TCR semiinvariable, y no reconocen α GalCer, reconocen la sulfatida de las vainas de mielina en el sistema nervioso central.

Las funciones efectoras inmunológicas de las NKT están relacionadas con las interacciones entre las moléculas coestimuladoras CD28 y CD40 que activan a las células NKT, que una vez activadas participan en la comunicación entre el sistema inmune innato y el adaptativo mediante la producción de citoquinas

que influyen en la polarización de los linfocitos T CD4+ hacia LTh1 o LTh2, así como la diferenciación de linfocitos T CD8+ y los precursores de los linfocitos B a células plasmáticas productoras de anticuerpos. Algunas de las citoquinas producidas por las NKT activan y diferencian los macrófagos y las células dendríticas que producen IL12 que, a su vez, estimula la NK para producir IFN γ , es decir que las NKT activadas tienen el potencial de mejorar y moderar la respuesta inmune (**figura 1.23**)

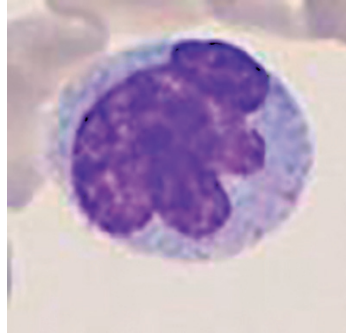
Figura 1.23. Funciones inmunológicas efectoras de la NKT donde hay interrelación con otras células del sistema inmune como son los M ϕ , PMN, Linfocitos B, Linfocitos T y NK mediadas por la acción de citoquinas



Nota. Elaboración propia.

1.4.2.1.7. Monocito y macrófago (M ϕ)

Los monocitos son células que se originan y maduran en la médula ósea, donde la célula madre recibe el estímulo del GM-CSF para dar origen a los promonocitos que, por acción del M-CSF, maduran a monocitos para salir a la circulación sanguínea, alrededor de ocho horas, donde continúan su crecimiento para luego migrar a los tejidos y transformarse en macrófago. Es el leucocito de mayor tamaño, puede llegar a tener 18 μm de diámetro y representan el 2 % al 8 % de los leucocitos en la sangre (**figura 1.24**).

Figura 1.24. *Monocito en circulación*

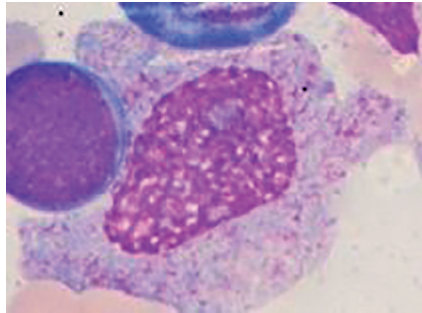
Nota. Crédito: M. Sc. Martha Leonor Castillo Bohórquez.

El descubrimiento de los macrófagos fue descrito en 1883 por el zoólogo Elie Metchnikoff y Messina, y su nombre fue asignado por Aschoff en 1924. El hallazgo se dio al realizar un experimento donde describió la función de defensa de estas células contra agentes extraños que, además tienen la capacidad de eliminar células envejecidas y participar en la identificación de lo propio de lo extraño.

Una vez el monocito se transforma en macrófago, crece de 5 a 10 veces de tamaño, sus organelos intracelulares aumentan en número y complejidad, participan en procesos de desarrollo, en el mantenimiento de la homeostasis corporal, en la reparación de tejidos y en el sistema inmune ya que adquiere mayor capacidad fagocítica, produce concentraciones más altas de enzimas hidrolíticas y comienza a secretar factores solubles como las citoquinas y son células presentadoras de antígenos para el linfocito Th.

Son células longevas ya que duran en el tejido largos períodos de tiempo. Tienen formas irregulares con pseudópodos que les permiten desplazarse, pueden medir 15 a 80 μm , poseen un núcleo con una o dos hendiduras en forma de riñón, tienen vacuolas con enzimas, lisosomas, cuerpos multivesiculares y cuerpos residuales que al microscopio lo hacen ver con citoplasma granular (**figura 1.24**).

Poseen receptores de membrana asociados a la fagocitosis como receptor Fc o CD16, receptores para las moléculas de complemento (CR), receptores para lectina tipo C, receptores TLR los cuales reconocen patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP), integrinas, ICAM 3, selectina L, receptores para citoquinas, CMH Clase I y II, entre otros.

Figura 1.25. *Histiocito*

Nota. Crédito: M. Sc. Martha Leonor Castillo Bohórquez

Los macrófagos se dispersan en diferentes tipos de tejidos y se desplazan a través de ellos mediante movimientos ameboides y se denominan de acuerdo con su localización tisular así: macrófagos alveolares (pulmón), histiocitos (tejido conjuntivo), células de Kuppfer (hígado), células mesangiales (riñón), microglías (cerebro) y osteoclastos (hueso). Los macrófagos se activan por citoquinas que producen los linfocitos Th, por mediadores producidos por la respuesta inflamatoria y por componentes de la pared bacteriana. En su estado activo realizan un intenso tráfico membranar, ocurren procesos de fusión y fisión de membranas asociados con la endocitosis y la fagocitosis (**figura 1.25**).

1.4.2.1.8. *Célula dendrítica (CD)*

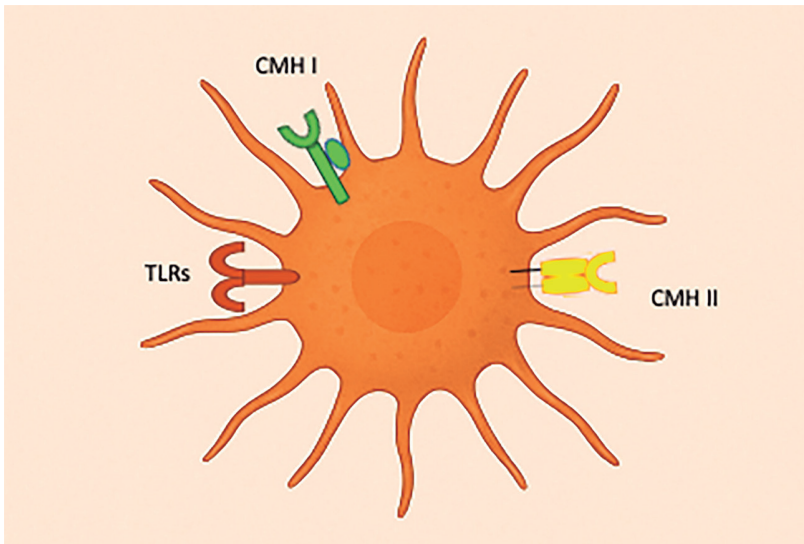
Son células identificadas en 1973 por Steinmann y Conh que observaron por medio de análisis experimentales la presencia de células de tejidos linfoides que resultaron más eficientes que los Mφ en ser CPA y en promover la proliferación de los linfocitos T. Hacia la década de los 90, se reconocieron los marcadores de membrana y las características de esta población celular. Las CD tienen forma irregular, presentan prolongaciones de la membrana llamadas dendritas. Se derivan de la médula ósea a partir de las líneas monocítica y linfocítica. Se han descrito cuatro estadios de desarrollo: *i*) progenitores de médula ósea, *ii*) precursor de la CD que circulan por vía linfática y sanguínea en tejidos linfoides que ante un estímulo pueden sintetizar citoquinas *iii*) CD inmaduras que están en los tejidos periféricos y mucosas, con alta capacidad fagocítica y endocítica para atrapar el Ag, *iv*) CD maduras localizadas en los órganos linfoides secundarios y que expresan altos niveles de CMH para la presentación del antígeno. Entre sus características principales están su capacidad de capturar, procesar y presentar Ag, alta capacidad de migrar por las dendritas que posee en su membrana y su

capacidad para estimular, interactuar y dirigir la respuesta de los linfocitos T CD4+ y los CD8+. Se ha comprobado que también son capaces de activar otros tipos celulares, como linfocitos B, células NK, macrófagos o eosinófilos, e incluso generar tolerancia inmunológica (**figura 1.26**).

Las CDs se denominan de acuerdo con la localización anatómica, En la piel y las mucosas son células de Langerhans; en la linfa se llaman células veladas; en órganos como el corazón, el riñón y el intestino, son conocidas como células intersticiales; y las que se encuentran entre los linfocitos T de los órganos linfoides son llamadas células interdigitantes. Se considera que las DCs representan del 0,5 % al 1 % de los leucocitos en la sangre circulante.

Sobre la membrana expresa CMH Clase II, presentan moléculas de adhesión comunes con macrófagos (CD11a, CD11c, CD50, CD54, CD58, CD102) y moléculas coestimuladoras (CD40, CD80, CD86). Son productoras de citoquinas como la IL1, IL6, IL8, IL10, IL12, GM-CSF, MCP y TGFβ.

Figura 1.26. *Células dendríticas*



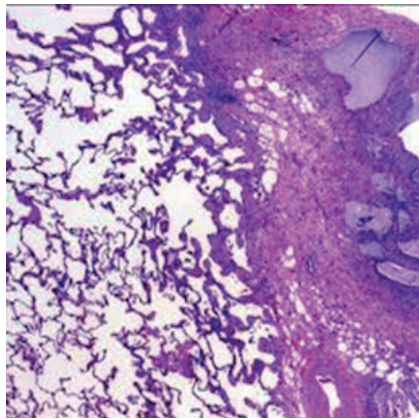
Nota. Imagen generada por inteligencia artificial a través de ChatGPT. OpenAI, 2025 <https://chat.openai.com>

1.4.2.1.9. *Fibroblasto*

Es la célula más abundante del tejido conectivo cuya función principal es mantener la matriz extracelular de cada tejido, contribuye a la homeostasis de la

piel y a la organización estructural del tejido al que pertenece, interviene en la cicatrización de heridas e interviene en las primeras fases de la respuesta inmune. Su tamaño y forma varía dependiendo del órgano y su estado de actividad. Su núcleo es ovoide con poco citoplasma, tienen forma fusiforme o estrelladas con prolongaciones citoplasmáticas de diversas formas que le permite estar en contacto con otras células como las neuronas, las células musculares, las endoteliales y los leucocitos (**figura 1.27**).

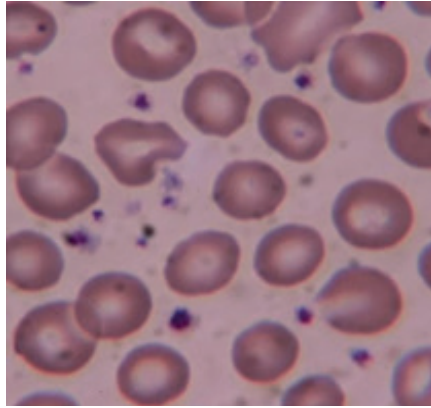
Figura 1.27. *Fibroblastos en tejido conectivo*



Nota. Tomada de <https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcTu-8q2PNDtI0kuREe7f37odFUFfNTpCcekr2b8mB8wJBbXg5MR-Ewj6DFqJINZKTsd-6wAs&usqp=CAU>

1.4.2.1.10. Plaquetas

Son células pequeñas anucleadas, proceden de los megacariocitos que por acción de la IL 11 pueden llegar a producir las plaquetas (**figura 1.28**). El proceso se inicia cuando el megacariocito duplica su material genético e inicia el proceso de mitosis, pero sin citocinesis ni cariocinesis; así, al no separarse en dos células hijas, esta célula se hace más grande, con mayor cantidad de citoplasma y con un núcleo lobulado cada vez de mayor tamaño, con maduración del citoplasma donde produce proteínas que son almacenadas en sus gránulos que son de tres tipos: alfa o A, delta o densos y lambda o lisosomas, los cuales son pasados a las plaquetas. Por último, sucede el proceso de desprendimiento del citoplasma para dar lugar a las plaquetas y el núcleo desnudo de los megacariocitos lo fagocitan los macrófagos de la médula ósea.

Figura 1.28. *Plaquetas en sangre periférica*

Nota. Crédito: M. Sc. Martha Leonor Castillo Bohórquez.

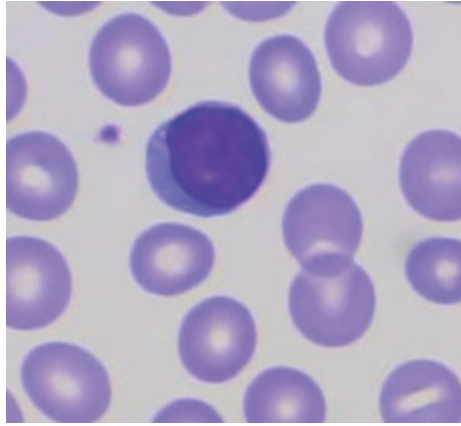
Las plaquetas tienen un diámetro de 3 μm , liberan y captan serotonina y otros neurotransmisores, desempeñan un papel importante al detectar daños en el endotelio vascular y repararlos mediante la coagulación. Su vida media es de 8 a 10 días, producen citoquinas proinflamatorias y TGF β . Expresan en su membrana receptores TLR y producen moléculas llamadas trombocidinas que aglutinan patógenos para que sean fácilmente fagocitados.

Son activadas por el factor activador de plaquetas producidos por los M ϕ , PMN, Eos y Mas, el cual estimula la vasodilatación, aparición de edema, contracción del músculo liso y afectación en el músculo cardiaco. Además de su actividad fisiológica principal de participación en las reacciones hemostáticas, las plaquetas intervienen la inflamación, cicatrización de heridas, angiogénesis, desarrollo de canales linfáticos, trombosis, aterosclerosis o metástasis tumorales.

1.4.2.2. CÉLULAS DEL SISTEMA INMUNE ADAPTATIVO

1.4.2.2.1. Linfocitos T

Célula mononuclear esférica de 8 a 12 μm de diámetro, su núcleo ocupa casi la totalidad del citoplasma de la célula, madura en el timo, está encargada de la respuesta inmune celular específica, crea memoria, posee receptores marcadores de la línea T que son los que le permiten su diferenciación inmunológica en linfocitos T ayudadores o *helper* (LTh), linfocitos T citotóxicos, linfocitos Treg y linfocitos T con TCR $\gamma\delta$ (**figura 1.29** y **tabla 1.4**).

Figura 1.29. *Linfocito en sangre periférica*

Nota. Crédito: M. Sc. Martha Leonor Castillo Bohórquez.

Tabla 1.4. *Subtipos de linfocitos T y sus receptores: cada población de linfocitos T posee receptores específicos que lo identifican y clasifican según su función dentro de la respuesta inmune*

Subpoblación de LT	Receptor	Tipo de Receptor de Célula T (TCR)	Tipo de antígeno que reconocen
LT <i>helper</i>	CD3+CD4+CD8-	TCR $\alpha\beta$	Péptidos de antígenos exógenos
LT citotóxico	CD3+CD4-CD8+	TCR β	Péptidos de antígenos endógenos
LT reg	CD3+CD4+CD25+	TCR $\alpha\beta$	Regulan r.i.
LT $\gamma\delta$	CD3+CD1+	TCR $\gamma\delta$	Lípidos, glucolípidos

El 95 % de los linfocitos T circulantes son TCR $\alpha\beta$, tan solo el 5 % son TCR $\gamma\delta$ o en mucosas se encuentran en un 10 %.

La respuesta de los LT TCR $\alpha\beta$ está restringida por el CMH, es decir que solo reconocen péptidos adheridos al CMH; son altamente específicos para el antígeno que los estimuló y dejan memoria. Los LTh reconocen péptidos de antígenos exógenos presentados por las células presentadoras de Ag (CPA) por medio del CMH Clase II; los LTc reconocen péptidos de antígenos endógenos (virus, tumores, patógenos intracelulares) por medio del CMH Clase I. Los LT TCR $\gamma\delta$ tienen la capacidad de reconocer lípidos y glucolípidos, pertenecen a la inmunidad innata ya que no hacen memoria inmunológica.

Cuando los linfocitos Th reconocen los antígenos peptídicos por medio del CMHII, estos inician su activación gracias a citoquinas producidas por el macrófago, posteriormente realizan mitosis generando subpoblaciones Th1, Th2 y Th 17, las cuales sintetizan perfiles de citoquinas que activan, amplifican o regulan la respuesta inmune como acción generada por un antígeno. En el caso de la respuesta Th1, se producen citoquinas que activan una respuesta inmune celular ya que activa a los PMN, Mφ, NK, LTh, LTc, entre otros. En el caso de los Th2, producen un perfil de citoquinas que estimulan a los eosinófilos y a los basófilos y de manera importante la respuesta inmune humoral al activar a los LB para que se transformen en células plasmáticas productoras de anticuerpos.

Los LTc, al reconocer los antígenos péptidos endógenos dentro del contexto del CMH Clase I, como respuesta produce citoquinas como el FNTα y el IFNγ que tienen efectos antitumorales y antimicrobianos, libera perforinas que producen poros sobre la célula blanco, libera granzimas las cuales inducen apoptosis sobre la célula diana y por la interacción de receptores Fas/FasL induce la apoptosis de la célula a destruir.

Las células Th-17 tienen como función eliminar ciertos patógenos, como hongos y micobacterias que no pudieron ser eliminados por los LTh1 y LTh2 y mantener la integridad de la mucosa gastrointestinal. Para su desarrollo es importante el factor de crecimiento transformante beta (TGF-β) y las citoquinas proinflamatorias.

Los LTreg tienen como función controlar la tolerancia periférica haciendo tolerantes linfocitos que quieren reaccionar contra lo propio y que no fueron eliminados en los procesos de selección positiva y negativa; regular o suprimir la respuesta inmune y su activación depende de la ausencia de citoquinas proinflamatorias.

1.4.2.2.2. *Linfocitos B*

Célula redonda mononuclear que madura en la médula ósea, de 8 a 12 μm de diámetro, su función principal es la de producir anticuerpos una vez se ha transformado en célula plasmática; además, es CPA y productora de citoquinas (IL1, IL4, IL5, IL6, IL7, IL8, IL10, IL15, IFN). Existen dos subpoblaciones: B1 (timoindependiente) y B2 (timodependiente).

Los linfocitos B1 pertenecen a la inmunidad innata, no hacen memoria, no hacen cambio de isotipo porque solo pueden sintetizar IgM y reconocen todo tipo de moléculas antigénicas.

Los linfocitos B2 son altamente específicos, hacen mitosis mediante la activación de citoquinas producidas por el LTh, crean memoria, hacen cambio de isotipo ya que por el estímulo que recibe por parte de las citoquinas producidas

por LTh 2, se transforma en célula plasmática que sintetiza todos los isotipos (IgG, IgM, IgA, IgE).

Como receptores de membrana tiene el complejo BCR del linfocito B, que es un receptor conformado por IgM monomérica, acompañada de dos cadenas laterales CD79a y CD79b y además expresa IgD de membrana que indica cuando el linfocito B está maduro. Posee receptores de membrana para el CMH Clase I y Clase II, para citoquinas, para moléculas del sistema de complemento (CD19, CD21) y expresa TLR 5,TLR7 y TLR9.

1.4.3. PROTEÍNAS

1.4.3.1. *PROTEÍNAS DEL SISTEMA INMUNE INNATO*

1.4.3.1.1. *Citoquinas*

Las citoquinas son proteínas o glucoproteínas de bajo peso molecular producidas por diferentes tipos de células (Mφ, linfocitos Th, Tc, LB, células endoteliales, células epiteliales, fibroblastos, NK, NKT, queratinocitos, CDs y Mas). Participan en la inmunidad innata, adaptativa y en la inflamación activando o regulando su respuesta, además estimulan el desarrollo de células hematopoyéticas. Su nomenclatura está determinada por el origen celular, es así como se denominan monoquinas las que son producidas por los macrófagos y linfoquinas por los linfocitos. Por otra parte, las citoquinas que son producidas por leucocitos y que actúan sobre otro leucocito se llaman interleuquinas (IL). Tienen función autocrina (la citoquina actúa sobre la misma célula que la produjo), paracrina (citoquinas que actúan sobre células cercanas a la que la produjo) y endocrina (citoquina que actúa de forma sistémica).

Las citoquinas se sintetizan en respuesta a la presencia de microorganismos o antígenos que estimulan la inflamación y las reacciones inmunitarias. La secreción es breve y autolimitada, influyen en la síntesis de otras citoquinas, tienen acción local o sistémica e inician su efecto sobre la célula blanco al unirse a su receptor de membrana.

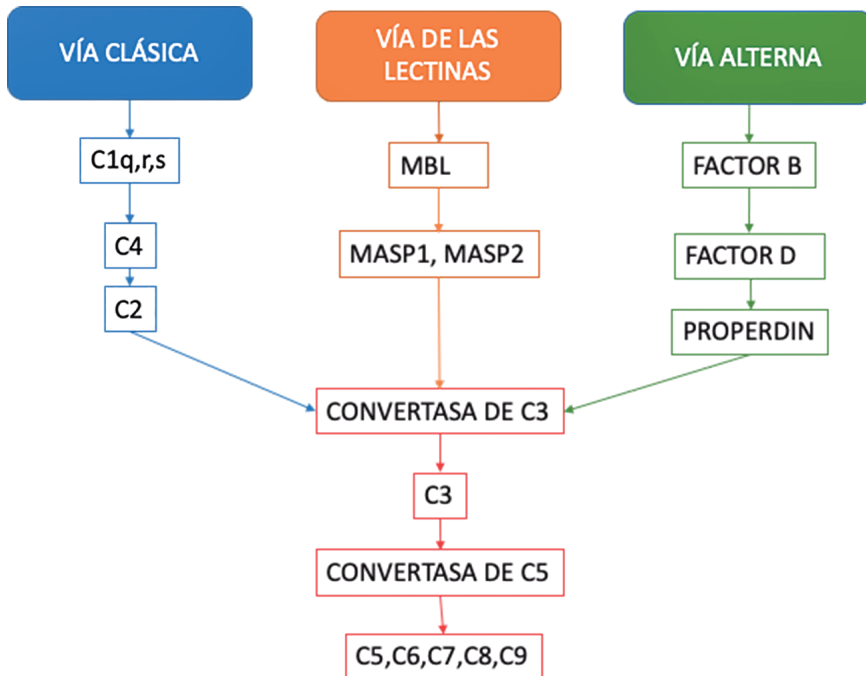
Tienen acción i) pleiotrópica, es decir, que una citoquina puede actuar sobre diferentes tipos de células, ii) redundante cuando varias citoquinas cumplen la misma función, iii) sinérgicas cuando las citoquinas se potencializan entre sí, iv) son antagonicas cuando una citoquina tiene el efecto contrario a otra. Se encuentran clasificadas en interleuquinas (IL), Factores Estimuladoras de Colonias (FSC), interferones (IFN), Factor de Necrosis Tumoral (FNT) y quimioquinas.

1.4.3.1.2. Sistema de complemento

Son más de 30 proteínas efectoras del sistema inmune que en estado inactivo se encuentran solubles en el plasma, actúan en cascada ya que una vez se activan, la proteína opera como zimógeno (enzima) sobre la siguiente. Fueron descubiertas en 1980 por Jules Bordet en el Instituto Pasteur cuando observó la lisis de una bacteria (*Vibrio cholerae*) al mezclarla con un antisuero obtenido en ovejas contra esa bacteria. Paul Erlich realizó experimentos y lo denominó complemento que se define como “la actividad del suero sanguíneo que complementa la acción de los anticuerpos”.

Su objetivo principal es causar lisis de la membrana que activó el sistema y se generan también otras funciones secundarias como es la inflamación, la movilidad celular, la opsonización para facilitar la fagocitosis, ayuda en la eliminación de complejos inmunes (Ag-Ac), potencializa la acción lítica de cuerpos apoptóticos y la síntesis de anticuerpos.

Figura 1.30. Sistema de complemento: vías de activación del sistema de complemento que confluyen en C3 para dar inicio a la vía lítica



Nota: Elaboración propia.

Hay tres vías para poder activar el sistema de complemento: la vía clásica, la vía alterna y la vía de las lectinas, las cuales están compuestas de unidad de reconocimiento que tiene como función reconocer el patógeno que estimuló la activación del complemento, una unidad de activación y una unidad de ataque que finaliza en la formación de un poro inductor de lisis de la membrana de la célula blanco (**figura 1.30**).

1.4.3.1.3. Receptores de membrana en la inmunidad innata

- **Receptores Semejantes al Toll (TLR)**

Existen unos receptores que se encuentran sobre células de la inmunidad innata denominados Receptores de Reconocimiento de Patrón (PRR) que reconocen propiedades conformacionales conservadas de los microorganismos. Entre estos receptores se encuentran los receptores tipo Toll (TLR), son una familia de receptores que se encuentran en la membrana de las células de la inmunidad innata, células epiteliales, células vasculares e intestinales, donde se desencadena una serie de señales intracelulares para dar como resultado la producción de citoquinas proinflamatorias; además, facilitan el reconocimiento de patógenos para la fagocitosis.

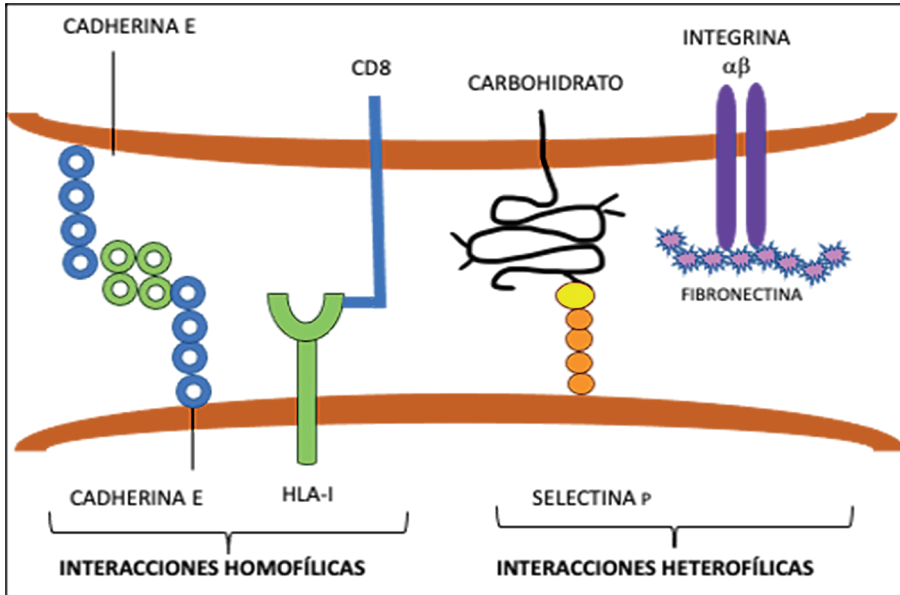
Los TLR de membrana reconocen patógenos extracelulares (bacterias, parásitos, hongos) y los TLR que se encuentran en la vacuola citoplasmática reconocen virus RNA y DNA y algunos microorganismos intracelulares.

- **Moléculas de adhesión celular**

Son proteínas que se encuentran en la superficie de las membranas de células del sistema inmune tanto innato como adaptativo. Pueden ser constitutivas, es decir que hacen parte estructural de la membrana o pueden ser inducidas, es decir que requieren de un estímulo, generalmente de citoquinas, para su expresión en la membrana de la célula. La función que cumplen estas moléculas es la adhesión entre dos células y la transmisión de señales para que la célula realice su repuesta efectora como expresión génica, cambios fenotípicos de inducción o expresión de moléculas en la membrana celular, que llevan a un cambio de estado en la activación celular o están activadas para realizar migración celular (**figura 1.31**).

La clasificación de estas moléculas está dada por la superfamilia de las inmunoglobulinas, las selectinas, JAMs, las cadherinas y las integrinas. La interacción entre estas moléculas cuando actúan como receptor y ligando puede ser homofílica (entre la misma familia) o heterofílica (entre familias diferentes).

Figura 1.31. Moléculas de adhesión celular. Interacción entre los diversos tipos de moléculas de adhesión



Nota. Elaboración propia

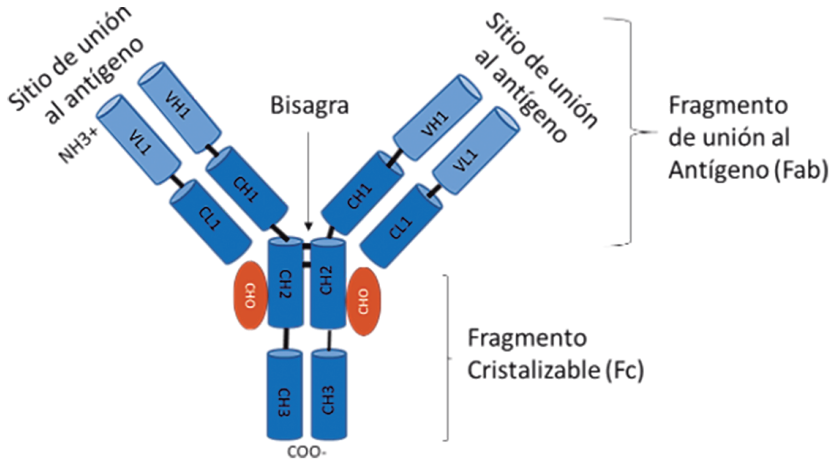
1.4.3.2. PROTEÍNAS DEL SISTEMA INMUNE ADAPTATIVO

1.4.3.2.1. Anticuerpos (Ac) o inmunoglobulinas (Ig)

Son glicoproteínas de alta especificidad para el antígeno que los estimuló con el fin de activar diversas respuestas del sistema inmune para su inactivación o eliminación, como es la activación del complemento, la fagocitosis y la actividad citotóxica, entre otras. Estas moléculas son producidas por los linfocitos B que posteriormente se transforman en las células plasmáticas o plasmocitos, productoras de los anticuerpos o inmunoglobulinas que se encuentran en circulación en el plasma de la sangre, la linfa y están en las mucosas del organismo.

Están conformadas por dos cadenas pesadas y dos livianas las cuales a su vez tienen regiones constantes y variables, además posee dominios que son los que cumplen las funciones biológicas del anticuerpo (**figura 1.32**).

Figura 1.32. Anticuerpo. Estructura de un anticuerpo



Nota. Elaboración propia.

Hay cinco tipos de anticuerpo que se secretan: IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, los cuales en su dominio y región variable unen de manera específica el antígeno. Una vez reconocen el antígeno, el anticuerpo ejerce funciones como la activación del complemento, sirve como opsonina para facilitar la fagocitosis del microorganismo, neutraliza virus y toxinas, permite que se lleve a cabo la citotoxicidad mediada por anticuerpos realizada por las NK, activa a los eosinófilos para eliminar parásitos, induce la inflamación al activar a los basófilos liberadores de histamina, son los responsables de las reacciones de hipersensibilidad en las alergias, transfieren inmunidad al recién nacido y en las mucosas forman una barrera específica contra patógenos.

REFERENCIAS

- ABBAS, A., LICHTMAN, A, y POBER, J. (2018). *Inmunología celular y molecular* (9 ed.). Elsevier. ISBN 84-8174-710-6.
- BATISTA, A., LASTRE, M. (2014). Adyuvantes inmunológicos. Determinantes en el balance eficacia-toxicidad de las vacunas contemporáneas. *Enf Infecc Microbiol Clin*, 32(2), 106-114. DOI 10.1016/j.eimc.2012.11.012.
- BEGOÑA, M. y SUREDA, M. (2012). Células dendríticas I: aspectos básicos de su biología y funciones. *Inmunología*, 31(1), 21-30. DOI: 10.1016/j.inmuno.2011.10.001.

- CABRERIZO, D., IOJA, A. (2020). TLOs: cuando el sistema inmune se asienta en el campo de batalla. <http://bq.facmed.unam.mx/wp-content/uploads/2020-O%CC%81rganos-linfoides-terciarios.pdf>.
- CAMPUZANO, G. (2008). Utilidad del extendido de sangre periférica: las plaquetas. *Medicina y Laboratorio*, 14(11-12), 511-531. Doi: <https://doi.org/10.36384/issn.0123-2576>.
- CHÁVEZ, F., ROJAS, M., FORTOUL, T. y TENORIO, E. (2017). Células T reguladoras tímicas: su origen, función e importancia en la salud y la enfermedad. *Rev Fac Med Mex*, 60(5), 36-44.
- CROTTY, S. (2015). A brief History of T cell help to B cell. *Nat Rev Immunol*, 15(3), 185-9. <https://doi.org/10.1038/nri3803>.
- DINARELLO, Ch. (2007). Historical Review of Cytokines. *Eur J Immunol*, 37(37) Supl: S34-S45. Doi: 10.1002/eji.200737772.
- INSTITUTO DE INFORMACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA. (2019). *Mastocitos*. <https://www.ecured.cu/index.php?title=Mastocitos&oldid=3531370>.
- GOLDSBY, R., KINDT, T., OSBORNE, B. y KUBY, J. (2004). *Inmunología* (5 ed.). McGraw Hill Interamericana.
- GONZÁLEZ, A. *et al.* (2019). El megacariocito: una célula muy original. *Rev. Fac. Med*, 62(1). <https://doi.org/10.22201/fm.24484865e.2019.62.1.02>.
- GUTIÉRREZ, J. A. (2010). *Inmunología veterinaria*. Manual Moderno.
- HILL, T., BEZBRADICA, J., VAN KAER, L. and JOYCE, S. (2016). *CD1d-Restricted Natural Killer T Cells*. John Wiley & Sons.
- JANEWAY, C. A. (1999). The discovery of T cell help for B cell antibody formation: a perspective from the 30th anniversary of this discovery. *Immunol Cell Biol*. 77(2), 177-9. Doi: 10.1046/j.1440-1711.1999.00814.x.
- KAUFMANN, S. (2019). Immunology's Coming Age. *Frontiers Immunol*, 10,1- 13. Doi: 10.3389/fimmu.2019.00684.
- KEOHANE, E., SMITH, L. and WALENGA, J. (2020). *Rodak's Hematology* (6th ed). Elsevier Saunders. ISBN 9780323530453.
- LÓPEZ, J. (1997). Retrospectiva de los premios Nobel de medicina y fisiología. *Rev Cubana Invest Biomed*, 16(1).
- MACE, E. (2023). Human Natural killer cells: form, function and development. *J Allergy Clin Immunol*, 151(2), 371-385. Doi: 10.1016/j.jaci.2022.09.022
- MALE, D. (2021). *Immunology an illustrated Outline* (6th ed.). Taylor and Francis Group. ISBN 978-1-003-13765-8.

- MARONE, G., SCHOEDER, J., MATTEI, F., LOFRESCO, S., GAMBARDELLA, A., POTO, R., et al. (2020). Is there a role for basophils in Cancer? *Front Immunol Sec. Cancer Immunity and Immunotherapy*, (11), 1-16. Doi:10.3389/fimmu.2020.02103.
- MEGÍAS, M., MOLIST, P. y POMBAL, M. A. (s. f.). *Atlas de histología vegetal y animal*. <http://mmegias.webs.uvigo.es/inicio.html>. (Consultado el 7 de febrero de 2023).
- MURPHY, K. y WEAVER, C. (2017). *Inmunología de Janeway* (9 Ed). Editorial Manual Moderno.
- NAVARRETE, J., MUÑOZ, L. y HERNÁNDEZ, R. (2013). La lepra: patología con conciencia histórica. *NOVA*, 3(1), 32-43.
- NOZAL, P. y LÓPEZ, M. (2016). Autoanticuerpos frente a proteínas de la vía alternativa del complemento en enfermedad renal. *Nefrología*, 35(5). <https://dx.doi.org/10.1016/j.nefro.2016.01.014>.
- PARHAM, P. (2011). *El sistema inmune* (3 ed.). Editorial Manual Moderno. ISBN 978-607-448-074-0.
- RAVIN, K. and LOY, M. (2016). The Eosinophil in Infection. *Clin Rev Allergy Immunol*, 50(2), 214-227. doi: 10.1007/s12016-015-8525-4
- REMEDIOS, A., PARDO, A., ZABALA, D. y BARRUETA, B. (2016). Evolución del pensamiento en Inmunología. *MediSur*, 14(2), 204-212.
- ROJAS, W., ANAYA, J., ARISTIZÁBAL, B., CANO, L. E., GÓMEZ, L. M. y LOPERA, D. (2017). *Inmunología de Rojas* (18 ed.). Corporación para Investigaciones Biológicas. ISBN 958907615-7.
- RUIZ, B., CRUZ, D., ESTRADA, I. and Wong I. (2017). Innate lymphoid cells and their role in immune response regulation. *Rev. Alerg. Mex*, 64(3). <https://doi.org/10.29262/ram.v64i3.284>.
- SALTAR A. (1979). History of Immunology. *Cell Immunol*, 42(1), 1-2.
- SALTAR, A., KUBY, J., KINDT, T., GOLDSBY, R. y OSBORNE B. (2007). *Panorama general del sistema inmunitario. Inmunología de Kuby* (6 ed.). McGraw Hill.
- SUÁREZ M. (2009). Análisis fenotípico de una población de CD4 intestinales murinas in vivo ante la administración de Brucella abortus. [Tesis de Maestría en Ciencias]. Instituto Politécnico Nacional Escuela de Ciencias Biológicas, México.
- TABORDA, N., HERNÁNDEZ, J., MONTOYA, C. y RUGELES M. (2014). Las células *natural killer* y su papel en la respuesta inmunitaria durante la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana tipo-1. *Inmunología*, 33(1), 11-20. Doi: 10.1016/j.inmuno.2013.11.002.

- TERABE, M. and BERZOFKY, J. (2018). Tissue-Specific Roles of NKT Cells in Tumor Immunity. *Front Immunol*, 9, 1838. Doi: 10.3389/fimmu.2018.01838.
- The Nobel Prize. (2023). *Nomination and selection of medicine laureates*. <https://www.nobelprize.org/nomination/medicine/>.
- YASUDA, K., TAKEUCHI, Y. and HIROTA, K. (2019). The pathogenicity of Th17 cells in autoimmune diseases. *Semin Immunopathol*, 41(3), 283-297. Doi: 10.1007/s00281-019-00733-8.
- ZAMBRANO, S. (2007). *Inmunología básica y clínica*. McGraw Hill Interamericana. ISBN 970-10-5513-6.

CAPÍTULO 2

RESPUESTA INMUNE INNATA

2.1. FACTORES DETERMINANTES EN LA FUNCIÓN DE LA INMUNIDAD INNATA

Un individuo sano se encuentra protegido contra gérmenes que pueden llegar a ser nocivos, estos pueden estar en el medio ambiente y entrar en contacto con el organismo desde el mismo momento del nacimiento. La respuesta inmune innata, que es de acción inmediata y carente de memoria inmunológica, posee mecanismos inespecíficos de reconocimiento del patógeno, ya que actúa contra una gran diversidad de agentes potencialmente infecciosos y no depende de una experiencia previa de contacto con el agente. La defensa contra el patógeno la realiza de manera eficaz desde el mismo momento de ingreso al organismo y durante las primeras fases de agresión (0 a 5 días). Si esta respuesta no logra eliminar el patógeno, por lo menos lo tiene bajo control mientras se desarrolla la respuesta inmune adaptativa, la cual requiere de más tiempo para su desarrollo y eficacia.

La respuesta inmune innata reconoce componentes estructurales propios de los microorganismos patógenos que no se encuentran en las células de los mamíferos, es incapaz de reconocer partículas que no son de origen microbiano, a diferencia de la inmunidad adaptativa que tiene la propiedad de reconocer una amplia gama de sustancias extrañas, sean o no producidas por un microorganismo.

Los patógenos usan los tejidos del cuerpo humano de diferentes formas: viven, se multiplican y en algunos momentos pueden causar daño al huésped. Estos agentes se pueden clasificar en intracelulares, que son los que requieren estar dentro de una célula para su sobrevivencia y replicación, y los extracelulares que se pueden multiplicar en los espacios intercelulares del huésped. Entre los agentes intracelulares están los virus, las bacterias y los parásitos intracelulares (micobacterias y parásitos como *Plasmodium*, por ejemplo) y los antígenos tumorales. La mayoría de parásitos, bacterias y hongos son microorganismos extracelulares.

Dependiendo del sitio donde los microorganismos se encuentren, determina el tipo de respuesta inmune. Si los microorganismos se encuentran fuera de la célula, el sistema del complemento, los anticuerpos o los fagocitos, tienen acceso

al patógeno para su eliminación, contrario sucede con los microorganismos intracelulares, en este caso se requiere primero destruir la célula que está parasitando por medio del sistema de complemento y las NK y así acceder al patógeno para su eliminación.

Un factor a tener en cuenta son las diferencias en la susceptibilidad de las distintas especies frente a los patógenos. Por ejemplo, la rata es resistente a la difteria, mientras que el cobayo y el humano son muy susceptibles. La susceptibilidad a una infección no siempre implica falta de resistencia a la enfermedad causada por el agente.

Factores genéticos como no genéticos influyen en la variabilidad que existe en relación con el número y función de las células, así como en la concentración de las proteínas del sistema inmune. Se han realizado estudios sobre el impacto de los factores ambientales, genéticos y del microbioma intestinal sobre la producción de las citoquinas como principales proteínas amplificadoras de la respuesta inmune, lo que permite que algunas personas sean más susceptibles a desarrollar infecciones mientras que otras no. Factores ambientales como las estaciones, han permitido analizar cómo influyen en la producción de las citoquinas, lo que explica en alguna medida, la aparición de enfermedades inflamatorias. En relación con el microbioma, se ha observado que en respuesta a patógenos concretos, algunas bacterias de la flora intestinal influyen en la producción de algunas citoquinas.

Además, la variación genética tienen un peso importante en la producción de citoquinas para aportar en la resistencia a la infección y esta depende del tipo de estímulo antigénico que se presente, si es de origen bacteriano, viral o fúngico.

La edad es otro factor determinante en la resistencia o no a las infecciones, ya que se conoce que las infecciones son más graves en la infancia y está relacionada con la inmadurez inmunológica del individuo que afecta la capacidad de enfrentarse y reaccionar contra agentes extraños. Caso contrario sucede en enfermedades como la varicela y la poliomielitis en las que la enfermedad clínica es más grave en adultos que en niños, posiblemente debido a que la respuesta inmune es más activa y causa más daño tisular. En los ancianos hay disminución general de la actividad del sistema inmune, que aunado a anomalías físicas, aumenta la susceptibilidad a infecciones.

Por otra parte, puede haber disminución a la resistencia a las infecciones cuando hay anormalidades en la actividad enzimática u hormonal, como en el caso de la diabetes mellitus, el hipotiroidismo, etc. A pesar de que no hay diferencias significativas en la resistencia a infecciones entre los sexos, la incidencia e índice de mortalidad es mayor en los varones por enfermedad infecciosa, aunque en casos como la tosferina y hepatitis la morbilidad y mortalidad se incrementa

en las mujeres. Otro factor que incide en la resistencia o susceptibilidad a las infecciones es la raza; la raza negra es más susceptible a la coccidioidomicosis y a la tuberculosis, en cambio es más resistente a la malaria.

Factores nutricionales pueden incidir en la resistencia o susceptibilidad a la enfermedad infecciosa, así, una alimentación baja en nutrientes está relacionada con el incremento de infecciones bacterianas ya que hay disminución en número y actividad de los leucocitos. Sin embargo, esto también afecta la patogenicidad de los virus y parásitos intracelulares, al no encontrar el microambiente nutricional óptimo en la célula, lo que afecta la multiplicación intracelular del patógeno. La nutrición escasa está también relacionada con condiciones ambientales inadecuadas, condiciones sanitarias deficientes y la sobrepoblación, los cuales son factores que favorecen el incremento de la frecuencia de las infecciones.

2.2. BARRERAS DE LA INMUNIDAD INNATA

La inmunidad innata es un complejo sistema de defensa que posee el organismo humano desde que nace y consta de barreras físicas, anatómicas, celulares, químicas y proteicas, que le permiten proteger al organismo contra todos los posibles agentes con los que se entra en contacto (**tabla 2.1**).

Tabla 2.1. Barreras de la inmunidad innata: componentes físicos, químicos, celulares y proteicos que actúan contra un agente agresor por parte de la inmunidad innata

BARRERAS DE LA INMUNIDAD INNATA	
Anatómicas	Piel, mucosas, microbioma, secreciones (moco, saliva, sudor, lágrima, orina, semen), cilios
Fisiológicas	Temperatura, pH bajo, mediadores químicos: lisozima, proteasas, ácidos grasos, ácidos láctico, Sistema de complemento, receptores Toll (TLR), colectinas, péptidos antimicrobianos (defensinas, criptocidinas), citoquinas
Fagocíticas/endocíticas	PMN, macrófagos y células dendríticas
Linfocitos intraepiteliales	Linfocitos T $\gamma\delta$ Linfocitos B1
Citotóxicas	NK, NKT, eosinófilos
Inflamatorias	Proteínas séricas, vasodilatación, basófilos y mastocitos

Como **barrera anatómica** de mayor extensión está la **piel**, que posee dos capas distintas: una externa más delgada, *la epidermis*, compuesta por varias

capas de una gran densidad de células epiteliales, células muertas y queratina que es una proteína impermeable que los microorganismos no pueden digerir. La otra capa, más gruesa, *la dermis*, está compuesta por tejido conjuntivo, conectado a vasos sanguíneos, folículos pilosos, glándulas sebáceas y sudoríparas. La piel constituye la primera barrera que tiene el organismo contra los agentes patógenos, es impenetrable, por lo tanto proporciona una alta protección contra las infecciones y solo es vulnerable cuando hay lesiones que permiten el ingreso de los patógenos. La sequedad de la piel, la alta concentración de sal del sudor y los ácidos grasos de las secreciones sebáceas, actúan como bactericidas y fungicidas y constituyen un mecanismo eficaz contra de la infección.

En la piel hay sustancias microbicidas como el ácido láctico, aminoácidos, ácido úrico y amoniaco, que son producidos por las glándulas sudoríparas y le confieren al sudor un pH de 5,5 que actúa como microbicida, además, las células epiteliales de la piel producen péptidos antimicrobianos de amplio espectro contra bacterias y hongos como las defensinas. Por otra parte, las glándulas sebáceas al producir triacilglicéridos, ácidos grasos libres y alcoholes, forman un manto ácido que actúa como barrera para bacterias, virus y otros contaminantes que pueden penetrar en la piel, además de mantener la integridad de la piel, también tienen propiedades pro y antiinflamatorias (**tabla 2.2**).

Otra barrera son las **mucosas**, sin embargo, a través de ellas se facilita un contacto estrecho entre el organismo y el medio ambiente y es la manera más frecuente para que la mayoría de los agentes infecciosos ingresen al organismo. La superficie mucosa en el cuerpo humano, incluye las mucosas de la cavidad oral, de las vías respiratorias, del tracto genitourinario y gastrointestinal. Estas superficies mucosas contienen cilios cuya acción y movimiento permiten el barrido de las secreciones que contienen el material extraño, y el moco producido por las células que componen la mucosa, atrapan el microorganismo con el fin de evitar su colonización.

Es el caso de la función de la mucosa en el árbol respiratorio, que toman el material de la faringe para ser deglutido, una vez en el estómago el ácido destruye los microorganismos, el tubo digestivo no tiene cilios, pero el moco atrapa los microorganismos que junto con el peristaltismo de la mucosa, no permite la multiplicación excesiva del agente; por otra parte, el epitelio del intestino produce péptidos antimicrobianos llamados criptocidinas, que actúan contra microorganismos que se localizan en las criptas del intestino.

Además, las secreciones nasales y la saliva se convierten en una trampa para partículas que ingresan por esta vía, que al contener mucopolisacáridos, bloquean algunos patógenos como los virus. Las secreciones producidas por las mucosas como las lágrimas, secreciones del árbol respiratorio, del tubo digestivo y vías genitourinarias, contienen lisozimas que actúan contra bacterias Gram positivas.

La acción de arrastre de las lágrimas y de la orina, impide que las bacterias colonicen debido al alto flujo de las secreciones producidas.

Otra barrera es el **microbioma** que está conformado por organismos comensales que causan poco daño en el tejido que habita en el huésped, mientras que los patógenos dañan los tejidos causando enfermedad. Los comensales se encuentran en la piel, la mucosa oral, gastrointestinal, genital y en la conjuntiva, donde colonizan formando el microbioma compuesta de bacterias, arqueas y hongos. Estos cumplen funciones importantes, como procesar el alimento digerido, producir vitaminas, impedir la colonización de microorganismos patógenos, producir moléculas antibacterianas en el intestino como la colicina, producida por la *Escherichia coli*, la cual incapacita a otras bacterias a colonizar la mucosa intestinal.

La barrera epitelial está formada por las cavidades serosas y allí se encuentran los **linfocitos T intraepiteliales (LT $\gamma\delta$)** y **linfocitos B1**, los cuales se consideran como células de la inmunidad innata ya que son inespecíficos y no dejan memoria; en la barrera epitelial estas células actúan como guardianes en zonas donde habitualmente hay invasión de microorganismos los cuales son reconocidos y responden contra ellos para eliminarlos. Los **linfocitos T intraepiteliales** poseen el receptor **TCR $\gamma\delta$** , que reconoce una variedad limitada de antígenos de tipo glucolípidos y que son presentados por el receptor CD1, localizado en la superficie de las células epiteliales del intestino, acción semejante a la presentación de antígenos por parte del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH).

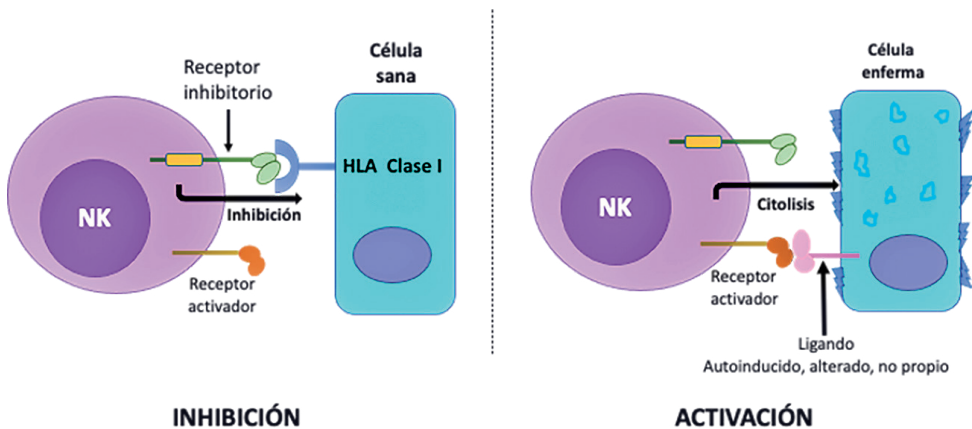
Otra población celular dentro de la línea linfoide que se encuentra restringida por la presentación de CD1, son los **linfocitos NKT**, que ejercen acción citotóxica frente a células tumorales e infectadas con virus; ambas poblaciones de linfocitos se encuentran clasificadas en una categoría especial dentro de la inmunidad innata, cuya respuesta efectora es producir citoquinas que activen los fagocitos y la respuesta inflamatoria, la cual participa en la eliminación del patógeno sin producir memoria. Los **linfocitos B1**, que igualmente tienen una diversidad limitada de reconocimiento de antígenos, sintetizan únicamente Inmunoglobulina M (IgM) contra lípidos y polisacáridos como la fosforilcolina y lipopolisacáridos que están contenidos en la membrana de muchos microorganismos, no hacen mutación somática, es decir no pueden sintetizar los otros tipos de inmunoglobulinas y no dejan memoria.

Otra célula de la inmunidad innata con función efectora citotóxica además de las NKT, es la célula asesina natural o **linfocito NK**. Esta subpoblación de linfocitos destruye células infectadas por microorganismos intracelulares, células tumorales y células que ya no expresen moléculas del CMH Clase I; además, las NKT sintetizan citoquinas especialmente el interferón gamma (IFN γ), el Factor de Necrosis Tumoral alfa (FNT α), participan en la regulación de la respuesta

inmune, el rechazo de trasplantes de médula ósea, en la autoinmunidad y el mantenimiento de los embarazos.

La acción de las NK depende de las señales generadas por receptores activadores y reguladores denominados receptores KIR, de los cuales se han caracterizado catorce receptores (seis son activadores y ocho son inhibidores); cuando se unen los receptores inhibidores de las NK a moléculas del CMH Clase I, la NK no se activa con el fin de inhibir la lisis de células propias y normales del huésped. Por el contrario, si la célula del huésped está infectada con un virus, este no permite que la célula exprese CMH Clase I, lo que hace que el receptor inhibidor no encuentre su ligando, entonces la NK sale de su estado de inhibición y destruye la célula infectada mediante la traducción de señales intracelulares que dan como resultado la liberación de proteínas llamadas perforinas que, como su nombre lo indica, perforan la membrana de la célula diana y liberan granzimas que son enzimas que ingresan por estos poros e inducen apoptosis causando lisis y muerte de la célula blanco (**figura 2.1**).

Figura 2.1. Acción de las células NK: cuando encuentran en la célula sana moléculas HLA expresadas en su membrana inhibe la acción de las NK. Si estas moléculas no se encuentran en las células afectadas, la NK se activa para la lisis de la célula blanco

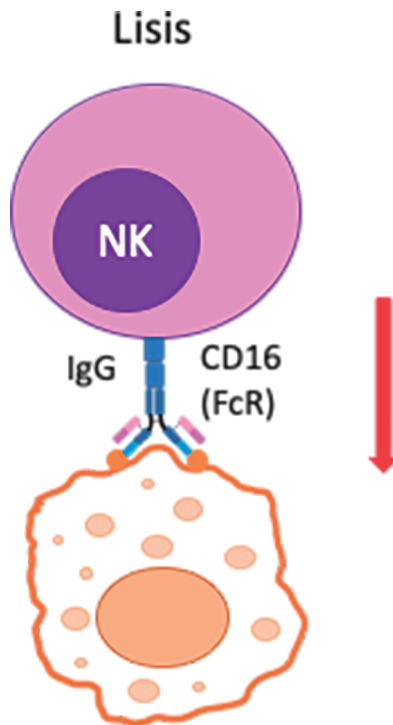


Nota. Elaboración propia.

Otro mecanismo que poseen las NK para eliminar células afectadas, es que la célula blanco se encuentre recubierta con anticuerpos tipo IgG, específicamente IgG₁ e IgG₃; la NK mediante un receptor de membrana, FcγRIIIa, reconoce estos anticuerpos atrapando a la célula blanco; esta unión de receptores permite que la NK traduzca señales intracelulares para la producción y liberación de

perforinas que producen poros en la célula infectada, mecanismo que se denomina citotoxicidad mediada por anticuerpos que causa la muerte de la célula blanco (figura 2.2).

Figura 2.2. Citotoxicidad de la NK mediada por anticuerpos: las IgG reconocen el patógeno que se expresa sobre la membrana de la célula blanco y la NK reconoce este complejo antígeno-anticuerpo (Ag-Ac) e inicia su proceso de activación para dar como resultado la lisis de la célula afectada

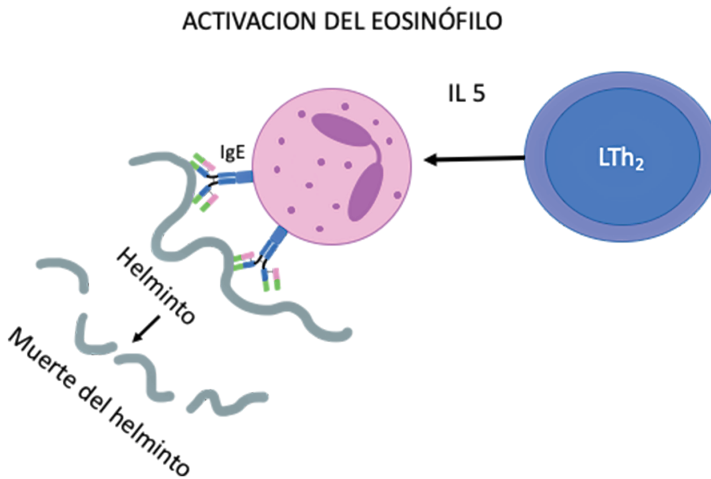


Nota. Elaboración propia.

Los **eosinófilos** juegan un papel importante en la inmunidad innata en la protección contra parásitos, especialmente helmintos y actúa en enfermedades alérgicas como el asma. Estas células tienen receptores para la porción Fc de la IgG y de la IgE. El mecanismo de acción inicia con la unión de los receptores del eosinófilo a la porción Fc de los anticuerpos que reconocen al parásito; esta acción permite que se genere una traducción de señales en el eosinófilo que lo activa a realizar la liberación de sus gránulos, estos tienen proteínas catiónicas como la proteína básica principal, proteína catiónica eosinofílica y enzimas como la

peroxidasa eosinofílica, hidrolasas lisosómicas y lisofosfolipasas, moléculas que son tóxicas porque degradan las paredes celulares de los helmintos y protozoos causando la muerte de este tipo de patógenos (**figura 2.3**). Otras funciones del eosinófilo es actuar en contra de algunas bacterias y células del huésped y la remodelación del tejido afectado.

Figura 2.3. *Acción citotóxica del eosinófilo que la ejerce cuando es activado por la IL-5 y une los receptores Fcε de la membrana del eosinófilo con la IgE que ha reconocido al parásito. Esta unión da como resultado la liberación de enzimas que producen poros en la membrana del parásito causando su muerte*



Nota. Elaboración propia.

Finalmente, dentro de la dinámica de la respuesta inmune innata, es importante tener en cuenta que esta se inicia de manera inmediata cuando el patógeno se establece en el tejido u órgano; posteriormente se da la fase inductiva en la que el agente infeccioso que logra colonizar incrementa sus cantidades a medida que se multiplica y si este valor logra sobrepasar la concentración del umbral del antígeno, se inicia la respuesta inmune adaptativa; sin embargo, el patógeno sigue multiplicándose de manera restringida por la acción de la respuesta inmune innata. En la fase efectora, después de 4 a 7 días se activa la respuesta humoral y celular específica contra el patógeno para iniciar con la memoria inmunológica y se logre la depuración del antígeno. Por último, cuando la infección se ha logrado eliminar y la dosis del antígeno ha descendido por debajo del umbral de respuesta, esta queda regulada y las células y proteínas de memoria y las células efectoras residuales protegen al individuo de manera prolongada contra una reinfección causada por el mismo agente.

2.3. SISTEMA DE COMPLEMENTO

Descubierto en 1890 por Jules Bordet del Instituto Pasteur, quien analizó la capacidad lítica de un antisuero contra el *Vibrio cholerae*, actividad que fue eliminada al calentar el antisuero; su acción bacteriolítica fue restaurada al adicionar suero fresco sin anticuerpos contra la bacteria, pero fue incapaz de destruir por sí solo el microorganismo. Bordet analizó estos resultados y concluyó que se requieren dos sustancias diferentes: anticuerpos antibacterianos específicos, los cuales sobreviven al calentamiento y un segundo componente lábil a temperaturas altas, con capacidad de producir lisis del microorganismo que denominó *Sistema de complemento*, término que Paul Erlich implementó luego de realizar experimentos, y lo definió como “la actividad del suero que complementa la acción del anticuerpo”.

Este sistema de complemento está compuesto por un grupo complejo de más de treinta proteínas y glucoproteínas que las sintetizan: los hepatocitos, monocitos, macrófagos y células epiteliales del aparato digestivo y genitourinario; se encuentran de forma soluble en suero o plasma y en forma insoluble en la superficie de la membrana de la célula blanco. Las proteínas que circulan en suero o plasma actúan como proenzimas, que es el estado funcional inactivo denominado zimógeno, que solo pueden ser enzimáticamente activas después del corte proteolítico causado por otra proteína del complemento que hace que se fragmenten en dos moléculas de diferente tamaño, el inhibidor de la proteína es eliminado y expone el sitio activo, adquiriendo una actividad enzimática proteolítica en cascada, la cual genera un fragmento que se fija a la membrana de la célula a lisar, y un fragmento que es soluble y producen otras funciones efectoras importantes en la respuesta inmune innata y adaptativa.

Entre las funciones del sistema de complemento, la principal y objeto de la activación, es la lisis de la célula blanco que pueden ser células apoptóticas, bacterias y células infectadas con virus. En la acción proteolítica de las moléculas del complemento que se activan en cascada, genera dos fragmentos, uno de mayor tamaño que se fija a la membrana de la célula blanco y otra de menor tamaño que queda libre en el plasma o suero, denominadas anafilotoxinas.

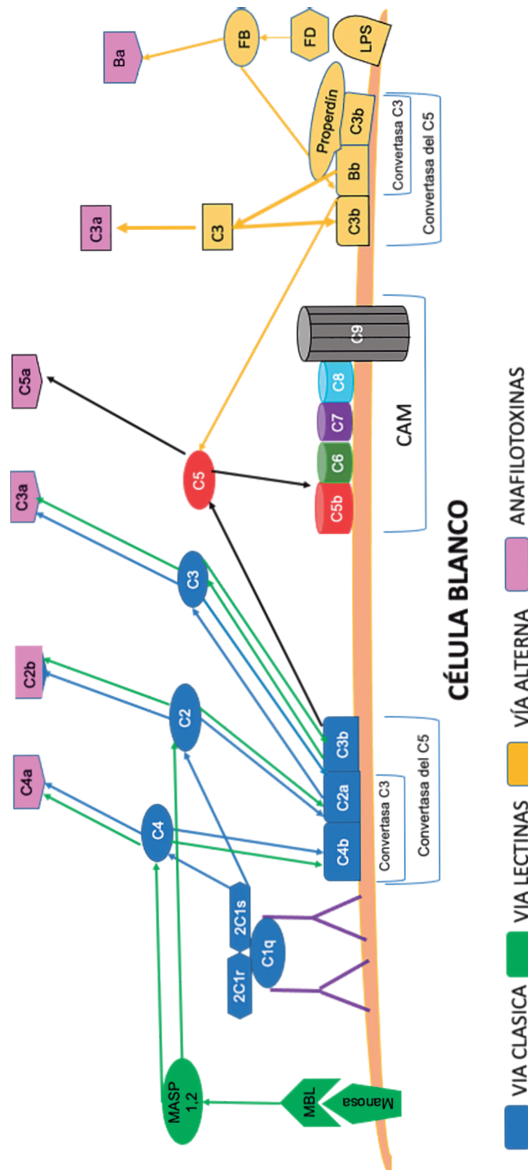
Las anafilotoxinas cumplen funciones proinflamatorias, producción de moléculas inmunorreguladoras, promueven la activación de los LB para producir anticuerpos, depuran el sistema inmune al degradar complejos inmunes circulantes que deposita en el bazo e hígado, activa la quimiotaxis (movimiento celular dirigido) y promueve la opsonización al marcar el microorganismo en su membrana para facilitar la fagocitosis.

Por otra parte, se ha observado que el complemento juega un papel significativo en enfermedades relacionadas con la edad, incluyendo la enfermedad

de Alzheimer, enfermedades relacionadas con la degeneración macular y osteoartritis, aunque su mecanismo de acción aún no es claro.

El sistema de complemento está compuesto por tres vías de activación: la vía clásica, la vía alterna y la vía de las lectinas (**figura 2.4**). Cada una de estas vías está conformada por proteínas que reconocen los componentes adheridos a la membrana celular o los que son constitutivos de esta, luego la conforman proteínas que activan la vía del complemento y se produce la liberación de las anafilotoxinas y por último, se encuentra la unidad de ataque de membrana que es la productora de poro inductor de lisis celular (**tabla 2.2**).

Figura 2.4. Esquema de activación del complemento por la vía clásica (azul), alterna (amarillo) y lectinas (verde) hasta llegar al Complejo Ataque de Membrana (CAM) para la formación del poro inductor de la lisis de la célula blanco y la liberación de las anafilotoxinas (fucsia).



Nota. Abreviaturas: proteasas de serina (MASP), ligando de unión a la manosa (MBL), lipopolisacárido (LPS), factor D (FD), factor B (FB). *Nota:* Elaboración propia.

Tabla 2.2. *Vías del sistema de complemento: componentes y características de activación*

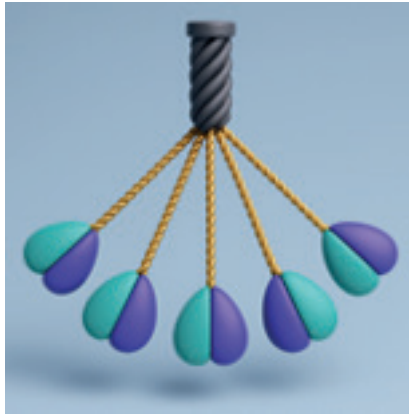
Característica	Vía clásica	Vía alterna	Vía lectinas
Componentes de reconocimiento	C1q, C1s	C1r, Ausencia de factor H, iC3b, properdín	MBL (lectina ligadora de manosa), MASP1, MASP2 (proteasas de serina)
Componentes de activación	C4, C2, C3	C3, Factor B, D	C4, C2, C3
Componentes del Complejo Ataque de Membrana (CAM)	C5, C6, C7, C8, C9	C5, C6, C7, C8, C9	C5, C6, C7, C8, C9
Quien activa	IgM, IgG1, IgG2, IgG3	Polisacáridos, inulina, lipopolisacáridos, zimosán, IgG4, IgA	Monosacáridos
Condición para que se active	Presencia de Ag-Ac	Deficiencia de ácido siálico	Presencia de manosa

2.3.1. VÍA CLÁSICA

La condición para que se active esta vía es que exista un complejo Ag-Ac y los anticuerpos que la pueden activar son, en orden descendente de activación, la IgM, IgG3, IgG1 y la IgG2. Para que suceda esta activación, una vez hay un complejo Ag-Ac, los dominios que se encuentran en el fragmento Fc de la región constante de los anticuerpos, sufren cambios conformacionales para exponer el sitio de unión entre ese dominio del anticuerpo y el primer componente de esta vía que es la molécula C1q. La molécula C1q está conformada por 18 cadenas polipeptídicas unidas entre sí para formar seis brazos de triple hélice, de los cuales sus extremos globulares se unen al dominio CH2 de la IgG o al dominio CH3 de la IgM (**figura 2.5**).

Proteína de 400 kDa formada por dieciocho cadenas peptídicas agrupadas de tres en tres para formar seis subunidades en forma de Y unidas en el tallo que terminan en una cabeza globular no helicoidal que se unen a la porción Fc del Ac. Estas estructuras que conforman las cabezas globulares, deben unirse a dos sitios de unión de la porción Fc de los anticuerpos, es decir que se requieren dos IgG que se encuentren a 20-30 nm de distancia entre ellas para fijar una molécula C1q, o una molécula de IgM (posee cinco porciones Fc) para que se fije una molécula C1q.

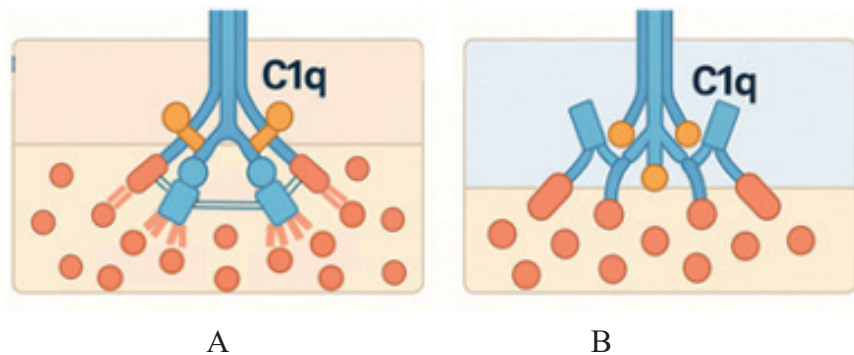
Figura 2.5. Molécula C1q: estructura polimérica de la molécula C1q



Nota. Imagen generada por inteligencia artificial a través de ChatGPT. OpenAI, 2025 <https://chat.openai.com>

La IgM tiene cinco porciones Fc (pentámero) y una vez reconoce la membrana del antígeno, se une a ella en forma de grapa, en la cual se exponen por lo menos tres sitios de unión para C1q (**figura 2.6**), es de anotar que la IgM que se encuentra en circulación tiene forma plana, los sitios de unión para C1q no se encuentran expuestos, por lo tanto, no puede fijar la molécula C1q, solamente cuando se dobla al reconocer el antígeno.

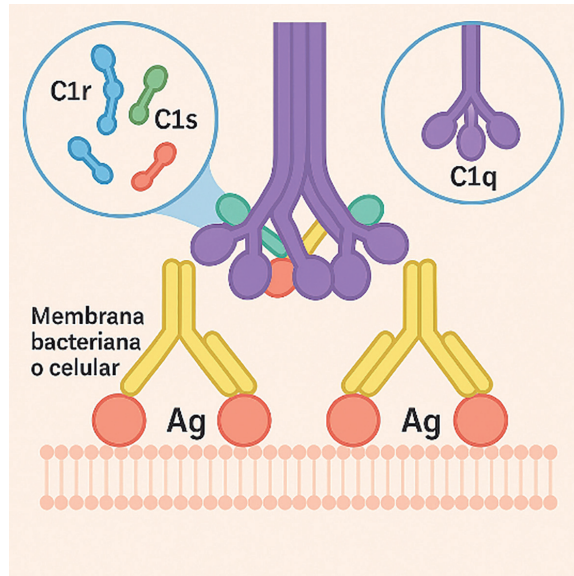
Figura 2.6. Unidad de reconocimiento unida a los anticuerpos IgG e IgM: (A) unión de la molécula C1q a la IgM que se encuentra plegada sobre la membrana del patógeno que reconoció. (B) Unión de la C1q a dos moléculas de IgG



Nota. Imagen generada por inteligencia artificial a través de ChatGPT. OpenAI, 2025 <https://chat.openai.com>

Una vez sucede la unión C1q-Ac, dos moléculas de C1r y dos moléculas de C1s que se encuentran en circulación se adhieren formando el complejo C1qr2s2 el cual es estabilizado por iones de Ca^{++} , quedando conformada la unidad de reconocimiento del complejo Ag-Ac. Cada molécula de C1r y C1s tiene un dominio catalítico y otro de interacción con la molécula C1q (**figura 2.7**).

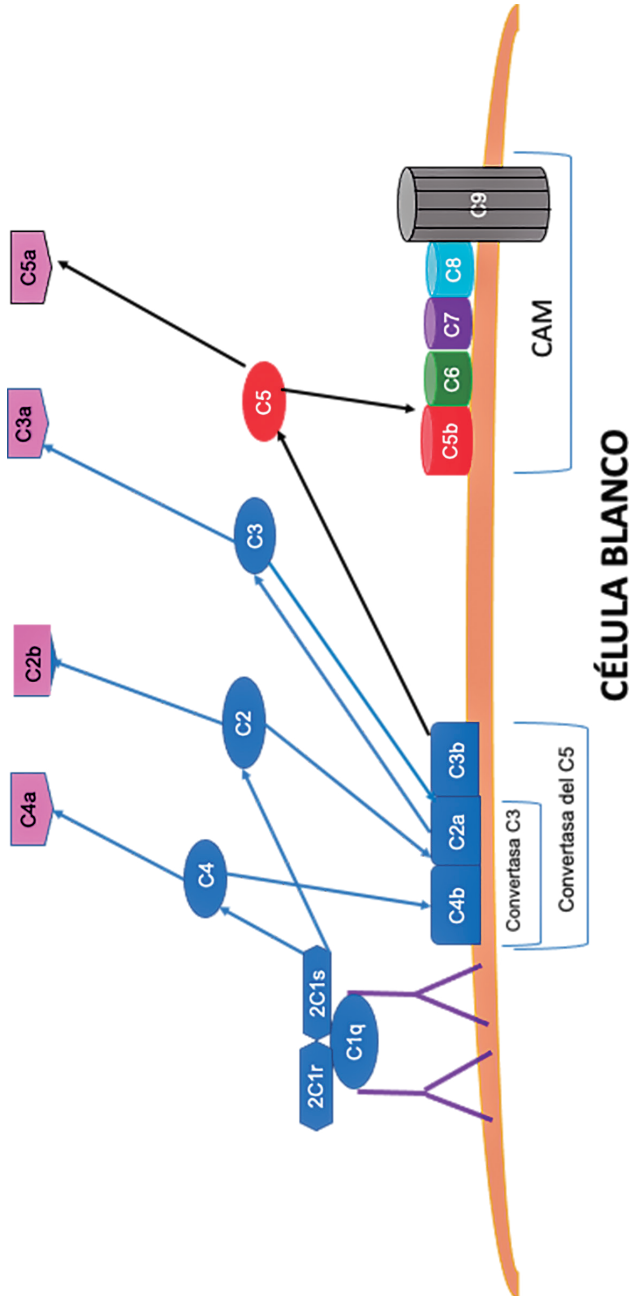
Figura 2.7. Formación de la unidad de reconocimiento por la vía clásica que reconoce dos anticuerpos IgG a la que se une una molécula C1q y dos moléculas C1r y dos C1s para conformar la unidad de reconocimiento del complejo Ag-Ac



Nota. Imagen generada por inteligencia artificial a través de ChatGPT. OpenAI, 2025 <https://chat.openai.com>

La unión de la molécula C1r a C1q, hace que C1r se convierta en una proteasa de serina activa, que fragmenta a C1s quedando con actividad enzimática sobre C4 y C2. C4 se hidroliza por acción de C1s, dando como resultado un fragmento pequeño denominado C4a que queda libre en suero (anafilotoxina) y el fragmento de mayor tamaño C4b, se fija muy cerca al sitio donde se encuentra C1 en la superficie de la célula a lisar. C1s fragmenta igualmente a C2 en C2b que es el fragmento de menor tamaño (anafilotoxina) y C2a, que se fija en la membrana muy cerca al sitio de unión de C4b. El complejo C4bC2a se denomina la convertasa del C3, la cual activa y fragmenta el C3 circulante en dos, C3a que queda en circulación (anafilotoxina) y C3b que se fija al lado de la convertasa de C3 (**figura 2.8**).

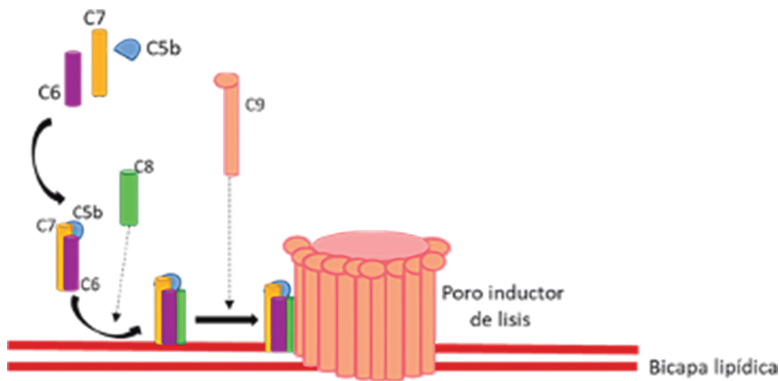
Figura 2.8. Reconocimiento y activación vía clásica por la presencia de un complejo Ag-Ac. En la figura se observa la unión de dos IgG unidas a la célula blanco, donde se forma la unidad de reconocimiento, las convertasas de C3 y de C5 y se llega al Complejo Ataque de Membrana para producir el poro que induce la lisis celular



El complejo trimolecular $C4bC2aC3b$ se denomina la convertasa de C5, que actúa proteolíticamente sobre C5 fraccionándolo en C5a que queda en circulación (anafilotoxina) y C5b que se adhiere a la membrana de la célula blanco en un lugar diferente al de las convertasas e inicia la etapa final denominada *Complejo de Ataque de Membrana (CAM)*. C5b es un fragmento muy lábil y es estabilizado por C6, a medida que se une C5bC6 y C7 se forma un complejo estructural que expone las regiones hidrófobas para permitir que se inserte el complejo C5bC6C7 dentro de la bicapa de fosfolípidos.

El complejo C5bC6C7 induce un cambio conformacional en C8 que expone una región hidrófoba que interactúa con la membrana plasmática (**figura 2.8**). El complejo C5bC6C7C8 forma un pequeño poro de 10 Å de diámetro. Al complejo C5bC6C7C8 lo rodean 10 a 17 moléculas de C9, las cuales se polimerizan y logran atravesar la membrana de la célula blanco formando un poro de un tamaño de 70 a 100 Å, a través de este microtúbulo, los iones y pequeñas moléculas se difunden con libertad, ingresa agua y pierde electrolitos, lo que hace que la célula pierda su estabilidad osmótica, estalle y muera (**figura 2.9**).

Figura 2.9. Complejo Ataque de membrana (CAM) compuesto por C5b que fija las moléculas C6, C7, C8 y 12 moléculas de C9 las cuales forman el poro inductor de lisis



Nota. Elaboración propia.

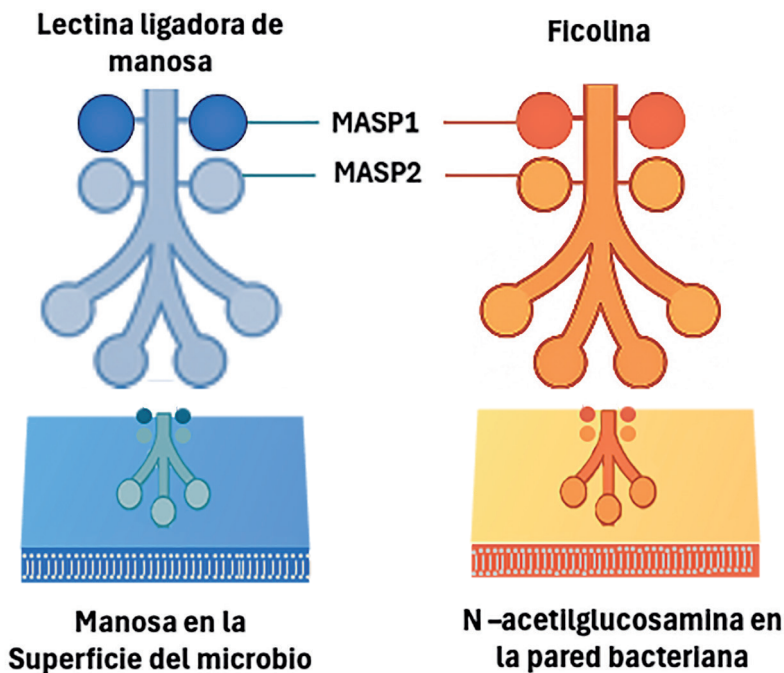
2.3.2. VÍA LECTINAS

Las lectinas son proteínas que reconocen carbohidratos. La vía de las lectinas no requiere la presencia de anticuerpos para su activación, sino que sucede cuando los patrones de reconocimiento se unen a los componentes de la membrana del patógeno. Dentro de los patrones de reconocimiento están la Lectina de Unión a la manosa (MBL) y las ficolinas (ficolina-1, ficolina-2 y ficolina-3),

cuya estructura es semejante a la molécula C1q, y las colectinas (colectina-10 y colectina-11). La MBL reconoce moléculas de polisacáridos con cadenas laterales de manosa o glucosa; las ficolinas se unen a residuos de N-acetilglucosamina que se encuentran unidos a carbohidratos o glucoproteínas de la superficie de los microorganismos (*Salmonella*, *Neisseria*, *Cryptococcus neoformans*, *Cándida albicans*, entre otras); las colectinas se unen a lipopolisacáridos de la membrana de los microorganismos.

Las proteasas de serina MASP1 y MASP2, tienen funciones semejantes a C1r y C1s de la vía clásica, y forman un complejo con los patrones de reconocimiento MBL o ficolina, mostrando una actividad catalítica para C4 y C2 (**figura 2.10**).

Figura 2.10. Complejo Lectina Ligadora de Manosa MBL+MASP1 y MASP2 reconociendo manosa y ficolina + MASP1 MASP2 reconociendo N- acetilglucosamina

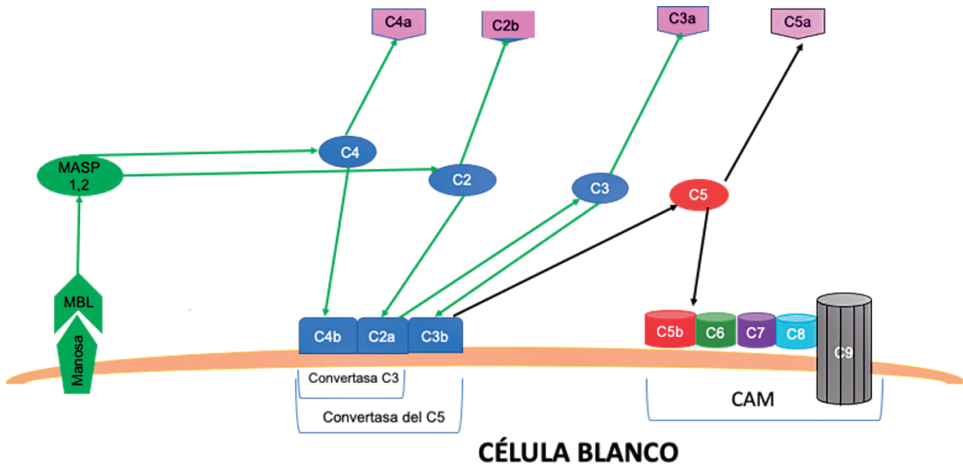


Nota. Imagen generada por inteligencia artificial a través de ChatGPT. OpenAI, 2025 <https://chat.openai.com>

Al tener actividad catalítica sobre C4 y C2 se producen las anafilotoxinas C4a y C2b y en la membrana de la célula blanco se forma la convertasa del C3 (C4bC2a) que cliva a C3 en C3a (anafilotoxina) y C3b (**figura 2.11**). El fragmento

C3b se une a la convertasa del C3 y se forma la convertasa del C5, clivando a C5 en C5a (anafilotoxina) y C5b que se fija en la membrana de la célula blanco para iniciar el CAM (figura 2.9).

Figura 2.11. Activación de la vía de las lectinas al reconocer la manosa como componente estructural del microorganismo fracciona las moléculas para producir las convertasas de C3 y de C5 para formar el Complejo Ataque de Membrana que produce el poro en la membrana de la célula blanco



2.3.3. VÍA ALTERNA

En la vía alterna, también denominada la vía del properdín, es una de las primeras respuestas de la inmunidad innata que se activa frente al microorganismo invasor, especialmente de carácter bacteriano, en donde se requiere que la célula blanco sea deficiente en ácido siálico. El properdín es una proteína que es producida por los macrófagos, los linfocitos T y los neutrófilos y se requiere para estabilizar a la convertasa del C3 producida por esta vía.

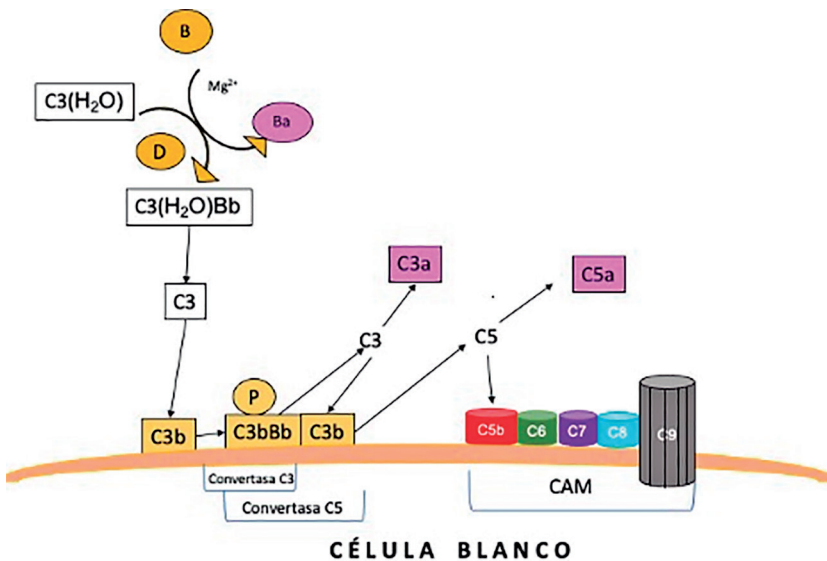
Uno de los componentes del sistema de complemento de mayor concentración es el C3, que implica la exposición e hidrólisis del enlace tioéster de una pequeña cantidad de esta molécula que genera una forma del C3 llamada iC3b, reacción que no implica ruptura de la molécula C3 y que por ausencia del factor regulador H en la membrana de la célula blanco, permite que la vía alterna se active.

La forma iC3b se une al factor B que se encuentra inactivo, pero que lo hace susceptible a la actividad enzimática proteolítica del factor D en presencia de Mg^{++} , generando dos fragmentos, uno de menor tamaño y soluble Ba (anafilotoxina) y uno de mayor tamaño Bb, que se adhiere a la membrana de la célula blanco y se une al fragmento C3b. El complejo C3bBb es una enzima

que es estabilizada por el properdín y se denomina convertasa del C3 por la vía alterna, tiene actividad proteolítica sobre C3 (**figura 2.12**).

Esta convertasa fragmenta a C3 en C3a (anafilotoxina) que queda soluble y C3b que se une a la convertasa del C3 por la vía alterna, formando la convertasa del C5, C3bBbC3b, que fragmenta a C5 en C5a (anafilotoxina) y C5b que se fija en la membrana de la célula blanco en otro lugar diferente al de las convertasas, llegando la vía alterna al Complejo Ataque de Membrana (CAM) (**figura 2.9**).

Figura 2.12. Activación de la vía alterna para causar la lisis de la membrana de la célula blanco



Nota: Elaboración propia.

2.3.4. ANAFILOTOXINAS

Durante la activación del complemento se fraccionan las moléculas que lo componen por la actividad catalítica de sus proteínas activas, generando dos fragmentos, uno de menor tamaño designado con la letra a y los de mayor tamaño designado con la letra b, excepto con la molécula C2 donde el fragmento grande es C2a y el pequeño C2b. Con relación a la molécula C3, cuando se activa se fracciona en C3a y C3b; C3b da origen a iC3b, C3dg, C3e y C3d cumpliendo igualmente funciones importantes en la respuesta inmune (**tabla 2.3**).

Los fragmentos pequeños que quedan solubles en el plasma se denominan **anafilotoxinas**, mientras que los de mayor tamaño se fijan en la membrana de la célula blanco para continuar con la cascada del complemento. Las anafilotoxinas

cumplen funciones amplificadoras de la respuesta inmune tanto en la inmunidad innata como la adaptativa, funciones que están relacionadas en la **tabla 2.3**.

Tabla 2.3. *Función de las anafilotoxinas derivadas de la activación de las moléculas de complemento*

Anafilotoxina	Función
C4a	Inflamación: produce anafilaxis en menor grado comparada con C3a, actividad quimiotáctica de baja potencia comparada con C3a y C5a
C4b	Oponización: recubre el patógeno para activar a los fagocitos, aclaramiento de inmunocomplejos, quimiotaxis
C2b	Inflamación: la procinina es fragmentada para producir cinina, responsable de la formación de edema; induce liberación de histamina por parte de los mastocitos
C3a	Inflamación: activa basófilos y mastocitos para liberar histamina que aumenta la permeabilidad vascular y la contracción del músculo liso (anafilaxis); solubilización de inmunocomplejos; quimiotaxis; estimula la expresión de moléculas de adhesión en el endotelio vascular que favorece la migración de leucocitos.
C3b	Oponización: recubre el patógeno para activar a los fagocitos; induce quimiotaxis en menor grado; aclaramiento de inmunocomplejos
iC3b	Aclaramiento de inmunocomplejos, opsonina, fagocitosis, quimiotaxis, anclaje al endotelio, diapédesis
C3d	Citólisis, atrapamiento de complejos en centros germinales, estimula al LB para producir anticuerpos
C3e	Estimula salida de PMN de médula a circulación sanguínea
C3dg	Citólisis, atrapamiento de complejos en centros germinales
C5a	Potente activador de la quimiotaxis, inflamación, oponización, activa sistema de coagulación
Ba	Inmoviliza macrófagos

2.3.5. RECEPTORES PARA LAS MOLÉCULAS DEL SISTEMA DE COMPLEMENTO

La actividad biológica de las moléculas de complemento depende de la unión de cada una de ellas con los receptores que se expresan en la superficie de varios tipos de células. El receptor mejor caracterizado es el que une moléculas C3, además está el receptor para C3a, C4a y C5a. Cuando las moléculas de complemento que actúan como opsoninas, recubren los patógenos para convertirlos en objetivo para los PMN y M ϕ y facilitar la fagocitosis. Además de

la activación celular, estas moléculas y su receptor juegan un papel importante en la inflamación y en la regulación del sistema de complemento (**tabla 2.4**)

Tabla 2.4. *Receptores de las moléculas del complemento*

Receptor	Ligando	Célula que lo expresa	Funciones
CR1 (CD35)	C3bC4b	GR, PMN, Mφ, Eos, Cd foliculares, LB, LT, glomérulo renal	Inhibe formación de convertasa C3, fija complejos inmunes a las células, actividad reguladora, estimula la fagocitosis
CDR2(CD21)	C3d C3dgiC3b	LB, CD foliculares LT	Parte del correceptor de LB, aumenta la producción de Acs por parte del LB
CR3 (CD11b/18)	iC3bLPS ICAM-1	Monocitos, Mφ, PMN, NK, LT	Promueve la adhesión celular, facilita la extravasación, une complejos inmunes
CR4 (CD11c/18)	iC3b	Monocitos, Mφ, PMN, NK, LT	Promueve la adhesión celular, estimula la fagocitosis
CR1q	C1q	Mφ, PMN, plaquetas	Estimula fagocitosis. Une complejos inmunes a fagocitos
ReceptorC3a/C4a	C3aC4a	Basófilos, células cebadas, granulocitos	Induce desgranulación de basófilos y mastocitos
ReceptorC5a	C5a	Basófilos, células cebadas, Mφ, granulocitos, células endoteliales, plaquetas	Induce desgranulación de basófilos y mastocitos, induce la expresión de moléculas de adhesión.

2.3.6. REGULACIÓN DEL SISTEMA DE COMPLEMENTO

La funcionalidad del sistema de complemento es atacar microorganismos y células extrañas, sin embargo, está en capacidad también de reconocer y atacar células propias. Para evitar esto, como mecanismo de regulación, está la labilidad de sus componentes ya que sufren inactivación espontánea si las moléculas no son estabilizadas por acción de otras proteínas. La regulación del sistema de complemento se fundamenta en tres acciones:

- Competición ejemplo: inhibidor de C1 compete con C4 por la acción enzimática de la molécula C1s
- Inhibición ejemplo: proteína S inhibe la unión de C5b67 a su receptor
- Catálisis ejemplo: factor catalítico de las convertasas disocia los

componentes de las convertasas e inhibe su acción y no permite la amplificación de la respuesta al no activar a C3 y a C5.

Cada uno de los componentes del sistema de complemento pertenecientes a las tres vías de activación, posee un inhibidor que permite la regulación de este sistema (**tabla 2.5**).

Tabla 2.5. *Mecanismos reguladores del sistema de complemento*

Inhibidor	Mecanismo de acción	Vía de complemento afectada
Inhibidor C1	Inhibidor de proteasa de serina: causa disociación de C1r2C1s2 de C1q	Reconocimiento en la vía clásica
Proteína de unión de C4b (C4BP)	Inhibe la formación de la convertasa de C3; cofactor para que factor I fragmente a C4b	Activación de la vía clásica y lectinas
Proteína que une C2	Regula la actividad de C2	Activación de la vía clásica y lectinas
Factor I	Acelera el catabolismo de C4b, C3b e iC3b que no permite la formación de la convertasa del C3	Activación de la vía clásica y lectinas
Factor H	Inhibe la formación de la convertasa del C3 cofactor para la catálisis de C3b y C4b por el factor I	Activación de la vía alterna
Factor catalítico de la convertasa DAF (CD55)	Acelera la disociación de los componentes de la convertasa del C3 y del C5	Activación de las vías clásica, lectina y alterna
Proteína cofactor de membrana (MCP, CD46)	Protege las células del huésped que tienen C3b y C4b adherido mediante la catálisis por parte del factor I	Activación de la vía clásica, lectina y alterna
Proteína S	Inhibe la unión de C5b67 a su receptor y evita la inserción en la membrana	Complejo de ataque de membrana (MAC)
Inhibidor de lisis de membrana CD59	Inhibe la inserción y unión de C5b678 y bloquea la unión de C9	Complejo de ataque de membrana (CAM)
SP40	Inhibe la formación del complejo de ataque a la membrana	Complejo de ataque de membrana (CAM)
Inactivador de anafilotoxinas	Inactiva anafilotoxinas solubles C3a, C4a, C5a	Función efectora del sistema de complemento

2.4. RECEPTORES SEMEJANTES AL TOLL (TLR)

Las células de la inmunidad innata expresan un número limitado de receptores que no modifican su estructura y lo hacen como un medio para reconocer patógenos o el daño tisular causado por ellos. Estos receptores se denominan Receptores de Reconocimiento de Patrones (PRR) que reconocen patrones moleculares estructurales simples de los patógenos llamados Patrones Moleculares Asociados a Patógenos (PAMP). Estos patrones son los que caracterizan a cada patógeno que posee moléculas con estructura repetida como son los lipopolisacáridos que se encuentran en la membrana de las bacterias Gram negativas; el ácido lipoteicoico y el peptidoglucano es característico de bacterias Gram positivas; bacterias con flagelo expresan una subunidad de flagelina; el DNA bacteriano tiene abundantes dinucleótidos CpG no metilados repetidos; RNA de doble cadena como parte del ciclo de vida viral; el zymosán que lo expresan los hongos. La variedad de PAMPs que se encuentran en los microorganismos está relacionada en la **tabla 2.6**.

Tabla 2.6. Receptores TLR. Patrones Moleculares Asociados a Patógenos (PAMP) reconocidos por los receptores tipo toll (TLR)

Tlr	Pamp	Patógeno	Superficie celular
TLR1/ TLR2	Lipopéptidos triacilados	Micobacterias, bacterias	Monocitos, células dendríticas (CD), PMN, LB, LT, NK
TLR2/ TLR6	Lipoproteínas y lipopéptidos	<i>Mycoplasma</i> <i>Micobacterium</i>	Monocitos, PMN, CD, NK
	Peptidoglucano y ácido lipoteicoico	Bacterias Gram (+)	
	Lipoarabidomanan	<i>Mycobacterium spp</i>	
	Modulina soluble en fenol	<i>Staphylococcus</i> <i>Epidermidis</i>	
	Lipopolisacáridos atípicos	<i>Leptospira interrogans</i> <i>Neisseria meningitidis</i> <i>Porphyromonas gingivalis</i>	
	Glicoinositolfosfolípidos, glicolípidos	<i>Trypanosoma spp</i>	
	Porinas	<i>Neisseria spp</i>	
	Lipofosfoglicano	<i>Leishmania major</i>	
	Zymosan	Hongos	
	Hemaglutinina y otras proteínas virales	Citomegalovirus	

TLR3	RNA de doble cadena	Virus: reovirus, flavivirus, entre otros	Monocito, M ϕ , CD, epitelios, LT, NK, fibroblastos
TLR4	Lipopolisacáridos	Bacterias Gram (-)	Monocitos, M ϕ , CD, mastocitos, eosinófilos, PMN, NK, LB, LT, endotelio, eritrocitos
	Ácido lipoteicoico	Bacterias Gram (+)	
	Proteínas de fusión	Virus sincitial respiratorio	
	Proteínas de envoltura	VHC, virus de tumor mamario de ratón, virus coxsackie, virus de sarampión	
	HSP60	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	
TLR5	Flagelina	Listeria monocytógenes Bacterias Gram (-)	Monocitos, M ϕ , CD, epitelio intestinal, PMN, NK, próstata, hígado, pulmón
TLR6	Lipopéptidos diacilados	<i>Mycoplasma</i> spp	Monocitos, CD, LB, ovario, pulmón
	Ácido lipoteicoico	Bacterias Gram (+)	
	Zymosan	Hongos	
TLR7	RNA de cadena simple (ssARN)	Virus influenza, VIH-1, sarampión	Monocitos, CD plasmacitoides, M ϕ , eosinófilos, LB, NK, Bazo.
TLR8	RNA de cadena simple	Virus paracheovirus 1, dengue, coxsackievirus, VEV, VHC, paramixovirus	M ϕ , PMN, monocitos, CD, LB, pulmón, placenta
TLR9	DNA con nometilado CpG	Bacterias, virus herpes	CD plasmacitoides, Eosinófilos, LB, basófilos, NK, monocitos
TLR10	Desconocido	Desconocido	CD plasmacitoides, Eosinófilos, LB, basófilos, monocitos
TLR 11	Profilina	Virus, parásitos, tripanosoma, toxoplasma, patógenos de vías urinarias	Monocitos, M ϕ , hepatocitos, células renales, epitelio de vejiga
TLR11 (ratón)	Profilina y proteínas tipo profilina	<i>Toxoplasma gondii</i> , bacterias uropatógenas	M ϕ , CD, hígado, riñón y vejiga
TLR12 (ratón)	Profilina	<i>Toxoplasma gondii</i>	M, CD, hígado, Riñón y vejiga, neuronas
TLR13 (ratón)	RNA de cadena simple	RNA ribosomal de bacterias	M ϕ , CD

De los PRR se conocen receptores transmembranales denominados receptores tipo Toll (TLR), fueron descubiertos por primera vez por Jules Hoffman en la mosca de la fruta *Drosophila megalonaster*, posteriormente Charles Janeway y Bruce Beutler descubrieron receptores homólogos en ratones y otros mamíferos que denominaron TLR (Toll Like Receptor) y se encuentran asociados a la defensa en contra de bacterias, virus, parásitos y hongos.

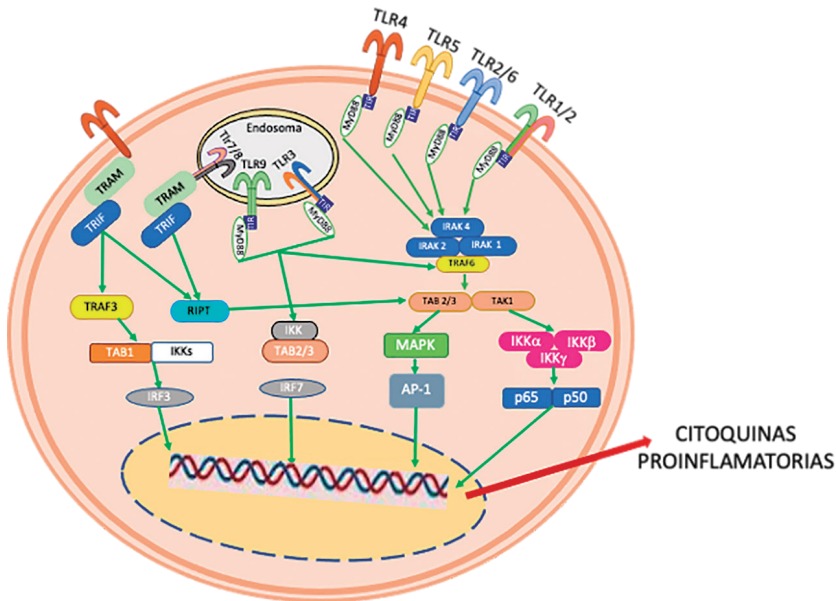
Así mismo, se han encontrado receptores semejantes al TLR en las plantas para producir péptidos antimicrobianos, lo que indica que son receptores ancestrales en la defensa del huésped. Los receptores Toll encontrados en la mosca de la fruta controlan el correcto patrón dorsoventral del embrión de la *Drosophila* y permite la expresión de proteínas para la defensa de la mosca en forma de péptidos antimicrobianos como la drosomicina, que actúa frente a bacterias Gram positivas y hongos. En animales superiores, se relaciona la función que tienen estos receptores en diferentes tipos celulares que induce una amplia gama de respuesta intracelulares que dan como resultado la producción de citoquinas proinflamatorias, factores quimiotácticos, péptidos antimicrobianos y citoquinas antivirales como el interferón (IFN) α y β .

Los receptores TLR que se encuentran en la superficie de la membrana celular son el TLR 1, 2, 4, 5, 6 y 11, lo que les permite el reconocimiento de PAMP extracelulares que dan como resultado la producción de citoquinas proinflamatorias; mientras que TLR 3, 7, 8 y 9 están ubicados en endosomas intracitoplasmáticos donde se unen a los ácidos nucleicos provenientes de patógenos intracelulares para dar como resultado la producción de interferones. No todos los receptores reconocen directamente su ligando; es el caso del TLR 4, que responde a las señales por la interacción con varios correceptores que incluyen el Ligando de Unión a LPS, el CD14 y la proteína de diferenciación mieloide 2 (MD-2) que se unen al LPS e inducen la señalización enzimática intracelular en cascada (**figura 2.13**).

La traducción intracelular de los TLR se produce mediante la activación de varias vías de señalización intracelular que activan factores de transcripción distintos. Una vez el TLR se une a su ligando, reúne los dominios ricos en tirosina (TIR) citoplasmáticos que le permiten interactuar con dominios TIR de moléculas adaptadoras citoplasmáticas que inician la señalización intracelular. Entre estas moléculas adaptadoras están la proteína de respuesta primaria de diferenciación mieloide 88 (MyD88), MAL conocida también como TIRAP, TRIF y TRAM. Los dominios TIR citoplasmáticos interactúan con diferentes combinaciones de estas moléculas adaptadoras (**figura 2.13**). La gran mayoría de los TLR interactúan con MyD88; TLR 3 interactúa con TRIF; TLR2/TLR1, TLR2/TLR6 requiere MyD88/MAL; TLR4 usa dos pares MyD88/MAL y TRIF/TRAM.

Estas diversas combinaciones influyen en la ruta de las señales que serán activadas por los TLR. La mayoría de los TLR activan el factor de transcripción $\text{NF}\kappa\beta$, otros toman otras vías de señalización para activar el factor de transcripción del factor regulador de interferón (IRF) y la proteína activadora 1 (AP-1) que involucra la participación de kinasas de proteínas activadas por mitógenos (MAPK).

Figura 2.13. Vías de señalización del receptor tipo Toll (TLR) extra-membranales y endosómicos para activar en el núcleo de la célula la síntesis de citoquinas proinflamatorias



Nota. Elaboración propia.

Una vez la cascada de señalización enzimática activa los factores de transcripción antes mencionados, estos pueden ingresar al núcleo de la célula para estimular la producción de proteínas. Cuando el $\text{NF}\kappa\beta$ y AP-1 ingresan al núcleo, estimulan la producción de citoquinas proinflamatorias y factores quimiotácticos; los factores de transcripción IRF3 e IRF7 se requieren para la producción de interferones antivirales tipo I; el factor IRF5 participa en la producción de citoquinas proinflamatorias.

En la vía dependiente de MyD88, el dominio TIR recluta y activa dos cinasas de proteína de serina-treonina llamada cinasa 4 asociada al receptor de IL-1 (IRAK-1) e IRAK4; este complejo recluta a la enzima factor 6 asociada al receptor de factor de necrosis tumoral (TRAF6) que interactúa con las ubiquitinas citoplasmáticas; posteriormente se activa un complejo cinasa κB (IKK) que

fosforila a $I\kappa B$ para que desprenda el inhibidor- $NF\kappa\beta$; una vez liberado $NF\kappa\beta$, este ingresa al núcleo para activar los genes que codifican paracitoquinas, moléculas de adhesión y otras proteínas que expanden e intensifican las funciones efectoras de los macrófagos. Cuando se activa el factor de transcripción IRF3, este ingresa al núcleo para dirigir la transcripción de genes para interferones tipo I, citoquinas importantes en infecciones causadas por virus o bacterias intracelulares (**figura 2.13**).

Las citoquinas proinflamatorias que se producen por la activación de los TLR son interferon (IFN) γ , IFN α , Factor de Necrosis Tumoral (FNT), interleuquina (IL)1 β , IL 12, IL 4, IL5, quimioquinas como CXCL8, también se producen proteínas como las defensinas, proteína C reactiva y moléculas de adhesión celular como ICAM 1 y selectina E.

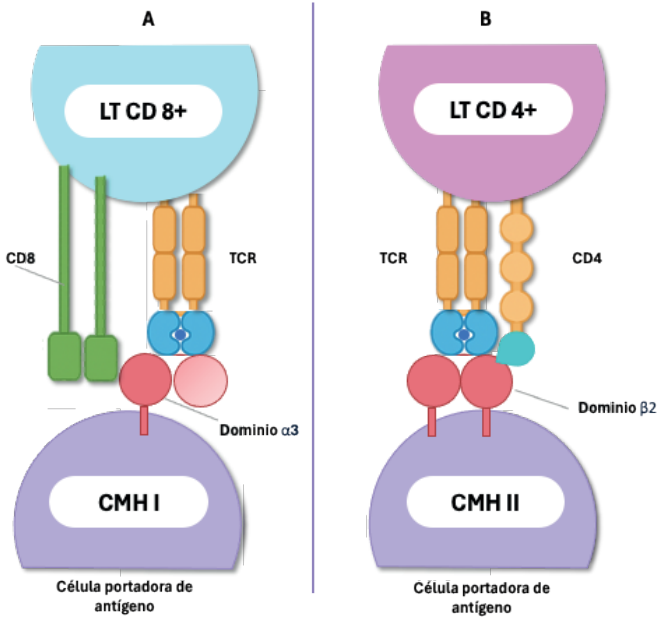
2.5. MOLÉCULAS DE ADHESIÓN CELULAR (MAC)

Los tejidos y órganos requieren de una organización y depende de manera importante de la capacidad de adherirse, ya sea a la matriz extracelular ya sea a otras células para ejercer una función fisiológica específica. La adhesión la realizan por medio de proteínas o glicoproteínas de adhesión denominadas Moléculas de Adhesión Celular (MAC), que se encuentran ancladas a la membrana celular y pueden estar dispuestas de manera constitutiva, es decir, haciendo parte de los componentes de la membrana celular o de forma inducida cuando reciben estímulos por medio de las citoquinas para que se puedan expresar sobre la superficie de la membrana celular. La función de estas proteínas no solo es la de fijar y disponer a las células para formar estructuras tridimensionales, sino también para permitir la comunicación, la supervivencia celular y la apoptosis.

Cuando se unen con su ligando, permiten la adhesión entre las dos células y la traducción de señales que resultan en activar la migración leucocitaria, producir una proteína y fomentar acciones que incrementen la potencia de las interacciones funcionales entre las células del sistema inmune. En el caso de la migración celular, es de anotar que las células se desplazan reptando; cuando requieren moverse deben perder la adhesión que las mantiene fijas y exponer otras moléculas de adhesión que le permitan tener puntos de anclaje y llevar el citoplasma en la dirección del estímulo de movimiento.

Está demostrado que las moléculas de adherencia contribuyen a las interacciones entre las células del sistema inmune como es el caso de las Células Presentadoras de Antígeno (CPA) y los linfocitos Th cuyo resultado en la mitosis del LTh y la producción de citoquinas; la interacción entre LTh y los LB para la producción de anticuerpos y la interacción de LTC y la célula blanco para la producción de perforinas (**figura 2.14**).

Figura 2.14. Adhesión celular entre CPA y linfocitos T citotóxico y ayudador para la presentación de antígenos peptídicos endógenos y exógenos respectivamente, donde las moléculas del CMH Clase I y Clase II se unen covalentemente con las moléculas CD8 y CD4 respectivamente



Nota. Imagen generada por inteligencia artificial a través de ChatGPT. OpenAI, 2025 <https://chat.openai.com>

Las moléculas de adhesión celular tienen formas de interacción homofílicas, es decir, entre moléculas de la misma familia, e interacciones heterofílicas entre receptores y ligandos de diferentes familias (ver figura 1.31).

La intensidad de la interacción entre las moléculas de adhesión celular depende del tipo y cantidad de moléculas que se expresan en la membrana, del control de la síntesis o degradación de estas, de los mecanismos de secuestro en el citoplasma mediante la endocitosis o exocitosis o de la activación o inactivación temporal de las moléculas en la membrana celular.

De las Moléculas de Adhesión Celular (MAC) existen cinco grupos: las selectinas, las integrinas, la superfamilia de las inmunoglobulinas o ICAMs e incluidas las nectinas, las cadherinas y las mucinas.

Las **Selectinas** son moléculas de carácter glicoproteico compuestas en su extremo terminal tipo lectina que se une a carbohidratos específicos de manera dependiente de Ca^{++} , median la adhesión de células hematopoyéticas y cancerosas a células endoteliales, leucocitos y plaquetas en circulación sanguínea.

La adhesión mediada por las selectinas juegan un papel importante en la inflamación, en la respuesta inmune frente a procesos infecciosos, en la reparación de heridas, en la hemostasia, en el cáncer, en el alojamiento de células madre de linfocitos y médula ósea y en la vigilancia de células inmunitarias. También participan en la localización de leucocitos aberrantes en enfermedades inflamatorias crónicas y agudas, están implicadas en la metástasis del cáncer.

Se encuentran tres tipos de selectinas que son la de leucocitos o L-selectina (CD62L), la endotelial o E-selectina (CD62E) y la plaquetaria o selectina-P (CD62P). La selectina P se expresa en plaquetas, células endoteliales y se almacena en gránulos α de plaquetas y cuerpos de Weibel-Palade de células endoteliales. La selectina E se encuentra en el endotelio de médula ósea y piel y está involucrada en el rodamiento de leucocitos y la adhesión a células endoteliales. La selectina L se expresa de manera constitutiva en linfocitos, monocitos, granulocitos y se divide de la superficie celular después de la activación de la célula (**tabla 2.7**).

Tabla 2.7. Familia de las selectinas

Selectina	Distribución	Ligando
L-selectina	Leucocitos	CD34, MAAdCAM-1, GlyCAM-1, sLex(CD15)
E-selectina	Endotelio vascular	sLex (CD15), sLeA, CLA
P-selectina	Endotelio vascular activado, plaquetas	LECAM-3, PADGEM, GMP-140, CD62P

Las **integrinas** son un grupo de receptores de adhesión celular que se unen a ligandos de matriz extracelular, ligando de superficie celular y ligandos solubles. Están compuestas por una cadena α y β transmembranal de las cuales se conocen al menos 18 subunidades α y 8 β . Se expresan sobre plaquetas, queratinocitos, linfocitos T, células dendríticas, mastocitos en tejido de mucosas, leucocitos, células T de memoria y células endoteliales. La especificidad del ligando está agrupada con las que se unen a la laminina, al colágeno, a integrinas de leucocitos y a integrinas que reconocen arginina-glicina-ácido aspártico (**tabla 2.8**)

Tabla 2.8. *Integrinas, ligandos y función*

Nombre	Ligando	Distribución
VLA-1 ($\beta 1\alpha 1$)	Colágeno tipo I y IV, laminina	Linfocitos T, músculo liso, fibroblastos, monocitos
VLA-2 ($\beta 1\alpha 2$)	Colágeno, laminina	Linfocitos T y B, queratinocitos, monocitos, plaqueta, fibroblasto, células de Langerhans
VLA-3 ($\beta 1\alpha 3$)	Fibronectina, colágeno, laminina	Leucocitos, queratinocitos, células de Langerhans
VLA-4 ($\beta 1\alpha 4$)	Fibronectina, VCAM-1, MadCAM-1)	Linfocitos T y B, células de Langerhans, fibroblastos, monocitos, mastocitos, eosinófilos
VLA-5 ($\beta 1\alpha 5$)	Fibronectina	Linfocitos T, Plaquetas, Queratinocitos, Cél Langerhans, Monocitos
VLA-6 ($\beta 1\alpha 6$)	Laminina	Linfocitos T, plaquetas, queratinocitos, células de Langerhans, monocitos
VLA-7 ($\beta 1\alpha 7$)	Laminina	Células de músculo liso
VLA-8 ($\beta 1\alpha 8$)	Desconocido	Células epiteliales, tejido nervioso
VLA-9 ($\beta 1\alpha 6$)	Desconocido	Queratinocito

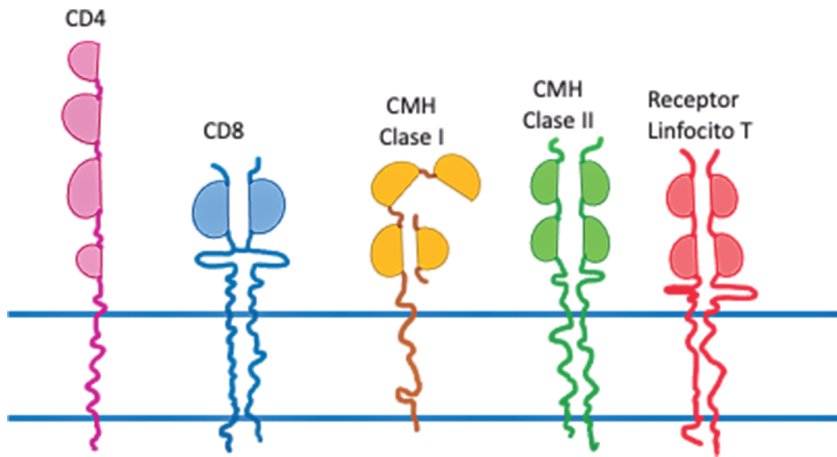
La función de las integrinas, además de permitir la adhesión entre dos células o célula matriz, es traducir señales al interior de la célula y recibir señales intracelulares que regulan la afinidad de unión de la integrina a su ligando y funcionan como receptores de tracción que pueden transmitir y detectar cambios en la fuerza mecánica que actúa sobre la matriz extracelular. Además, favorecen la fagocitosis de partículas hacia el citoplasma del fagocito. La unión extracelular de las integrinas desencadena una serie de señales de transducción que modulan la función celular como la adhesión, la proliferación, la supervivencia o la apoptosis, la forma, polaridad, motilidad, haptotaxis (motilidad direccional estimulada por un gradiente de adhesión celular o enlaces quimioatrayentes), expresión génica y diferenciación celular.

La **superfamilia de las inmunoglobulinas** son moléculas de adhesión celular de carácter proteico que tiene un dominio común semejante a una inmunoglobulina con estructuras globulares llamadas dominios unidos por puentes disulfuro. Estas moléculas se pueden clasificar en:

- Receptores tipo C1: estos desempeñan funciones inmunológicas de gran importancia en el reconocimiento de antígenos como son el Receptor de la Célula T (TCR), el Receptor de la Célula B (BCR), el Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) Clase I y Clase II y los anticuerpos (figura 2.15).

- Receptores tipo C2: son moléculas de adhesión celular y fijadores de complemento, incluyen las de adhesión neuronal (NCAM), moléculas de adhesión de células vasculares (VCAM), antígeno de función linfocitaria (LFA), coestimuladores celulares (CD28, CD80, CD86, CTLA-4) y ligandos para integrinas (VLA) como se aprecia en la tabla 2.9.

Figura 2.15. Superfamilia de las inmunoglobulinas. Representación esquemática de las moléculas que pertenecen a la superfamilia de las inmunoglobulinas tipo C1.



Nota. Elaboración propia.

Tabla 2.9. Moléculas de la superfamilia de las inmunoglobulinas tipo C2

Nombre	Distribución	Ligando
ICAM-1	Endotelio, fibroblastos, epitelio, monocitos, linfocitos, CD, condrocitos	LFA-1, Mac-1, CD43
ICAM-2	Endotelio, linfocitos, monocitos, PQs	LFA-1
ICAM-3	Linfocitos, monocitos, PMN	LFA-1, CD18
ICAM 4	Glóbulos rojos	LFA-1
ICAM-5	Microglías y leucocitos del telencéfalo	LFA-1
VCAM-1	Endotelio, monocitos, CD, fibroblastos, estroma médula ósea, CD, Mφ	VLA-4, LPAM-1
LFA-2	LT, NK, endotelio, leucocitos, células epiteliales	LFA-3, CD59, Cd48

LFA-3	Endotelio, leucocitos, células epiteliales, células endoteliales, fibroblastos	LFA-2
PECAM-1	Endotelio, plaquetas, leucocitos, células musculares, monocitos, NK	CD31, vitronectina, heparina
MadCAM-1	Endotelio de mucosas, placas de Peyer, bazo	LPAM-1, L-selectina
NCAM-1	Células neuronales, astrocitos, gliales, de corazón, músculo, riñón, NK, LT activados	NCAM, heparán sulfato, heparina
CD80	LB, fibroblastos, CD, LT activados	CD28, CTLA-4
Cd86	CD, LT activados, granulocitos	CD28, CTLA-4
Cd28	LT, células plasmáticas	CD80, CD86
CTLA-4	LT activados	CD80, CD86
JAMs	Endotelio	LFA-1, VLA-4

La función de estas moléculas está centrada en la circulación y tráfico de leucocitos a órganos linfoides, a sitios de daño tisular. La expresión de estas moléculas está regulada por citoquinas, induce un incremento en la unión de leucocitos al endotelio vascular durante la inflamación.

Las **cadherinas** representan un grupo de proteínas de adhesión celular dependientes de Ca^{++} , implicadas en migración celular, diferenciación de tejidos embrionarios, formación de uniones entre células adyacentes y separación histogénica. Las cadherinas están divididas en cinco grupos: cadherinas clásicas, no clásicas, desmosomales, protocadherinas y proteínas reguladoras con dominios cadherina.

Las cadherinas clásicas son glicoproteínas transmembranales constitutivas con funciones de unión entre las células, reconocimiento y traducción de señales intracitoplasmáticas mediante moléculas señalizadoras. Dentro de este grupo están la cadherina E que se expresa en células epiteliales, en el hígado, en el embrión antes de su nidación en el útero; la cadherina N que se expresa en células nerviosas, musculares, de corazón, fibroblastos y cristalino; la cadherina P que se expresa en placenta y tejido embrionario; la cadherina V presente en células epiteliales que revisten los vasos sanguíneos; la cadherina R aislada en retina. Entre las cadherinas no clásicas están la L1 y la T, esta última se encuentra en molécula en células musculares y neuronas, ambas realizan interacciones hemofílicas. Las protocadherinas representan un grupo de cadherinas que se encuentran en las neuronas y poseen dominios variables extracelulares. Como miembro de las cadherinas desmosomales se encuentran la desmogleína y la

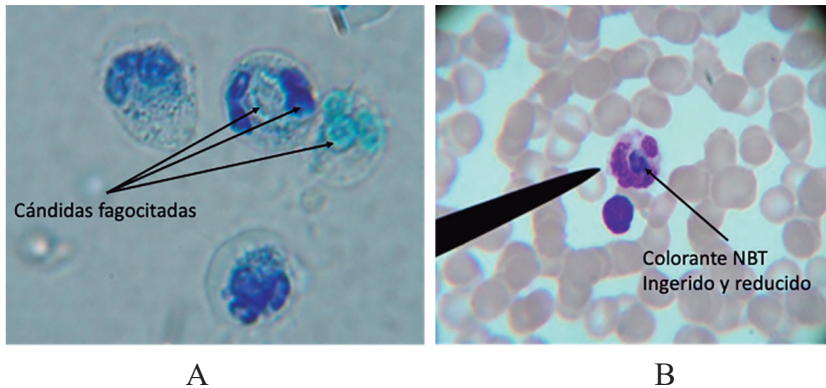
desmocolina que se encuentran en células epiteliales de la piel ancladas en el citoesqueleto por medio de filamentos intermedios, en lugar de la actina. Las proteínas reguladoras con dominio de cadherina participan en procesos de supresión de tumores y embriogénesis.

Por último, las **mucinas** se encuentran en el endotelio y los leucocitos, tienen como ligando a las selectinas, inician la adhesión entre leucocitos y el endotelio, entre ellas están el CD34, GlyCAM-1, Mad.CAM-1, Ly24 y HERMES.

2.6. FAGOCITOSIS

La fagocitosis es un mecanismo de la inmunidad innata que permite al polimorfonuclear neutrófilo (PMN) y a los macrófagos llamados fagocitos profesionales, captar patógenos, desechos celulares y células apoptóticas (**figura 2.16**). Este mecanismo fue observado por primera vez por William Osler en 1876 y luego analizada su función por Élie Metchnikoff en 1880-1883, donde encontró que todas las especies animales sobrevivían a procesos infecciosos gracias a la fagocitosis.

Figura 2.16. Fagocitosis del neutrófilo: a. PMNs que han fagocitado *Cándida albicans*, las *cándidas* vivas se observan refringentes y las *cándidas* muertas toman el colorante azul b. PMN que fagocitó y redujo colorante nitroazul de tetrazolium (NBT).



Nota: Autoría propia.

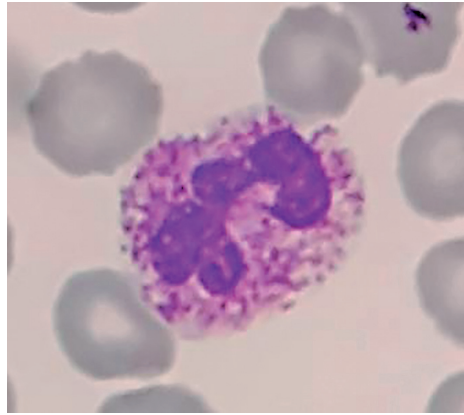
En la pinocitosis o endocitosis, la célula ingiere dentro de su membrana celular líquidos, moléculas o partículas que están en el exterior y forman una vesícula capaz de desplazarse en el citoplasma. En la fagocitosis, a diferencia de los mecanismos anteriormente descritos, se realizan tres procesos diferentes:

- En la fagocitosis hay ingestión de partículas de al menos 0,5 μm de diámetro.
- El proceso de fagocitosis se inicia por reconocimiento directo de los PAMPs del microorganismo o porque el agente está cubierto por opsoninas (anticuerpos o moléculas de complemento) que se unen a receptores de membrana de los fagocitos.
- El complejo PAMP-receptor u opsonina-receptor reorganiza de manera local en el citoesqueleto del fagocito la actina que impulsa en la membrana con el fin de que suceda la ingestión de la partícula. A diferencia de la endocitosis, no requiere la estimulación de un receptor y usa clatrina en lugar de actina para absorber la molécula.

2.6.1. POLIMORFONUCLEAR NEUTRÓFILO (PMN)

Los PMN son granulocitos multinucleados, son las primeras células que atacan a los microorganismos exógenos de manera eficaz, superan en número a otras células del sistema inmune que se encuentran en circulación sanguínea, migran y logran pasar al tejido para cumplir su función antimicrobiana mediante la fagocitosis y contribuyen en el mantenimiento de la integridad del huésped (**figura 2.17**).

Sin embargo, pueden producir efectos adversos como producir manifestaciones patológicas en los tejidos sanos lejanos a la lesión, tiene actividad proinflamatoria en la sepsis, los PMN activados en circulación pueden agravar la dificultad respiratoria, pueden ser pro y anti tumorales e influir en la metástasis del tumor, es decir que la respuesta de los PMN pueden proteger, afectar o sanar al huésped.

Figura 2.17. *PMN en extendido de sangre periférica*

Nota. Crédito: M. Sc. Martha Leonor Castillo Bohórquez¹.

Los PMN se producen en la médula ósea y reponen constantemente los que han fagocitado, ya que mueren pues una vez cumplen su función inician su proceso de apoptosis o muerte celular programada. Los gránulos, importantes para la muerte intracelular del patógeno fagocitado –que se clasifican de acuerdo al contenido de proteínas en primarios, secundarios y terciarios– tienen una alta capacidad oxidativa por la producción de la enzima nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH), que se regula para producir superóxido que tiene actividad antimicrobiana ya que modifica ácidos nucleicos, lípidos y proteínas microbianas; expresan moléculas de adhesión, producen quimioquinas, PRR, citoquinas, lípidos derivados de ácidos grasos importantes para la inflamación como son los leucotrienos y prostaglandinas que tienen efectos positivos sobre la migración del PMN, la producción de citoquinas y la fagocitosis.

Como receptores de membrana el PMN posee para las quimioquinas (IL-8), para selectina E y P los cuales favorecen la adhesión, migración y paso de sangre a los tejidos; receptores para IL-23, IL17, C-CSF; receptores para la porción Fc de las inmunoglobulinas (CD64, CD32, CD16, CD84) que permiten el proceso de opsonización, así como los receptores de complemento CR1, CR3, CR4. Los PMN producen mediadores que regulan la inflamación neutrofilica como las resolvinas, maresinas, protectinas y lipoxinas que inhiben la quimiotaxis, la fagocitosis y la inflamación. La respuesta efectora de los neutrófilos está dada por la fagocitosis, la degranulación, la formación de trampas de neutrófilos (NET).

¹ Docente Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Facultad de Ciencias de la Salud. Bogotá, Colombia.

Los PMN poseen gránulos primarios que son ricos en enzimas como la mieloperoxidasa (enzima ausente en $M\phi$), hidrolasas ácidas, β glucuronidasa, fosfatasa alcalina, α -monoxidasas, moléculas como las proteínas catiónicas y péptidos antimicrobianos como las defensinas; los gránulos secundarios que contienen enzimas como las lisozimas, fosfatasa alcalina, colagenasa, proteínas como la lactoferrina, proteína ligadora de vitamina B12 y activadores del plasminógeno; gránulos terciarios que contienen gelatinasa. Transferasa, lisozima, glucoproteínas, β microglobulina y citocromo.

2.6.2. MACRÓFAGO ($M\phi$)

El macrófago es una célula mononuclear cuyo precursor es el monocito, que tiene como función la fagocitosis, la presentación de antígenos por medio del CMH para activar la inmunidad adaptativa, la producción de moléculas con actividad biológica (citoquinas, proteasas, factores de crecimiento, entre otros), participa en el desarrollo de órganos, recambio de tejidos y la regeneración de los mismos, los macrófagos están presentes en la vigilancia inmunológica ya que detectan antígenos virales, LPS bacterianos, antígenos parasitarios, complejos inmunes, células apoptóticas o necróticas y mediadores liberados por otras células.

Tabla 2.10. *Tipos de macrófagos. Sistema fagocítico mononuclear y tejido donde se encuentra*

Nombre	Localización en tejido
Células veladas	Tejido linfoide
Células de Kupffer	Hígado
Células de Langerhans	Piel
Células interdigitantes	Tejido Linfoide
Células mesangiales	Riñón (mesangio)
Histiocitos	Tejido conectivo
Macrófagos	Tejido linfoide
Macrófagos alveolares	Pulmón
Microglia	Tejido sistema nervioso
Macrófagos peritoneales	Cavidad peritoneal
Osteoclastos	Tejido óseo
Células epiteloideas y células gigantes	Reacciones inflamatorias crónicas

El monocito caracterizado por primera vez por Naito en 1990, se divide en dos grupos: monocito clásico $CD14+$ y no clásico: $CD14^{low}CD16+$. Los monocitos

clásicos se encuentran en circulación, en bazo, nódulos linfáticos piel y pulmones, son los precursores de la mayoría de los fagocitos mononucleares y de ellos aporta continuamente en la homeostasis; mientras que los no clásicos están localizados principalmente en vasos sanguíneos para mantener la integridad del endotelio vascular. Los monocitos son producidos en la médula ósea, tienen un diámetro de 10-15 μm , con núcleo en forma de riñón, citoplasma finamente granular, posee lisosomas, vacuolas fagocíticas y filamentos citoesqueléticos, sale a circulación donde transita por 12 horas, período en el que aumenta de tamaño para luego migrar a tejido y diferenciarse en $\text{M}\phi$. Los $\text{M}\phi$ se encuentran distribuidos en todo el cuerpo alojándose en diferentes tejidos donde adquieren características de $\text{M}\phi$ fijos, mientras que otros se movilizan y constituyen los $\text{M}\phi$ libres. Los fijos se denominan de diversas maneras dependiendo del sitio donde se encuentren (**tabla 2.10**).

La vida media de un $\text{M}\phi$ es de sesenta días, realiza movimientos de patrullaje en el tejido y una vez es estimulado por factores quimiotácticos (inducen movimiento dirigido) se desplaza de manera unidireccional hacia el objetivo e incrementa su velocidad de movimiento. El $\text{M}\phi$, una vez cumple su función, a diferencia del PMN, no muere sino que inactiva su función enzimática para quedar preparado para realizar una nueva fagocitosis y presentación del antígeno, hasta que cumple su vida media en tejido. Los $\text{M}\phi$ tienen receptores para moléculas de adhesión celular como las selectinas E, P, L, ICAM-1, ICAM-3, LFA-1, LFA-3; receptores para moléculas de complemento CR1 y CR3; receptores para IgG, IgA e IgE; Complejo Mayor de Histocompatibilidad Clase I y II; TLR 1-9; receptores para interleuquinas e interferón (IFN) γ y quimioquinas. Los $\text{M}\phi$ producen una gran variedad de proteínas como factores de coagulación V, VII, IX, X, factor activador del plasminógeno; citoquinas como el IFN, interleuquina (IL) 1, 5, 6, 8, 10, 12, 15, 18, Factor de Necrosis Tumoral (TNF) y F actores Estimulante de Colonia G-CSF y GM-CSF (**tabla 2.11**).

En el mecanismo de activación de los $\text{M}\phi$ hay un proceso de polarización hacia dos estados conocidos como M1 y M2. Los macrófagos M1 son proinflamatorios, actúan contra bacterias, virus, protozoos y tumores; mientras que los M2 son antiinflamatorios al producir IL-10, están involucrados en procesos de cicatrización o reparación de tejidos.

Tabla 2.11. Diferencias entre los PMN y los $\text{M}\phi$

Característica	PMN	$\text{M}\phi$
Concentración en circulación	60 %-70 %	Monocito 3 %-8 %
Diámetro	12-15 μm	Monocito 10-15 μm Macrófago 15-80 μm

Número de núcleos	3-5	1
Vida media en circulación	6-10 horas	Monocito 10-20 horas
Vida media en tejido	6-48 horas	meses
Tipo de gránulos	Primarios, secundarios, terciarios	Lisosomas, vacuolas Fagocíticas
Carga enzimática en sus gránulos	Mieloperoxidasa, fosfatasa alcalina, hidrolasas ácidas, <input type="checkbox"/> glucoronidasa, colagenasa, gelatinasa, lisozima	Lisozimas, proteasas neutras, hidrolasas ácidas
Receptores de membrana	Receptores CD64, CD32, CD64 para Acs IgG, IgA, receptores CR1, CR3, CR4 para moléculas de complemento, receptores para selectinas E, P, LFA-1. HLA Clase I, receptores para Il-4, IL8,	CD15 y CD16 para M-CSF, GM-CSF, CR1-CR3 para moléculas del complemento, receptores para citoquinas (IL4, FNT, IL7, IFN γ), CD16, CD32, CD64 para Acs IgG, IgA, IgE, Receptores de manosa y scavengers, HLA Clase I y II, moléculas de adherencia (ICAM-1, selectina L, LFA-3), TLR 1-4
Proteínas que producen	Citoquinas como IL-12, IL-17, FNT, quimioquinas, G-CSF, GM-CSF, leucotrieno B4, citoquinas pro y antiinflamatorias, citoquinas reguladoras, péptidos antimicrobianos	Citoquinas como IL1, IL5, IL6, IL8, IL10, IL11, IL12, IL15, IL18, IL22, IFN γ , FNT, TGF- β , G-CSF, GM-CSF
Funciones	Fagocitar, destruir microorganismos, participar en la inflamación	Fagocitar, destruir microorganismos, Célula Presentadora de Antígenos (CPA), activar la inmunidad adaptativa, producir factores de crecimiento, producir citoquinas y quimioquinas, activar y regular la inflamación, promueve la cicatrización de heridas
Subpoblaciones	PMN1: circulantes en sangre y tejido PMN2: los que se ubican en la zona marginal de la pulpa blanca del bazo PMN3: tiene actividad antiinflamatoria y de reparación tisular	M1: ataca bacterias, protozoos, virus, tumores, participan en enfermedades autoinmunes M2: antiinflamatoria, cicatrización de heridas, frenan la producción de metaloproteinasas

2.6.3. CÉLULAS DENDRÍTICAS (CDs)

La función de las células dendríticas (CDs) en la respuesta inmune fueron descritas por primera vez por Steinman y sus colaboradores en la década de los 70, observaron por medio de análisis experimentales la presencia de células de tejidos

linfoides que resultaron más eficientes que los $M\phi$ en ser CPA y en promover la proliferación de los linfocitos T. Hacia la década de los 90, se reconocieron los marcadores de membrana y las características de esta población celular. En las dos últimas décadas se avanzó en descubrimientos sobre las funciones de las CDs consideradas como CPA profesionales que patrullan el tejido circundante, el sitio de infección o tejidos patológicos en busca de antígenos derivados de patógenos, tumores y células apoptóticas para activar células efectoras como los linfocitos T; funciones como regulación a través de los TLR, su papel en infecciones virales, polarización de los linfocitos T helper, inhibición de las NK y los linfocitos B, su papel en la tolerancia inmune, en las patologías autoinmunes, reacciones alérgicas y en el rechazo a trasplantes.

Las CDs se caracterizan por tener dendritas, pseudópodos o velos que le facilitan el movimiento celular de manera eficiente. En el citoplasma tienen endosomas y lisosomas que están relacionados con el procesamiento antigénico para su posterior presentación a los linfocitos T. Se encuentran en tejidos linfoides, piel, faringe, esófago alto, vagina, ectocérvix, ano, corazón, hígado, mucosas respiratoria y gastrointestinal, en la médula del bazo y en ganglios linfáticos. Las CDs foliculares están en los centros germinales del ganglio linfático y del bazo donde hay una mayor proporción de linfocitos B. En la linfa se denominan células en velo, que son las células de Langerhans migrando desde la piel al ganglio linfático. En circulación se encuentran en menos del 2 %, expresan una gran cantidad de receptores del CMH Clase II. Tienen dos subpoblaciones en sangre periférica, una con fenotipo $CD11c^+CD123^{Lo}$ llamadas monocitoides y las $CD11c^-CD123^{hi}$ denominadas plasmacitoides. Las CDs expresan TLRs 1, 2, 4, 5, 6, 8 y 10 y producen citoquinas como la IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, GM-CSF, $TGF\beta$.

2.6.4. PROCESO DE LA FAGOCITOSIS

Si un microorganismo logra atravesar la barrera epitelial e inicia su replicación en el huésped, en la mayoría de los casos, son reconocidos de manera inmediata por los fagocitos que se encuentren en el tejido o cercanos a él. Las células fagocíticas por excelencia son los monocitos, $M\phi$, los PMN y las CDs. La mayoría de los patógenos ingresan al huésped a través de la piel, mucosas del tracto respiratorio, gastrointestinal y urogenital, los cuales son reconocidos por los fagocitos para ingerirlos y eliminarlos mediante el proceso de la fagocitosis.

Por otra parte, las células que han cumplido su función o su ciclo de vida, pueden morir como consecuencia de ser fagocitadas por otras células, una forma de muerte celular que se ha denominado fagotrofia, canibalismo celular, eliminación celular programada y fagocitosis primaria. Sin embargo,

todas estas son manifestaciones diferentes de la muerte celular por fagocitosis (denominada “fagoptosis” para abreviar). Las células engullidas mueren como resultado de oxidantes citotóxicos, péptidos y enzimas degradativas dentro de los fagolisosomas ácidos. Metchnikov descubrió la muerte celular por fagocitosis en la década de 1880, pero se había ignorado hasta hace poco. Ahora se sabe que contribuye a la muerte celular del desarrollo en nematodos, drosophila y mamíferos, y es fundamental para la inmunidad innata y adaptativa contra patógenos. La muerte celular por fagocitosis media el recambio fisiológico de eritrocitos y otros leucocitos, lo que la convierte en la forma más abundante de muerte celular en el cuerpo de los mamíferos.

2.6.4.1. ACTIVACIÓN

Los fagocitos requieren recibir mensajes activadores, una vez se unen a la membrana celular, se realiza una señalización intracelular que se traduce en la adhesión y migración hacia el patógeno y reconocimiento del mismo. En el caso de PMN y el $M\phi$, para ser atraídos al sitio de agresión necesita recibir diversos estímulos como los producidos por el tejido afectado, productos microbianos, citoquinas, activación de complemento o moléculas que intervienen en el proceso de la inflamación.

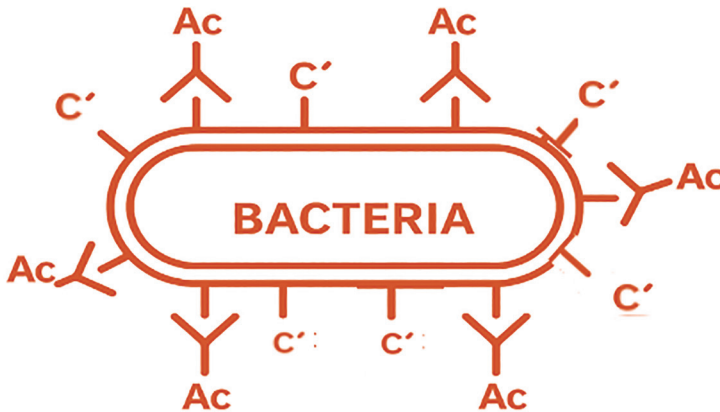
Dentro de los productos microbianos activadores de los fagocitos están los péptidos bacterianos, el más reconocido es el N-Formilmetionileucilfenilalanina (FMLP) que es un tetrapéptido formilado liberado en circulación y se une al receptor de membrana celular siendo un potente factor quimiotáctico para el PMN y activador de macrófagos. Otro activador de los fagocitos es el producto derivado de los hongos especialmente de las levaduras está el zymosan, molécula que es un glucano con unidades de glucosa repetitivas conectadas por enlaces β -1,3- glicosídicos, conocido como potente inductor de la quimiotaxis.

Otro factor activador se origina de las moléculas del sistema de complemento, que por activación de las vías clásica, alterna o de lectinas, se genera la anafilotoxina C5a que, al unirse a los receptores de los fagocitos, induce movimiento dirigido hacia el sitio de infección. Un efecto importante en la interacción entre patógenos y fagocitos es la liberación de citoquinas y quimioquinas, proteínas que inducen inflamación en el tejido, atraen los PMN y $M\phi$ al sitio de infección y facilitan el ingreso de proteínas y células al tejido afectado, dentro de las cuales está la IL-8, quimioquinas como CXCL-1, CXCL-2, CXCL-3, CXCL-4, CXCL-5. Entre las moléculas producidas por la inflamación están el leucotrieno B4 y los derivados del ácido araquidónico, los cuales ejercen una función quimiotáctica para los PMN. Todos los activadores mencionados anteriormente se unen al receptor de membrana del fagocito para estimular el citoesqueleto y facilitar el movimiento dirigido del fagocito hacia el tejido afectado donde se encuentra el patógeno.

2.6.4.2. OPSONIZACIÓN

Las moléculas de complemento C4b y C3b así como lectinas y los anticuerpos específicos para antígenos particulares como bacterias, se les denomina opsoninas, y tienen una función importante al unirse a su superficie y hacer que dicho antígeno sea más susceptible a la fagocitosis y su posterior eliminación, a este proceso de marcaje se le denomina opsonización (**figura 2.18**). El patógeno es marcado por las opsoninas y estas se unen a los receptores de membrana de los fagocitos y así permite atrapar el patógeno para la ingestión y muerte.

Figura 2.18. *Opsonización o marcaje del antígeno por medio de proteínas del complemento y anticuerpos para que sean reconocidas por los receptores de los fagocitos*



Nota: Imagen generada por inteligencia artificial a través de ChatGPT. OpenAI, 2025 <https://chat.openai.com>

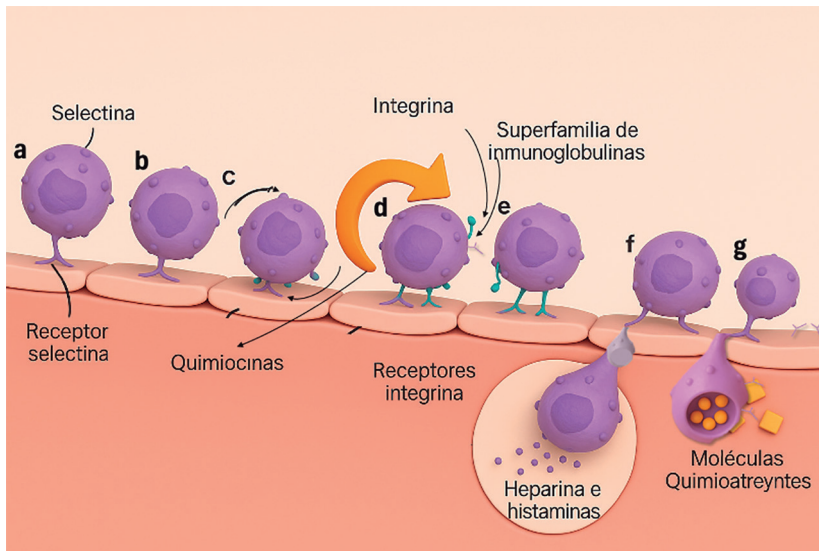
2.6.4.3. ADHESIÓN

Los PMN y los monocitos son atraídos desde la circulación sanguínea hacia el tejido infectado mediante la unión de moléculas de adhesión situadas en el endotelio vascular por acción de las sustancias quimiotácticas y citoquinas, estimulan la expresión de la selectina E para que el PMN se adhiera a la célula endotelial mediante su ligando ya que, por lo general, estas células circulan normalmente en la sangre y si no hay estímulo, no migran a los tejidos.

El PMN que ha recibido el estímulo en el proceso de activación, debe adherirse al endotelio vascular para realizar la migración dirigida. Esto lo

realiza mediante la selectina E que se expresa en el endotelio vascular, por integrinas y moléculas de la superfamilia de las inmunoglobulinas y diversos ligandos expresados sobre la membrana de los PMNs, Lex (CD15). La unión de estas moléculas de adhesión celular se traduce en que la membrana facilite la migración leucocitaria (**figura 2.19**).

Figura 2.19. Adhesión de los leucocitos al endotelio vascular mediante moléculas de adhesión como la selectina E e integrinas, que le permiten realizar la quimiotaxis o movimiento dirigido hacia el antígeno atravesando el endotelio vascular o diapédesis



Nota: Imagen generada por inteligencia artificial a través de ChatGPT. OpenAI, 2025 <https://chat.openai.com>

2.6.4.4. QUIMIOTAXIS

Los fagocitos tienen varios tipos de movimientos. Cuando no hay estímulo quimiotáctico, los movimientos son al azar, sin dirección fija o de patrullaje. Cuando hay presencia de factores quimiotácticos como la interleuquina 8 (IL-8), quimioquinas como la CXCL8, la molécula C5a u oligopéptidos como el Formil-Metionil-Leucil-Fenilalanina (FMLP), hacen que el endotelio vascular exprese moléculas de adherencia (selectina E), que se unen a los ligandos en los fagocitos e inicie el rodamiento celular o movimiento en *rolling* dirigido hacia el tejido afectado, movimiento que se denomina quimiotaxis, movimiento dirigido o unidireccional (**figura 2.18**). La membrana del fagocito al recibir el estímulo quimiotáctico activa la adenilciclase, aumenta la producción de AMP cíclico a

partir del ATP, el AMP hace que las moléculas de actina que se encuentran en el interior de la membrana se condensan, interactúan con la miosina y polimerizan la tubulina, que le permite al fagocito acentuar los movimientos unidireccionales en búsqueda del patógeno que indujo la producción de estímulos quimiotácticos. Debido a la alta concentración de factores quimiotácticos cercanos al sitio donde se encuentra el patógeno, el PMN realiza la diapédesis, que es la extravasación del fagocito para continuar con la migración hacia el patógeno en el tejido.

2.6.4.5. RECONOCIMIENTO

Una vez los fagocitos llegan al tejido donde se encuentra el patógeno, necesitan reconocer y atrapar el microorganismo. Este procedimiento lo realiza por medio de receptores de superficie celular. Hay dos tipos de reconocimiento, un reconocimiento opsónico que se realiza mediante las opsoninas y un reconocimiento no opsónico que se realiza mediante los componentes directos de las membranas de los fagocitos y del patógeno a fagocitar.

Existen varios tipos de receptores de los fagocitos que se unen al microorganismo y facilitan la ingestión o interiorización del patógeno:

- Receptores de manosa y receptores “basureros” (scavenger): el receptor de manosa es una lectina del macrófago que se une a la manosa y fucosa de los glucolípidos y glucoproteínas, azúcares que suelen formar parte de la pared de los microorganismos; en cambio, en los mamíferos los glucolípidos y glicoproteínas contienen ácido siálico o N-acetilglucosamina terminal, lo que hace que el receptor de manosa de los macrófagos no reconozcan las células propias del huésped. Los receptores basurero se unen a lipoproteínas de baja densidad (LDL) acetiladas u oxidadas que se unen a diferentes microorganismos para facilitar la endocitosis. Las integrinas de los M ϕ (MAC-1) igualmente tiene afinidad por la membrana de algunos patógenos. Estas uniones mencionadas anteriormente entre el fagocito y el microorganismo serían un reconocimiento no opsónico.
- Receptores de opsoninas: las opsoninas, como se nombraron anteriormente, son moléculas de anticuerpos, proteínas del sistema de complemento (C3b, C4b) y lectinas que recubren el patógeno para facilitar la fagocitosis. De los anticuerpos, el que realiza esta función es la IgG cuyo fragmento Fc γ tiene alta afinidad por el receptor FC γ RI, que se encuentra en la membrana de los fagocitos. Dentro de los receptores de IgG involucrados en este proceso están Fc γ RI que tiene afinidad por la IgG2, Fc γ RII que tiene afinidad por la IgG1 e IgG2, FcRIII que tiene afinidad por la IgG3. Una interacción individual entre estos receptores y el anticuerpo no es lo

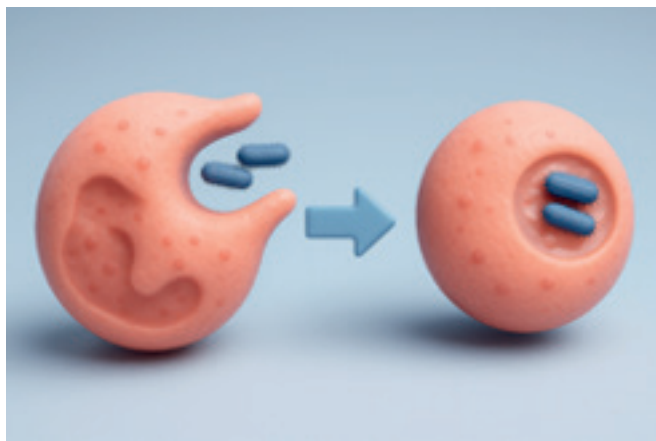
suficientemente fuerte para la captación de la molécula de anticuerpo, sin embargo, cuando un antígeno está recubierto con muchas moléculas de anticuerpo, la suma de todas estas interacciones estimula la fagocitosis a otros mecanismos efectores. Cuando las opsoninas son moléculas de complemento (C4b, C3b, C3bi), los fagocitos tienen receptores para estas moléculas como el CR1/CD35 y el receptor CR3 que tiene afinidad por la molécula C3bi; estos complejos complemento-receptor facilita la ingestión del antígeno. Por otra parte, varias proteínas plasmáticas tales como la lectina fijadora de manosa, la fibronectina, el fibrinógeno y la proteína C reactiva, pueden recubrir los microorganismos y son reconocidos por receptores que se encuentran en la membrana de los fagocitos, como es el caso del receptor C1q en el M ϕ que fija microorganismos recubiertos con lectina plasmática fijadora de manosa o las integrinas del M ϕ se fijan al fibrinógeno que recubre el patógeno. Estas uniones mencionadas anteriormente entre el Macrófago y el microorganismo recubierto por opsoninas sería un reconocimiento opsónico.

- Receptores tipo Toll (TLR): estos receptores reconocen componentes de la membrana de los patógenos como los lipopolisacáridos (LPS), proteoglicanos y nucleótidos CpG bacterianos, los cuales realizan un reconocimiento no opsónico o directo, que da como resultado la producción de citoquinas proinflamatorias y facilita la endocitosis del mismo.
- Receptores acoplados a la proteína G: estos receptores se encuentran en la membrana de los PMN y M ϕ , reconocen péptidos pequeños que contienen N-formilmetionina que se encuentran en las proteínas sintetizadas por las bacterias que permite que los fagocitos las reconozcan.

2.6.4.6. INGESTIÓN

Una vez los fagocitos realizan el reconocimiento opsónico o no opsónico del patógeno por medio de los receptores anteriormente mencionados, la membrana del fagocito emite pseudópodos para realizar una invaginación de la membrana plasmática alrededor del material extracelular, uniéndose con las moléculas reconocidas en forma de una cremallera, hasta formar una vacuola fagocítica o fagosoma, encerrando el microorganismo ingerido con miras a causarle la muerte dentro de la vacuola fagocítica (**figura 2.20**). Este paso se denomina también fagocitosis.

Figura 2.20. *Fagocitosis: proceso de emisión de pseudópodos para la ingestión del microorganismo*



Nota: Imagen generada por inteligencia artificial a través de ChatGPT. OpenAI, 2025 <https://chat.openai.com>

2.6.4.7. *DEGRANULACIÓN*

Una vez se forma el fagosoma, los gránulos primarios y secundarios que hay en el citoplasma del PMN se activan e inician la migración hacia el fagosoma donde se fusiona con la vacuola fagocítica formando el fagolisosoma. Este proceso se realiza para que todos los componentes de los gránulos proteicos y enzimáticos sean vertidos en el interior del fagosoma para iniciar el proceso de destrucción microbiana, cuyo objetivo principal es incrementar la permeabilidad de la membrana microbiana para facilitar la acción enzimática de la misma y causar la lisis del microorganismo fagocitado.

2.6.4.8. *DIGESTIÓN O MUERTE INTRACELULAR*

Una vez el microorganismo está en la vacuola fagocítica, y como consecuencia de la fusión de los gránulos o lisosomas al fagosoma, el microorganismo entra en contacto con las enzimas hidrolíticas y las proteínas contenidas en los gránulos para dar inicio a la actividad hidrolítica-digestiva de las células fagocíticas y así lograr la muerte del patógeno ingerido. Estos mecanismos microbicidas ejercen su acción dependiendo o no del oxígeno y del nitrógeno.

2.6.4.8.1. *Mecanismos independientes de oxígeno*

La importancia de los mecanismos microbicidas no oxidativos se descubrieron por las deficiencias encontradas en los PMN. Estos mecanismos están compuestos

de proteínas, péptidos antimicrobianos, enzimas y otros componentes que son liberados en el fagosoma para causar la muerte del patógeno ingerido (**tabla 2.12**). Las funciones de cada componente microbicida son:

- *pH ácido*: en el metabolismo anaerobio, uno de los eventos iniciales después de la ingestión, es la acidificación del microambiente del fagosoma y es ocasionado por la acumulación de iones de hidrógeno y ácido láctico producidos por la estimulación de la célula fagocítica. Los iones de hidrógeno se movilizan dentro de los lisosomas por bombas especiales que derivan su energía del ATP. El pH llega a 4 con la ayuda de los componentes de los gránulos acídicos siendo un mecanismo que ayuda a inhibir el crecimiento microorganismo.
- *Lactoferrina*: es una glicoproteína de 80 KDa, que tiene una función bacteriostática debido a la capacidad de la lactoferrina de ligar iones de hierro, de esta manera priva de un nutriente esencial para los microorganismo inhibiendo su crecimiento. Cuando interacciona con la región aniónica de lipopolisacáridos en la bacterias Gram negativas, desestabiliza la unión de esta molécula con cationes presentes en la superficie bacteriana, provocando su liberación y alteraciones en la conformación de la permeabilidad de la pared y de la membrana citoplasmática bacteriana.

Tabla 2.12. Componentes enzimáticos y proteicos microbicidas que se encuentran en los gránulos de los PMN

Componente microbicida	Gránulos azurófilos (primarios)	Gránulos específicos (secundarios)
Hidrolasas ácidas	β glucoronidasa, α manosidasa, fosfatasa A2	Fosfatasa A2
Proteasas Neutras	Elastasa, catepsina G, proteinasa 3	Colagenasa activador de complemento
Factores microbicidas	Mieloperoxidasa lisozima Defensina Proteína incrementadora de la permeabilidad granulocidina	Lisozima lactoferrina

- *Óxido nítrico (ON)*: se genera a partir del metabolismo de la L-arginina y su producción se regula por acción de citoquinas como el interferón gamma. En la célula blanco, el ON inhibe la síntesis de ADN, su actividad respiratoria y es el principal responsable de la destrucción de microorganismos intracelulares (*Leishmania*, *M tuberculosis*, etc.).

- *Lisozima*: los gránulos específicos y azurófilos de los PMN aportan diversas proteínas con capacidad bacteriostática y bactericida como la lisozima que ataca la mureína de la pared bacteriana.
- *Proteínas catiónicas*: para su activación, estas moléculas requieren de un pH básico que se forma en los momentos iniciales de la formación del fagosoma. Estas proteínas las aportan los gránulos azurófilos como CAP 57 y CAP 37 que tienen como función romper la membrana externa de las bacterias Gram Negativas.
- *Azurocidina*: en los monocitos y macrófagos, la azurocidina se une a los receptores scavenger calciodependiente para ser internalizada por mecanismos clatrinodependientes que favorece la supervivencia de los fagocitos, incrementa la resistencia a la apoptosis e incrementa la síntesis de citoquinas como el FNT α y la IL-6. En los PMN, la azurocidina favorece la adhesión al endotelio vascular, ya que modula la expresión de moléculas de adhesión celular ICAM-1, VCAM-1, y selectina E. Su papel microbicida lo realiza semejante a una perforina, la cual depende de la concentración iónica del medio y del pH siendo citotóxica para bacterias Gram Negativas y cuando hay baja osmolaridad iónica, actúa contra bacterias Gram Positivas y hongos.
- *Defensinas*: son péptidos antimicrobianos catiónicos con una potente función antimicrobiana y anticancerígena, además participan en el bloqueo de canales iónicos y en la modulación inmunitaria. Sus propiedades antitumorales y antimicrobianas en bacterias y hongos se le atribuyen a la capacidad de incrementar la permeabilidad de la membrana favoreciendo la lisis de la célula blanco.
- *Catepsina G*: proteína que pertenece a la familia de las serinproteasas que se encuentra en los gránulos azurófilos, tiene actividad proteolítica, se activa a pH ácido y su función es eliminar patógenos intracelulares, degradación de tejidos en sitios inflamatorios y permitir que el PMN logre invadir la biopelícula producida por algunas bacterias.
- *Proteína incrementadora de la permeabilidad*: proteína catiónica con acción bactericida y citotóxica que se encuentra en los gránulos primarios y tiene afinidad por las membranas de bacterias Gram Negativas asociadas a los lipopolisacáridos.

2.6.4.8.2. *Mecanismos dependientes de oxígeno*

Los fagocitos, incluidos los PMN, en el proceso de la desgranulación, liberan grandes cantidades de especies reactivas de oxígeno (ROS), altamente tóxicos

para el microorganismo fagocitado, proceso denominado *estallido respiratorio*. Este proceso, dependiente del oxígeno, se caracteriza por la producción del anión superóxido cuya fuente principal es el complejo NADPH oxidasa.

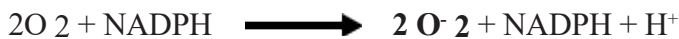
La NADPH-oxidasa fagocítica, es una fuente endógena de las más importantes de especies reactivas de oxígeno en el organismo y consta del citocromo b558 que se encuentra unido a la membrana del fagosoma; una vez sucede la activación, los componentes citosólicos se unen a los componentes de la membrana para catalizar la producción del radical de anión superóxido, de peróxido de hidrógeno, radicales hidroxilo y ácido hipocloroso, estos junto con los derivados reactivos de nitrógeno y las enzimas proteolíticas liberadas por los gránulos en el fagosoma, constituyen el mecanismo fundamental de defensa de los PMN.

En este proceso suceden una serie de reacciones bioquímicas dependientes de oxígeno y cada producto generado causa toxicidad sobre el microorganismo fagocitado.

- Reacción 1. Formación de singletes de oxígeno: la molécula de oxígeno pierde un electrón porque se mueve a una órbita superior lo que hace que la molécula pierda estabilidad adquiriendo actividad química que altera muchos sistemas biológicos



- Reacción 2. Formación de superóxido: este se forma cuando la NADPH cataliza la transferencia de un electrón desde NADPH hacia el O₂ que recibe un electrón adicional para formar el radical superóxido con importante papel bactericida.



- Reacción 3. Formación de peróxido de hidrógeno: el anión superóxido producido rápidamente en peróxido de hidrógeno gracias a que la molécula de oxígeno recibe dos electrones. El H₂O₂ es altamente tóxico para las bacterias y para las membranas de los fagocitos, por lo que es rápidamente degradado con el fin de proteger las células del huésped.



- Reacción 4. Formación de radicales hidroxílicos: el peróxido de hidrógeno sufre una reducción para producir radicales hidroxílicos, con potente acción bactericida.



- Reacción 5. Activación de halógenos: en el interior del fagosoma hay iones haluro (cloro y yodo) que en unión con la mieloperoxidasa liberada en la desgranulación, se activan estos radicales halógenos en presencia del peróxido de hidrógeno para producir hipohalógenos, altamente tóxicos para los microorganismos fagocitados.



- Reacción 6. Decarboxilación de aminoácidos: con todos mecanismos bactericidas anteriormente expuestos, se inicia la decarboxilación de aminoácidos de las proteínas constitutivas de la membrana microbiana que produce la muerte del patógeno



2.6.4.9. REGULACIÓN DE LA FAGOCITOSIS

La respuesta inmune se regula por mecanismos de apoptosis celular, la acción de citoquinas inmunorreguladoras como la IL-10, la inhibición de receptores de membrana, entre otros. La regulación de la actividad de los fagocitos especialmente de los neutrófilos se debe dar de manera estricta para evitar daños en el tejido del huésped y evitar la producción de procesos inflamatorios crónicos.

Es así que, una vez el PMN realiza su función, se activan los mecanismos de apoptosis inhibiendo la acción enzimática sobre las células del huésped. Además de la apoptosis, la regulación de la actividad fagocítica se da en dos fases, una antiinflamatoria y una fase de resolución. En la fase antiinflamatoria se liberan citoquinas reguladoras como la IL-10 y la IL-4 que están acompañadas de la regulación del factor transcripcional Factor Nuclear $\kappa\beta$, que inhibe la producción de factores activadores de la inflamación.

Por otra parte, se producen antagonistas de los receptores de las citoquinas activadores de la actividad fagocítica de macrófagos y PMN, como es el caso del antagonista de las citoquinas IL-1RA que se une al receptor de la IL-1 bloqueando así el inicio de la inflamación. Este inhibidor se expresa en la membrana de los neutrófilos y su expresión depende de señales hormonales antiinflamatorias, inhibiendo la IL-1 y no permitiendo el reclutamiento de PMN.

Los mediadores lipídicos al inicio de la infección activan la inflamación como sucede con las prostaglandinas y los leucotrienos. A medida que se trata la infección se produce un cambio en los mediadores lipídicos proresolutivos como la lipoxina A4, que tiene un efecto regulador inhibiendo la migración de los PMN, recluta macrófagos y monocitos para fagocitar PMN apoptóticos; se encuentran

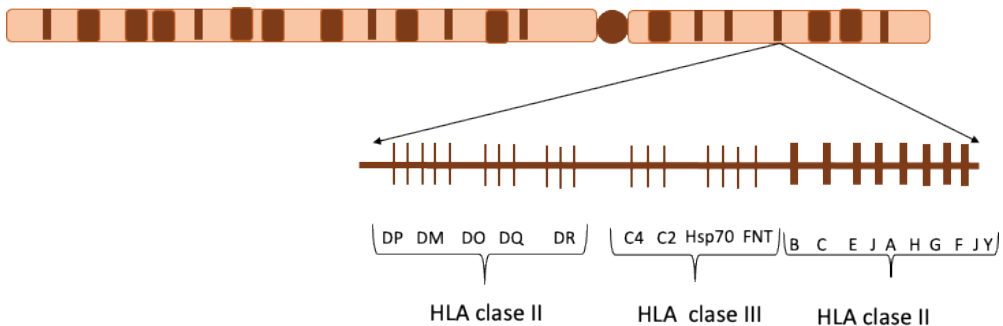
también las protectinas y resolvinas producidas por los PMN y las maresinas por los M ϕ , las cuales inhiben la migración trasendotelial y la infiltración tisular de los PMN; los receptores de quimioquinas sirven en el PMN como señuelos y carroñeros funcionales de quimioquinas CCL3 y CCL5 lo que inhibe la migración de los fagocitos; la MPO tiene propiedades antiinflamatorias y reguladoras de los fagocitos; la proteína PTX3 tiene relación con la pentraxina (proteína de fase aguda) se unen la selectina P, lo que resulta en la disminución del reclutamiento de los PMN así como se ha observado este efecto con la prostaglandina D2. Finalmente, se han descrito inhibidores endógenos que previenen la activación y adhesión de la integrina β 2, lo que inhibe la infiltración de los PMN.

2.7. COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD (CMH)

Las moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) son glicoproteínas que se encuentran en la superficie de las membranas celulares ya que pertenecen a las moléculas de adhesión celular de la superfamilia de las inmunoglobulinas.

Las proteínas del CMH en el humano se clasifican en moléculas Clase I, moléculas Clase II y en medio de estos dos grupos de genes, que en el humano están en el brazo corto del cromosoma n.º 6, se encuentran moléculas Clase III (**figura 2.21**). Como características principales de los genes del CMH es que son codominantes, es decir que un individuo expresa ambos genes heredados de padre y madre, se heredan en paquete denominado haplotipo, son multigénicos y altamente polimórficos con más de 6.000 secuencias de variantes del CMH I y 1.500 variantes del CMH II y no hacen reordenamiento durante el desarrollo humano, como lo hacen las inmunoglobulinas o el receptor TCR del linfocito T.

Figura 2.21. Ubicación genómica del CMH en el humano: región del brazo corto del cromosoma n.º 6 donde se encuentran los genes que codifican para la síntesis de moléculas del CMH



Nota: Elaboración propia.

Se han identificado tres loci únicos que codifican para tres tipos de proteínas. Las implicadas en la presentación de antígenos (CMH clases I y II) y las que participan en la estabilización de las proteínas y la síntesis de moléculas del sistema inmune, proteínas de choque térmico y chaperonas (moléculas Clase III).

Dentro de las funciones que cumple el CMH están:

- Reconocimiento de lo propio: esta función de reconocimiento y tolerancia frente a lo propio está a cargo de los linfocitos T. Cuando los linfocitos T están en proceso de maduración en el timo, estas células deben reconocer los antígenos del CMH propios que están en la superficie de las células epiteliales de la corteza del timo llamadas células nodrizas, estas células nodriza le presentan el CMH de Clase I y Clase II a los linfocitos T para generar la tolerancia frente a lo propio y que a futuro no se desarrollen procesos autoinmunes. Además, los genes del CMH cumplen la función del rechazo o aceptación del trasplante, a esta función se suman otros genes que igualmente reconocen la diferencia entre receptor y donante, induciendo la respuesta contra el órgano pero de manera más lenta que el CMH, denominados Complejo Menor de Histocompatibilidad.
- Diferenciación entre especies y dentro de la misma especie: el CMH de cada especie tiene sus diferencias moleculares que son propias de cada una de ellas. El CMH en el humano se denomina HLA de antígenos leucocitarios humanos, SLA en cerdo, ELA en equinos, BLA en bovinos, DLA en perro, FLE, en felinos, H2 en ratón, entre otros. Cada especie expresa moléculas de histocompatibilidad propias de cada una, de allí que nos diferenciamos entre las especies en el CMH. En el humano, el HLA nos diferencia entre la misma especie, ya que cada individuo hereda una cromátide de padre y otra de madre. Esta regla tiene su excepción cuando son hermanos gemelos idénticos o cuando en el proceso de fecundación de cada hermano hereda la misma carga genética del HLA.
- Defensa: el CMH Clase I y II de cada especie tiene la función de tomar péptidos de los microorganismos que han sido fagocitados y que van a ser presentados a los linfocitos T para activar la respuesta inmune adaptativa.

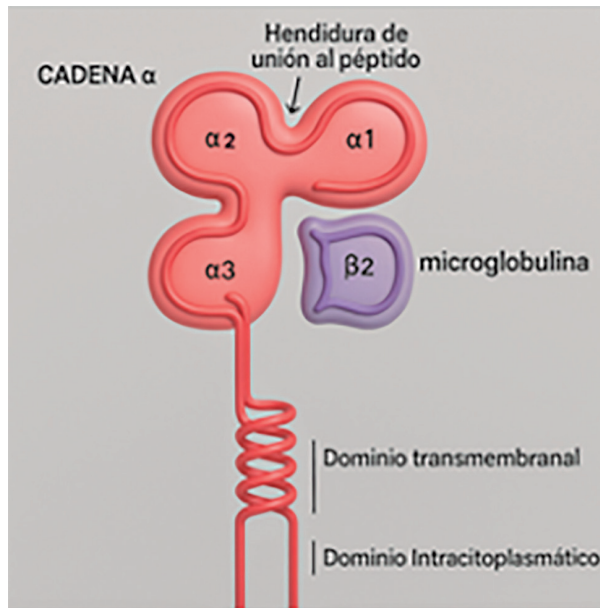
2.7.1. MOLÉCULAS CMH CLASE I

Las moléculas Clase I son heterodímeros de tipo glicoproteína que hacen parte constitutiva de las membranas celulares, su síntesis está codificada por los genes HLA A, HLA B y HLA C los cuales se denominan genes clásicos, y los no clásicos los genes HLA E, HLA F, HLA G, HLA H, HLA J y HLA Y. Las moléculas Clase I están compuestas por una cadena pesada α de PM 44

kDa y con ~325 aminoácidos (a.a.) incluidos los intramembranales y una cola intracitoplasmática hidrofílica de ~55 a.a.; la cadena liviana $\beta 2$ microglobulina tiene un P M 12 kDa.

La estructura de la cadena α , está dividida en tres dominios extracitoplasmáticos, los dominios $\alpha 1$ y $\alpha 2$ de conformación similar y de la que depende el polimorfismo de las moléculas HLA Clase I y la unión del péptido antigénico que se va a presentar a los linfocitos T citotóxicos. El dominio $\alpha 3$ y la cadena $\beta 2$ microglobulina se encuentran cercanos a la membrana celular con el fin de mantener a los dominios $\alpha 1$ y $\alpha 2$ alejados de la membrana para facilitar la interacción con su ligando el receptor CD8+ (**figura 2.22**).

Figura 2.22. Moléculas CMH Clase I: estructura y dominios de las moléculas HLA Clase I cadena pesada α y cadena liviana $\beta 2$ microglobulina



Nota: Imagen generada por inteligencia artificial a través de ChatGPT. OpenAI, 2025 <https://chat.openai.com>

Las moléculas HLA Clase I se encuentran en la membrana de toda célula que contenga núcleo, es decir, que está ausente en eritrocitos y en otro tipo de células como las células germinales, células de los embriones preimplantación y en el sincitiotrofoblasto que es el tejido embrionario no presente en la vida extrauterina; en algunas células como las neuronas, monocitos y hepatocitos expresan niveles bajos de moléculas del CMH Clase I.

Las moléculas Clase I presenta péptidos provenientes de antígenos endógenos, es decir, provenientes de patógenos que requieren estar en el interior de una célula para su multiplicación y sobrevivencia (virus, Ag tumorales, bacterias y parásitos intracelulares) (**tabla 2.13**).

La cavidad de unión al péptido entre el dominio $\alpha 1$ y $\alpha 2$ es cerrada de ambos lados, lo que limita el número de presentación de aminoácidos del patógeno de 8 a 10, es decir, que las moléculas HLA Clase I presenta péptidos de tamaño pequeño en una conformación flexible y extendida sobre el lecho de la hendidura. El tamaño de la cavidad requiere que las proteínas nativas del patógeno sean digeridas para producir fragmentos más pequeños que puedan enlazarse con las moléculas Clase I y que sean presentadas adecuadamente al linfocito T y esto lo realizan ya que el ligando del HLA A,B,C es el receptor $CD8^+$, por lo tanto, los péptidos son presentados a los linfocitos T citotóxicos; el HLA E es una molécula de polimorfismo limitado, presenta péptidos a las NK y es reconocido por el receptor $CD94$ y $NKG2$; el HLA G se expresa en el sincitiotrofoblasto placentario y su función es inhibir la acción de las NK para prevenir el rechazo del aloinjerto del feto.

Para que la cadena α de las moléculas HLA Clase I se expresen en la membrana celular, requiere de la presencia de la cadena $\beta 2$ microglobulina, lo que significa que la expresión de las moléculas Clase I está regulada por la cadena $\beta 2$ microglobulina.

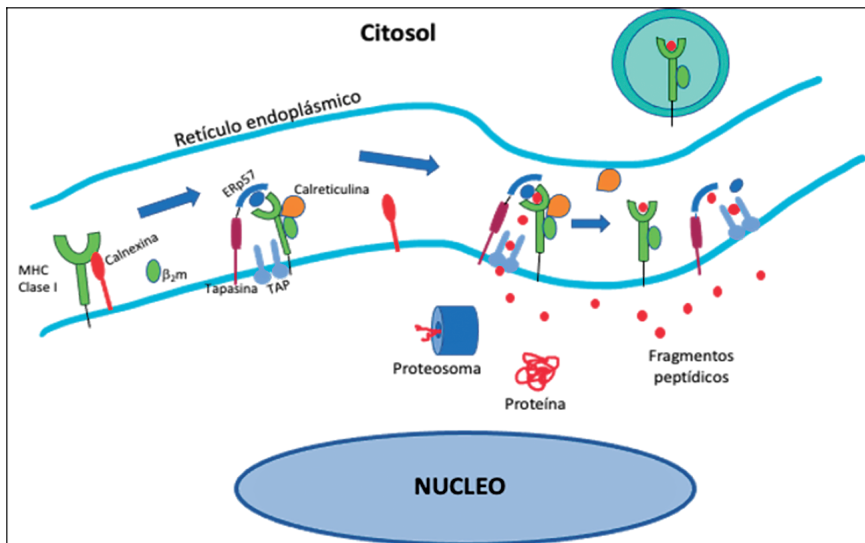
2.7.1.1. SÍNTESIS DE MOLÉCULAS CMH CLASE I

Las moléculas Clase I se sintetizan para presentar antígenos endógenos (virus, antígenos tumorales, bacterias y parásitos intracelulares). En el caso de los virus, este ingresa a la célula y aprovecha la síntesis de proteínas propias de la célula para realizar la síntesis de las proteínas virales mediante los ribosomas de la célula para su posterior ensamblaje como partículas virales. La célula infectada en respuesta a este proceso de replicación viral, inicia la degradación del virus mediante un complejo proteínico en forma de barril denominado proteosoma, el cual tiene actividad proteolítica sobre las proteínas virales que se encuentran en el citosol. Este proteosoma en condiciones normales, se encarga de degradar proteínas anormales, mal ensambladas o que ya no son necesarias. En el caso de células infectadas, el interferón producido por otras células del sistema inmune innato, hace que las células infectadas cambien sus proteosomas a favor de la producción de péptidos que se puedan unir a las moléculas CMH Clase I, ya que produce péptidos con un residuo hidrófobo en el extremo carboxilo, propiedad que le permite unirse al CMH Clase I.

Estos péptidos son transportados hacia el retículo endoplásmico (RE) por medio de la proteína denominada transportador asociado al procesamiento del antígeno (TAP), que está formado por dos cadenas polipeptídicas denominadas TAP-1 y TAP-2. Al mismo tiempo la cadena α y la cadena β 2 microglobulina recién sintetizadas, son llevadas al RE para su plegamiento y fusión con el péptido obtenido del patógeno intracelular. Para este plegamiento CMH I y péptido, intervienen chaperonas como la calnexina que retiene la cadena pesada una vez ingresa al RE; cuando la β 2 microglobulina se une a la cadena pesada, la calnexina es liberada y el heterodímero de la cadena pesada y la β 2 microglobulina, forman un complejo de carga de péptido en unión con TAP-1 que actúa como transportador peptídico, la calreticulina que actúa como una chaperona, la tapasina y la enzima oxidorreductasa ERp57 se encuentran unidas por enlaces disulfuro (**figura 2.23**).

Este complejo y el heterodímero buscan péptidos compatibles al sitio de unión y se ajustan, sin embargo, si el péptido es demasiado largo la enzima aminopeptidasa del retículo endoplásmico elimina los a.a. desde el extremo aminoterminal del péptido para mejorar su ajuste en el lecho del CMH Clase I. Los demás péptidos transportados por TAP que no se unieron a CMH I son transportados desde el RE al citosol.

Figura 2.23. Síntesis de CMH Clase I y unión con el péptido proveniente del patógeno endógeno

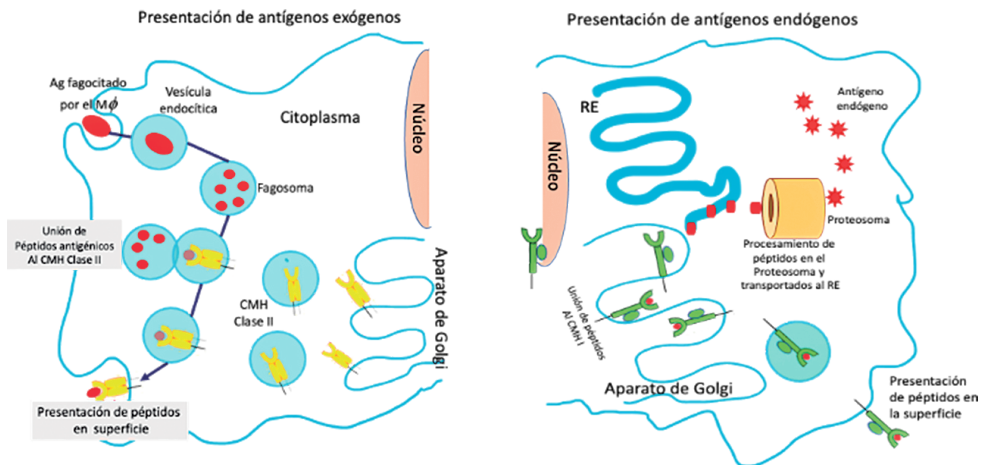


Nota. Elaboración propia.

Cuando sucede la unión entre el péptido y los dominios $\alpha 1$ y $\alpha 2$ de la cadena pesada del CMH Clase I, todas las chaperonas que intervinieron en el plegamiento y ajuste son liberadas y el CMH I más el péptido salen del RE en una vesícula para pasar por el aparato de Golgi hasta llegar a la membrana celular donde se fusionan vesícula y membrana externa y permitir la expresión de las moléculas Clase I más el péptido a presentar (**figura 2.24**).

Como el ligando de las moléculas CMH Clase I es el receptor CD8+, la célula que recibe la presentación es el linfocito T citotóxico (LTc), quien reconoce el péptido por parte del receptor del linfocito T (TCR) y traduce la señal al interior del LTc para producir perforinas que afectan la integridad de la célula infectada causando la lisis de la misma, todo esto con el fin de evitar que el patógeno intracelular continúe con la replicación y por ende con el proceso infeccioso.

Figura 2.24. *Síntesis de las moléculas Clase I y Clase II: en el recuadro de la vía endocítica se observa cuando el Ag exógeno es introducido en el citosol mediante el fagosoma para degradarlo; a su vez se está sintetizando CMH Clase II en el retículo endoplásmico, el cual sale en una vesícula para fusionarse con el fagosoma que contiene en Ag degradado; el CMH toma el epítipo del Ag, y expresa en la membrana CMH Clase II-epítipo exógeno para presentarlo al linfocito T ayudador. En el recuadro de la vía endógena se observa la degradación del Ag en el proteosoma, epítipo que se va a unir al CMH Clase I en el retículo endoplásmico y expresar el CMH Clase I-epítipo endógeno en la superficie de la membrana celular para presentarlo al linfocito T citotóxico.*

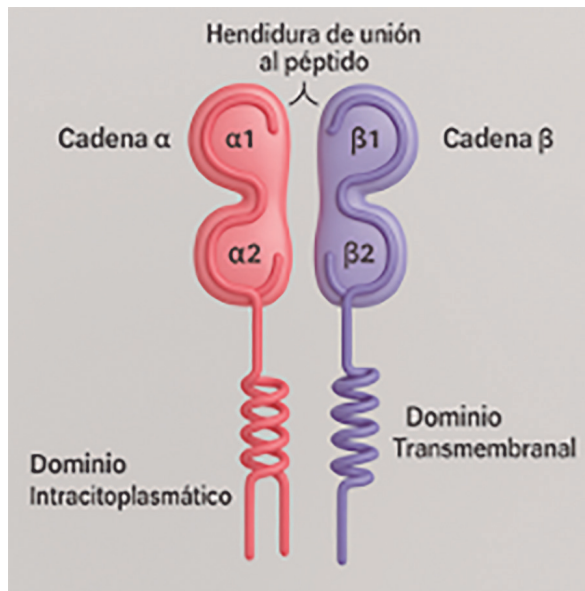


Nota. Elaboración propia.

2.7.2. MOLÉCULAS CMH CLASE II

Las moléculas de CMH Clase II son glicoproteínas transmembranales que están codificadas por los genes HLA DP, HLA DQ y HLA DR, los cuales se denominan clásicos, y los no clásicos son los genes HLA DM, HLA DO. Las moléculas HLA Clase II están compuestas por una cadena pesada α de 32-34 kDa con 229 a.a. y una cadena liviana β de 29 a 32 kDa con 237 a.a. Las cadenas α y β tienen dos dominios extracitoplasmáticos hidrofílicos, dos segmentos transmembranales hidrofóbicos y cada cadena con una porción hidrofílica anclada al citoplasma (**figura 2.23**). Los dominios $\alpha 1$ y $\beta 1$ se encuentran más alejados de la membrana forman una estructura o hendidura para la unión a los péptidos del patógeno exógeno que van a ser presentados a los Linfocitos T ayudadores, ya que el ligando de las moléculas clase II es el receptor CD4+ (**figura 2.25**).

Figura 2.25. Moléculas CMH Clase II: estructura de las moléculas HLA Clase II: cadena pesada α y cadena liviana β



Nota. Imagen generada por inteligencia artificial a través de ChatGPT. OpenAI, 2025 <https://chat.openai.com>

Las moléculas HLA Clase II se encuentran en la superficie de las membranas de Células Presentadoras de Antígeno (CPA) como los macrófagos, células dendríticas, células de Langerhans, células de Kupffer, linfocitos B y células

endoteliales, así como sobre células de epitelio de timo, fibroblastos, células cebadas, queratinocitos y linfocitos T activados.

Las moléculas Clase II presentan péptidos provenientes de antígenos exógenos lo que significa que deben ser internalizados o fagocitados en el citosol de la célula para ser presentados sus epítopes. Entre estos patógenos están los hongos, parásitos, bacterias y partículas virales extracelulares (**tabla 2.13**).

Tabla 2.13. *Complejo Mayor de Histocompatibilidad en el humano. Cuadro comparativo de las características y funciones de las Moléculas HLA Clase I y HLA Clase II*

Característica	CMH Clase I	CMH Clase II
Genes	HLA A, B, C, <u>E, F, G, H, I, Y</u>*	HLA <u>DM, DO, DP, DQ, DR</u>*
Célula donde se expresa	Toda célula nucleada excepto glóbulos rojos, neuronas	CPA: macrófagos, células dendríticas, linfocitos B Otras células: LT helper, espermatozoides
Tipo de Ag que presenta	Endógeno (virus, tumores, bacterias y parásitos intracelulares)	Exógeno (bacterias, hongos, parásitos)
Cantidad de aminoácidos presentados	8-10 a.a.	20-30 a.a.
Lt que reconoce el Ag presentado	LT citotóxico	LT ayudador
Ligando	CD8 ⁺	CD4 ⁺

Nota. Genes clásicos en negrilla. Genes no clásicos subrayados.

La cavidad de unión con el péptido de las cadenas $\alpha 1$ y $\beta 1$ de las CMH Clase II es polimórfica, lo cual restringe el número de péptidos antigénicos que pueden enlazar, sin embargo la porción de mayor polimorfismo está en el dominio $\beta 1$. Esta cavidad al tener un área más abierta, puede presentar péptidos de mayor tamaño de 20-30 a.a. Los dominios $\alpha 2$ y $\beta 2$ no presentan polimorfismo, pero sí facilitan la interacción con su ligando, el receptor CD4⁺, es decir que el péptido es presentado al linfocito T ayudador.

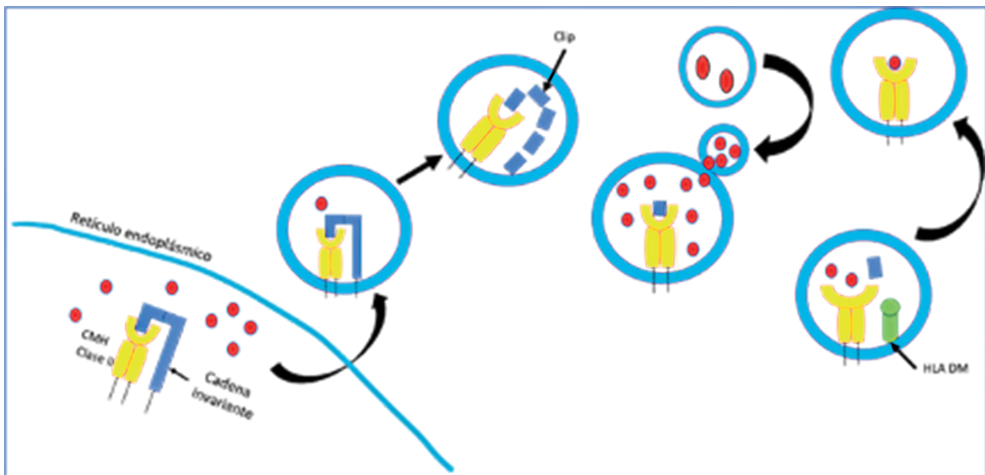
2.7.2.1. SÍNTESIS DE MOLÉCULAS CMH CLASE II

Las proteínas de patógenos extracelulares son procesados por vía intracelular mediante la endocitosis o fagocitosis del agente. Las Células Presentadoras

de Antígeno (CPA) que también son fagocitos ($M\phi$, CDs), se unen por medio de receptores al patógeno para su posterior ingestión y muerte dentro del fagolisosoma, como se trató en el tema de la fagocitosis. Los linfocitos B también unen antígenos específicos por medio de su receptor de membrana (BCR) para interiorizarlo a través de la endocitosis mediada por el BCR.

Paralela a esta función de las CPA, se inicia la síntesis de las cadenas α y β de las moléculas del CMH Clase II, desde los ribosomas hacia el retículo endoplásmico (RE). Las cadenas α y β ya polimerizadas se unen a la cadena invariante que tiene como función prevenir que al sitio de unión del péptido se unan péptidos que se encuentran en el RE, además, enviar las moléculas CMH Clase II a las vesículas endocíticas donde van a tomar el péptido de interés a presentar al linfocito T. Estas vesículas tienen proteasas como la cathepsina S que degrada la cadena invariante, dejando solo un pequeño fragmento de esta cadena cubriendo el lecho de unión al péptido de las moléculas CMH Clase II. Este fragmento se denomina péptido de la cadena invariante asociado a Clase II (CLIP) (figura 2.26).

Figura 2.26. Síntesis de CMH Clase II y unión con el péptido proveniente del patógeno exógeno



Nota: Elaboración propia.

Para la eliminación del CLIP del lecho de los dominios $\alpha 1$ y $\beta 1$ y la unión con el péptido del patógeno, interviene la molécula HLA-DM que facilita la

unión de otros péptidos, pero por unión repetida del CMH Clase II con HLA-DM, el HLA-DM desplaza los péptidos que tienen uniones débiles y asegura la presentación de péptidos fuertemente adheridos. En este momento, el CMH Clase II sin cadena invariante y el péptido fuertemente unido son llevados a la superficie celular mediante una vesícula transportadora, para permitir la expresión en la membrana de la CPA (**figura 2.23**). Una vez es presentado al linfocito T ayudador, sus receptores realizan señalización intracelular para dar como resultado la mitosis del Linfocito Th y la producción de citoquinas.

2.7.3. MOLÉCULAS CLASE III

Los genes de las moléculas Clase III se encuentran ubicados entre los del CMH Clase I y Clase II. Codifican para proteínas que no están en la superficie celular, no son responsables del reconocimiento de lo propio, no tienen la función de diferenciar entre las especies, mientras que sí cumplen una función en la síntesis de proteínas de la respuesta inmune como las proteínas del sistema de complemento (C4a, C4b, C2, Factor B), citoquinas (factor de necrosis tumoral FNT α y β) y proteínas del choque térmico (Hsp70); chaperonas (TAP1 y TAP2) y enzimas esteroides 21-hidroxilasa, 21 OHA y 21- OHB.

2.7.4. GENÉTICA, POLIMORFISMO Y NOMENCLATURA DEL CMH

Los genes del CMH se encuentran en el brazo corto del cromosoma No. 6 y de la β 2- microglobulina en el cromosoma No. 15. Dentro de las características que presentan los genes del CMH y sus productos están el polimorfismo de los alelos de estos genes ya que se realizan de 1 a 50 sustituciones de a.a. que no suceden al azar, sino que se producen en los dominios α 1 y α 2 del CMH Clase I y en α 1 y β 1 del CMH Clase II, que codifican dos grupos de proteínas de estructura diferente pero homólogas entre sí. Por otra parte, dentro del genoma humano, los genes del CMH son los que han evidenciado mayor polimorfismo, para algunos locus HLA de han detectado más de 250 alelos mediante análisis serológicos y por secuenciación molecular, se ha demostrado que un alelo de HLA puede presentar múltiples variantes con pequeñas diferencias entre ellos. La generación del polimorfismo de las moléculas del CMH se produce con el fin de que en los procesos infecciosos sobrevivan los individuos más polimórficos ya que tienen mejores oportunidades de presentación de péptidos antigénicos; además, es importante que para que se dé un mayor polimorfismo, en la reproducción sexual entre individuos, se debe realizar selección de pareja más HLA distante para que el feto en desarrollo tenga más posibilidad de éxito en la implantación y desarrollarse adecuadamente.

Existen ventajas y desventajas del polimorfismo que presentan las moléculas del CMH. Como ventaja es tener mayor capacidad de defensa del individuo frente a patógenos causantes de infección lo que da mayores garantías de sobrevivencia para el individuo y la especie humana. Como desventajas hay mayor incidencia de enfermedades autoinmunes por fallas en el control frente a lo propio en el timo, de este sistema depende la incompatibilidad entre órganos e induce el rechazo de trasplantes sólidos y de médula ósea y dificulta el desarrollo de vacunas que requiere la intervención de una respuesta potencial por parte de los linfocitos T.

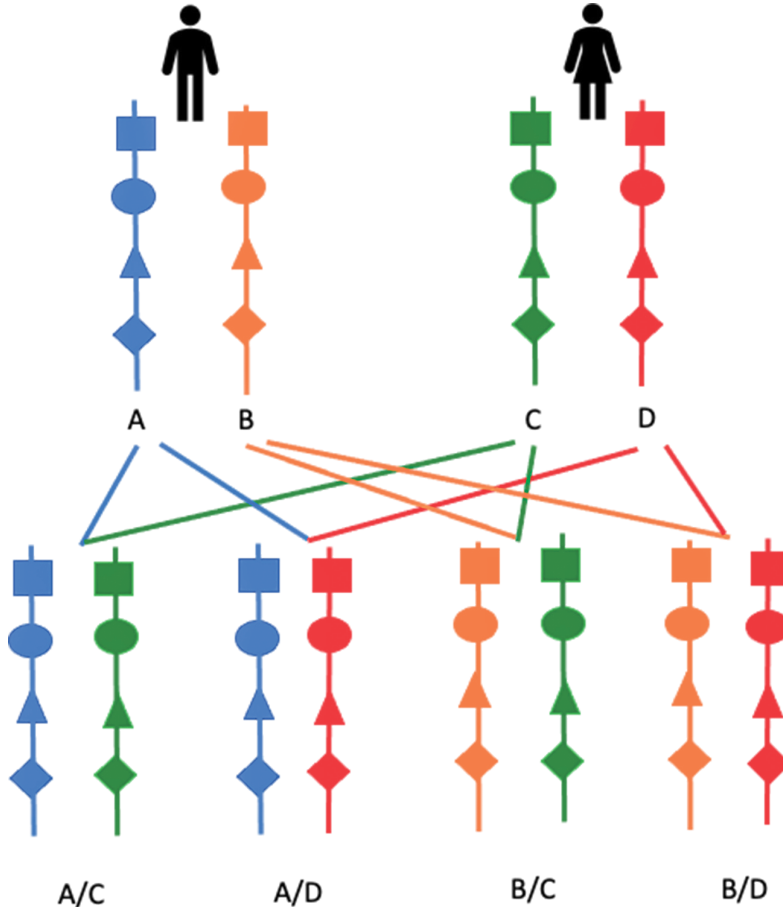
El CMH, al poseer diferentes loci y un número muy elevado de alelos diferentes, le da la característica al complejo de ser poligénico y polimórfico, lo que resulta en una gran diversidad de moléculas de histocompatibilidad (**tabla 2.14**).

Tabla 2.14. Polimorfismos de las Moléculas CMH Clase I y Clase II en el humano

Polimorfismo del HLA Clase I Y II			
Clase	Locus HLA	Número de alelos	Número de proteínas expresadas
HLA Clase I	A	7,742	4,355
	B	8,849	5,343
	C	7,393	4,095
HLA Clase II	DPA1	406	173
	DPA2	5	0
	DPB1	1,958	1,223
	DPB2	6	0
	DQA1	442	205
	DQA2	40	11
	DQB1	2,230	1,407
	DRB	4,018	2,736

Los genes del CMH expresan en forma codominante, lo que significa que cada individuo expresa los genes heredados de padre y madre (**figura 2.27**) y el conjunto de alelos presentes en cada cromátide del cromosoma No 6, se denomina haplotipo, es decir cada individuo heterocigoto va a expresar dos haplotipos. Determinados alelos del HLA presentes en diferentes locus, se heredan en conjunto con una frecuencia mayor de la esperada, a esto se le denomina desequilibrio de ligamento.

Figura 2.27. Herencia del HLA: cada progenitor da a su descendencia un haplotipo en cada espermatozoide y óvulo, que al momento de la fecundación se manifiestan de manera codominante permitiendo la combinación al azar de cada haplotipo



Nota: Elaboración propia.

De acuerdo a la forma en que se heredan al azar los haplotipos del HLA se pueden generar individuos que tengan la probabilidad de tener haplotipos idénticos en un 25 % (primer embarazo de esta pareja haplotipo A, C; segundo embarazo de esta pareja haplotipo A,D); existe la probabilidad del 25 % de que los individuos sean totalmente diferentes en el HLA (primer embarazo haplotipo A, D; segundo embarazo haplotipo B, C); y finalmente, existe la probabilidad del 50 % que los nuevos individuos provenientes de esta pareja sean haploidenticos, es decir que compartan un haplotipo (primer embarazo haplotipo A, C; segundo embarazo haplotipo A, D; comparten el haplotipo A).

El Comité de Nomenclatura de la Organización Mundial de la Salud es el responsable de asignar a cada molécula HLA una designación numérica (ejemplo: HLA A2, HLA B27, HLA DR2) que permite la diferenciación de cada haplotipo del CMH (**figura 2.28**).

Figura 2.28. *Nomenclatura de las moléculas HLA: el primer campo corresponde al antígeno serológico. El segundo campo distingue los alelos HLA que difieren en una o más variantes sin sentido. El tercer campo distingue los alelos HLA que difieren en una o más variantes sinónimas. El grupo N distingue los alelos HLA que difieren en una o más variantes sinónimas dentro de los exones que codifican las regiones del surco de unión al péptido (exón 2 y 3 para los genes HLA de clase I y exón para los genes HLA de clase II).*



2.7.5. APLICABILIDAD DEL ESTUDIO DEL CMH

- **Trasplante**

Las condiciones básicas para insertar tejido de un individuo a otro, fueron desarrolladas cuando se realizaron los primeros injertos entre cepas de ratón endogámicas. Una aceptación del 100 % del tejido injertado se obtiene cuando es en el mismo individuo y se denomina autoinjerto; entre individuos genéticamente idénticos, injerto singénico, y entre individuos no emparentados, injerto alogénico. Por otra parte, teniendo en cuenta el posible rechazo a causa de la compatibilidad de los complejos reconocedores de antígeno entre donante y receptor, se ha fijado la mirada en órganos de animales denominados xenogénicos que puedan suplir esta problemática y tener una alternativa fácil de obtención de órganos para las personas que así lo requieran.

Cuando el injerto sobrevive al inicio pero es rechazado a los 10 a 13 días, se considera un rechazo agudo el cual depende de la acción de los linfocitos T; si un receptor que con anterioridad ha rechazado un injerto y vuelve a recibir tejido del mismo donador, y el rechazo sucede entre 6 a 8 días, se llama rechazo acelerado ya que los linfocitos T específicos tienen memoria. La respuesta de rechazo esta mediada por los linfocitos T CD4+, CD8+ o ambos. Las reacciones de rechazo entre donador y receptor suceden por las diferencias que pueden existir en el CMH, ya que el receptor dirige su respuesta inmune contra las moléculas no propias del complejo. Por lo anterior, se han realizado esfuerzos para contrarrestar este tipo de reacciones mediante la inmunosupresión para evitar el rechazo del tejido u órgano, a excepción de los trasplantes entre gemelos idénticos.

Cuando un paciente requiere de un órgano, los primeros candidatos a elegir son los hermanos, ya que hay un alto porcentaje de encontrar un hermano que comparta el 50 % de identidad en su HLA. Se debe realizar la prueba de histocompatibilidad entre donante y receptor para buscar la mayor identidad posible en el HLA, búsqueda de anticuerpos citotóxicos, grupo sanguíneo, ausencia de agentes infecciosos que puedan causar patologías transmitidas por tejidos u órganos trasplantados; además, es factible inducir tolerancia del receptor frente a las células del donante acompañado de medicamentos inmunosupresores para que al momento de recibir el trasplante se disminuyan las reacciones de rechazo. Cuando no existe la posibilidad de realizar trasplante entre hermanos, como fuente de órganos está el donante de cadáver, donde se tipifica el CMH del cadáver y se busca en lista de espera, cuál receptor es el más homogéneo en sus antígenos de histocompatibilidad. Existe también el xenotrasplante entre diferentes especies (animal a humano), de los cuales no se han obtenido resultados exitosos, además de la posibilidad de transmisión de enfermedades zoonóticas; otra posibilidad en estudio, es la obtención de órganos artificiales cuyo problema principal es la compatibilidad biológica ya que son órganos mecánicos que tienen que adaptarse a un organismo biológico.

- **Pruebas de paternidad responsable**

Los antígenos de histocompatibilidad, al ser heredados de padres a hijos, son una herramienta eficaz con más del 90 % de confiabilidad para indicar la relación fraterna entre dos individuos (padre-hijo), este porcentaje se incrementa sumando los análisis de grupo sanguíneo, sin embargo, el estudio de histocompatibilidad HLA es más utilizado para la búsqueda de homología entre donador y receptor en trasplantes.

En esta prueba se compara el ADN de padres e hijo en busca del 50 % de ADN que tienen en común. Se analizan determinadas regiones o marcadores genéticos conocidos como STR y se recomienda estudiar mínimo 13 STRs denominados

CODIS, para obtener la información genética suficiente. A nivel mundial, lo normal es analizar 16 STRs validados y denominados como vWA, THO1, S33, FGA, D1S1656, D2S1338, D3S1358, D8S1179, D10S1248, D12S391, D16S539, D18S51, D19S433, D21S11, D22S1045, amelogenina (determinación del sexo), sin embargo, este grupo de marcadores puede ampliarse a 22 según la necesidad.

- **Asociación con enfermedades**

Diferentes estudios han demostrado la asociación de los antígenos HLA Clase I y II con algunas enfermedades a las que generalmente se les desconoce la etiología, tienen tendencia a ser crónicas, presentan alteraciones inmunológicas y se presentan en más de un individuo del grupo familiar. Existe asociación con los mecanismos de patogénesis de las enfermedades y entre ellas están las de etiología autoinmune (artritis reumatoidea, diabetes mellitus insulínica, espondilitis anquilosante, lupus eritematoso sistémico, entre otras); enfermedades de etiología no autoinmune (deficiencia de la 21-hidroxilasa); enfermedades de etiología desconocida (narcolepsia). Otra asociación depende de las características de los antígenos HLA y la enfermedad, como las enfermedades asociadas a antígenos HLA Clase I (espondilitis anquilosante asociada con HLA-B27), enfermedades asociadas a los antígenos HLA Clase II (HLA DR con lupus eritematoso) y enfermedades asociadas con antígenos Clase III (deficiencias de complemento). Existen varias hipótesis sobre la asociación de la enfermedad con el HLA y son el mimetismo molecular entre antígenos HLA y antígenos de patógenos infecciosos, modificación en la estructura de los antígenos HLA, antígenos HLA que actúan como receptores, deficiencia de la respuesta inmune, deficiencia de los antígenos Clase III y falla en la selección de los linfocitos T.

La asociación de la presencia de los antígenos de HLA con las enfermedades se mide mediante el análisis de riesgo relativo (RR), que es la fuerza de asociación de una enfermedad con un determinado antígeno o alelo HLA. El RR superior a 1 indica asociación positiva; el RR inferior a 1 indica protección (**tabla 2.15**).

Tabla 2.15. *CMH y enfermedad. Asociación de antígenos de histocompatibilidad (HLA) con algunas enfermedades*

Enfermedad	HLA	RR
Artritis reumatoidea	DR4	4,2
Lupus	DRB1/DQB1	6
Espondilitis anquilosante	B27	87,4
Síndrome de Reiter	B27	37
Uveítis anterior aguda	B27	10

Tiroiditis de Hashimoto	DR5	3,2
Esclerosis múltiple	DR2	5
Diabetes juvenil	DR3/DR4/DQw8	3-6
Enfermedad celiaca	DR3/DR5/DR7	30
Dermatitis herpetiforme	DR3	17
Narcolepsia	DR2	30

- **Embarazo y HLA**

En la madre ocurren eventos de desactivación de la respuesta inmune contra el feto para su sobrevivencia, como no expresar antígenos HLA Clase II clásicas en la placenta para evitar el reconocimiento por las NK, expresar en el citotrofoblasto extravascular moléculas HLA-G, HLA-E y HLA-C con el fin de bloquear la acción citotóxica de las NK en la decidua, entre otros mecanismos que favorecen el desarrollo y crecimiento del feto in útero.

- **Estudios antropológicos**

Por medio del estudio del HLA se pueden analizar polimorfismos de antepasados poblacionales, lo que ha permitido encontrar marcadores importantes en los HLA que puede enlazar restos arqueológicos encontrados en distintas zonas geográficas con las teorías migratorias de los ancestros que propone la antropología. El patrón de herencia de los haplotipos favorece desequilibrios genéticos que permiten mayores frecuencias de un haplotipo en particular en una población. Por ejemplo, la frecuencia esperada en poblaciones caucásicas para el haplotipo HLA A1 + HLA B8 es del 7 % al 8 %.

La determinación de HLA en poblaciones genéticamente constantes permite reconocer los genes autóctonos de los adquiridos por entrecruzamientos poblacionales. En el caso de los gitanos, que se han extendido por toda Europa sin entremezclarse con otros pueblos europeos, se ha demostrado que están relacionados con poblaciones indígenas caucásicas. En la India, a pesar de ser multicultural, su contenido genético ha permanecido constante debido a sus arraigadas costumbres, encontrándose que sus haplotipos son compartidos con asiáticos del sudeste. En el continente Americano, caracterizado por un alto contenido migratorio, se ha observado un cambio genético como el caso de la población mexicana donde se han encontrado rasgos de origen español-europeo, amerindios y africanos en menor grado. La población de Paraguay ha recibido un aporte genético predominantemente español. Estos ejemplos demuestran la influencia migratoria y los entrecruzamientos genéticos observados hasta el día de hoy.

- **Estudios étnicos**

Permite el estudio poblacional de diversas razas y sus antígenos HLA. Muchos estudios poblacionales se han realizado en Europa, Norteamérica y Japón. Las diferencias de las frecuencias alélicas para los loci del HLA se evidencian en los principales grupos raciales en los que tradicionalmente se divide la especie humana

2.7.6. REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL CMH

La regulación de la expresión de las moléculas CMH Clase I y II está regulada por diferenciación celular, por estímulos inmunitarios e inflamatorios extrínsecos. Las citoquinas tienen un papel importante ya que regulan la transcripción para la síntesis de las moléculas HLA; es así como los interferones (IFN) α , β y γ y el factor de necrosis tumoral estimulan la expresión de CMH Clase I y el IFN γ estimula la síntesis de moléculas CMH Clase II; así mismo, hay citoquinas que inhiben por medio de IFN α , IFN β y la IL-10.

La expresión del CMH puede aumentar o disminuir en presencia de ciertos virus como el citomegalovirus (CMV), el virus de la hepatitis B y el adenovirus, lo que le permite evadir la presentación de sus antígenos al sistema inmune. La disminución de la expresión del CMH también puede deberse a la disminución de algún componente responsable del transporte del péptido a presentar o en el ensamble de las CMH Clase I como es el caso del CMV que enlaza la $\beta 2$ microglobulina, lo que inhibe la expresión en la membrana celular de las moléculas Clase I; en el caso de infecciones causadas por adenovirus, no hay acción de las TAP1 y TAP2 las cuales transportan el péptido del citoplasma al retículo endoplásmico, por ende no se expresará la molécula Clase I.

Tanto los genes del CMH Clase I como Clase II, tienen a los lados secuencias promotoras 5' que unen factores de transcripción específicos de la secuencia. La regulación transcripcional de CMH es mediada por elementos positivos y negativos. Es así como el factor transactivador de las CMH Clase II (CIITA) y un factor de transcripción RFX ambos se unen a la región promotora de los genes del CMH Clase II. Los defectos en estos dos factores mencionados causan el síndrome del linfocito desnudo, los pacientes que sufren este síndrome, no sintetizan CMH Clase II en sus células, lo que lleva como consecuencia que el paciente posea una inmunodeficiencia grave ya que las CMH Clase II son las activadoras de los linfocitos T.

2.8. CITOQUINAS

Las citoquinas son moléculas de carácter proteico y glucoproteico de bajo peso molecular, producidas por un periodo breve de tiempo por una gran variedad

de células como los linfocitos Th, linfocitos Tc, linfocitos T $\gamma\delta$, linfocitos Th17, linfocitos B, PMN, eosinófilos, macrófagos, CDs, NK, NKT, mastocitos, células endoteliales, queratinocitos y fibroblastos.

Cumplen funciones en la amplificación y regulación de la respuesta inmune, en la activación de la inflamación y en la hematopoyesis. Las citoquinas pueden realizar acciones autocrinas (la citoquina sintetizada tiene efectos sobre la misma célula que la produjo), paracrinas (la citoquina sintetizada tiene efectos sobre las células cercanas) y endocrinas (la citoquina sintetizada tiene efecto sistémico). Sus funciones biológicas igualmente se caracterizan en el resultado de la señalización en la célula estimulada; son pleiotrópicas, es decir una citoquina actúa sobre muchos tipos celulares y una célula puede expresar receptores para más de una citoquina; son redundantes, es decir, varias citoquinas comparten funciones similares; son sinérgicas, unas citoquinas favorecen en su función, la acción de otras citoquinas; son antagónicas, las citoquinas se inhiben o bloquean sus efectos mutuamente.

Para poder ejercer su efecto sobre la célula a estimular, se requiere de receptores específicos para cada citoquina los cuales se unen con alta afinidad. Las citoquinas se dividen en varios grupos:

- **Interleuquinas (IL):** son citoquinas que interactúan entre dos leucocitos regulando la activación de las células del sistema inmune, controlan su diferenciación y estimulan la proliferación de algunas subpoblaciones celulares; además son proinflamatorias activando células endoteliales para incrementar la permeabilidad vascular y favorecer la migración de las células inmunes desde la circulación sanguínea hacia el tejido infectado; otras son antiinflamatorias para mantener el control de la respuesta inmune; controlan la respuesta de los linfocitos T y su diferenciación y sobre los linfocitos B los activan para producir los diferentes tipos de anticuerpos (tabla 2.16).
- **Factores Estimuladores de Colonias (CSF):** son citoquinas que estimulan la maduración en médula ósea de todas las líneas hematopoyéticas, la proliferación y diferenciación de las células madre a las diferentes subpoblaciones de la línea roja y la línea blanca que actúan en la respuesta inmune.
- **Interferones (IFN):** grupo de citoquinas que la producen casi todas las células del organismo como respuesta a una infección viral, bacteriana y por estímulo celular causado por la IL-1, IL-2, factor estimulante de colonias y Factor de Necrosis Tumoral. Están clasificadas en IFN tipo I al que pertenecen el IFN α y el IFN β ; IFN Tipo II ó IFN γ ; IFN Tipo III la IL-28 e IL-29.

- **Factor de Necrosis Tumoral (TNF):** denominada también caectina, pertenece a un grupo conformado por varias citoquinas que se produce ante el estímulo de endotoxinas bacterianas, virales y de protozoos y tiene efecto antitumoral. A este grupo pertenece la linfoxina que participa en la organogénesis.

Tabla 2.16. *Citoquinas (interleuquinas, FNT, IFN, CSF): células que la producen, células blanco y efectos principales que ejercen función en la respuesta inmune*

Citoquina	Fuente	Célula blanco	Efectos principales
IL 1 β	Macrófago, fibroblasto, linfocitos	Linfocitos T y B, macrófagos, endotelio	Coestimulación de linfocitos, activación de fagocitos, aumento de moléculas de adhesión endoteliales, aumento de síntesis de prostaglandinas, activa síntesis de Acs por el linfocito B y producción de IL 2 por el linfocito T, producción de proteínas de fase aguda, inductor de fiebre, aumenta producción de defensas
IL 1 α	Células endoteliales, astrocitos	Hígado hipotálamo	
IL 2	Linfocitos T, NK, NKT, mastocito, CDs	Linfocitos T, NK, linfocitos B	Crecimiento y activación de linfocitos T y B, activación y división de NK, Transformación de monocito a macrófago, maduración, activación y supervivencia de los LTreg
IL 3	Células de epitelio tímico, linfocitos Th2, NK, mastocitos	Stem Cells	Factor hematopoyético multilinjaje
IL 4	Linfocitos Th2, células del estroma de la médula ósea	Linfocitos T y B, macrófagos	Activación y división de linfocitos B, promotor de cambio de <i>switch</i> para producción de IgG1 e IgE y activación de linfocitos Th2, regula linfocitos Th1
IL5	Linfocitos Th2, mastocitos, macrófagos	Eosinófilos Linfocitos T y B	Maduración de eosinófilos, desarrollo y diferenciación de linfocitos T CD8+, síntesis de IgM e IgA
IL 6	Macrófagos, células endoteliales y linfocitos Th2, fibroblastos y CDs	Linfocitos Th1, B y hepatocitos	Crecimiento de linfocitos, diferenciación de linfocitos B, síntesis de proteínas de fase aguda en la inflamación, inductor de fiebre, transformación de LB a célula plasmática

IL 7	Células del estroma de la médula ósea	Linfocitos pre-B y pre-T, megacariocito	División y maduración de linfocitos T y B
IL 8 (CXCL8)	Monocitos, M ϕ , fibroblastos y células Endoteliales	Neutrófilos, monocitos y linfocitos T	Activación celular y quimiotaxis, promueve la inflamación, la angiogénesis y la expresión de integrinas
IL 9	Subpoblaciones de linfocitos T CD4+: LT reg, LTh2, LTh9, LTh17	Linfocito Th, megacariocito, L By mastocitos	División celular y promotor de desarrollo. Junto con la IL-4 promueve la producción de IgM, IgG1 e IgE
IL 10	Linfocitos Th2, LTreg, CDs, M ϕ	Linfocitos Th1, M ϕ , LTh2, CDs	Inhibidor en la síntesis de citoquinas, en la expresión de HLA Clase II, efecto antiinflamatorio.
IL 11	Células del estroma de médula ósea, fibroblastos	Stem Cell, células plasmáticas, hepatocito, megacariocito	Maduración de plaquetas, división y proliferación celular, síntesis de proteínas de fase aguda.
IL 12	Linfocitos B, M ϕ , CDs	Linfocito Th0, NK, LTc, LT $\gamma\delta$	Diferenciación y activación de linfocitos celular, induce la producción de IFN γ
IL 13	Linfocitos Th2, NKT, mastocito	Linfocitos B, monocito, M ϕ , fibroblasto y endotelio vascular	Diferenciación y división celular, proinflamatoria, síntesis de anticuerpos IgG1 IgE, producción de citoquinas HLA y moléculas de adhesión
IL 14	Linfocitos T	Linfocitos B	Proliferación celular, inhibición en la síntesis de anticuerpos
IL 15	Monocitos, M ϕ , NK, CDs, fibroblastos, LT	Linfocitos T, NK, NKT, LT $\gamma\delta$, LTc y B	División celular para LT, LB, NKT y NK, induce memoria en LTc
IL 16	Linfocitos T, eosinófilos, monocitos, CDs, mastocitos	Linfocitos CD4+	Quimiotaxis sobre LTCD4+, eosinófilos y M ϕ , proinflamatoria
IL 17	Linfocitos Th17, NKT, PMN, M ϕ	PMN, mucosas, células epiteliales, endoteliales y estroma	Proinflamatoria, induce producción de péptidos antimicrobianos y citoquinas proinflamatorias
IL 18	Macrófagos, queratinocitos, células de Kuppfer y Endoteliales	Células sanguíneas mononucleares (M ϕ , NK, LT)	Induce la producción de IFN γ y activación de NK, activa inmunidad innata

IL 19	Linfocitos B monocitos, Mφ, queratinocitos, células Epiteliales	Macrófagos, LTh	Induce producción de IL-6 y FNT-α, diferenciación de queratinocitos
IL 20	Monocitos	Queratinocitos	Síntesis de queratina
IL 21	Linfocitos Th1, LTh17 y mastocitos	Linfocitos T, B y NK	Coestimulación de linfocitos T, B y proliferación y maduración de NK, LTCD8, LB y CDs
IL 22	Linfocito Th22, TH17, Th1, LB, NK, monocito	Hígado, mucosas, piel	Producción de proteínas de fase aguda y péptidos antimicrobianos
IL 23	Células dendríticas (CDs), Mφ, LTh17	Linfocitos T Memoria y células dendríticas	Diferenciación de linfocitos Th17, actúa en la presentación de antígeno, en la memoria de LT e induce producción de IFN-γ
IL 24	Monocitos, LTh2	Células tumorales, fibroblastos	Inhibe el crecimiento de células tumorales, favorece la cicatrización de heridas e induce la producción de IL-1, IL-6 y FNT
IL 25	Linfocitos Th2, Mφ, mastocitos	Epitelio de mucosas, LB, eosinófilos, LTh2	Eosinofilia en mucosas, induce producción de citoquinas TH2, producción de IgE
IL 26	Linfocitos Th17, monocitos, NK	Células epiteliales	Induce la secreción de ICAM-1, IL-8, IL-10
IL 27	Células presentadoras de antígeno, CDs	Linfocitos T, B, células hematopoyéticas Stem Cell	Regulación de la inflamación y diferenciación de Th1 y de LT vírgenes, estimula la producción de IL-10
IL 28 /IL 29	Células Treg, CDs inmaduras, monocitos	Queratinocitos, melanocitos	Inductor de estado antiviral y antitumoral, se consideran como IFN tipo III
IL 30	Monocitos, Mφ, CDs	LT reg, LTh1	Subunidad de IL-27
IL 31	Linfocitos Th2, Mastocitos	Células epiteliales, queratinocitos, monocitos, eosinófilos	Proinflamatorias en alergias
IL 32	Monocitos, Mφ, NK, LT	Fagocitos mononucleares, NK	Induce producción de FNT, IL-8, CXCL2, promueve diferenciación
IL 33	Células endoteliales y epiteliales	Linfocitos T, mastocitos y basófilos	Induce la producción de citoquinas Th2

IL 34	Células de bazo, monocitos, osteoclastos	Monocitos	Diferenciación, proliferación y supervivencia
IL 35	Linfocitos Treg	Linfocitos Th17	Supresión de linfocitos Th17, proliferación de linfocitos Treg
IL36	Fagocitos, CDs, linfocitos, queratinocitos	Linfocitos Th1,Th17 y NK	Regula la expresión de CMH e ICAM-1 e induce producción de citoquinas proinflamatorias
IL 37	Fagocitos y células epiteliales	Fagocitos monoculares	Regula respuesta inmune innata, induce la producción de citoquinas proinflamatorias
IL 38	Linfocito T y B, células tisulares	Linfocitos T	Inhibe IL-17 , IL-22, IL 36
IL 39	Linfocitos B	Neutrófilos	Promotores de diferenciación
IL 40	Células activadas de estroma de médula ósea y linfocitos B	Precursores de linfocitos B	Promotores de la respuesta de anticuerpos
IL 41	Células tisulares adiposas, piel, intestino y epiteliorespiratorio, M ϕ	Adipocitos, Th1,Th2, Th17	Antiinflamatoria, regula la función de los adipocitos
FNT (caquectin a)	M ϕ , NK , LT , mastocito, fibroblasto	CDs, LT, LB, M ϕ células tumorales, PMN, células epiteliales, hepatocitos	Migración y maduración de CDs, producción de quimioquinas, induce apoptosis de células tumorales, induce expresión HLA I y II, expresión de moléculas de adhesión, activa PMN, activa en hipotálamo para inducir fiebre, en hígado síntesis de proteínas de fase aguda, choque séptico
Linfotoxina	NK, M ϕ , LT, mastocito	M ϕ , células epiteliales	Organogénesis, estructura de bazo, expresión de moléculas de adhesión, IgA secretora
IFN tipo I (IFN α y β)	Todas las células	NK, todas las células, LB, hipotálamo, LTc, células tumorales	Antiviral, síntesis de proteínas antivirales, induce fiebre, acción antitumoral, aumento en la síntesis de HLA Clase I
IFN tipo II (IFN γ)	NK, LT $\gamma\delta$, LT CD8, M ϕ ,LTh1	LTh2, LTh17, PMN, fibroblastos, LB, Hipotálamo, M ϕ	Activador de M ϕ en la fagocitosis, muerte y presentación de antígenos, induce síntesis de HLA Clase I y II, inhibe Th2, Th17, LB

IFN tipo III (IFN λ)	Células T reg, CD8 inmaduras, monocitos	Queratinocitos, melanocitos	Inductor de estado antiviral y antitumoral
FGF β - 1 (Factor transformador del crecimiento)	LTreg, células epiteliales, fibroblastos células musculares	LT, LB, CD8, eosinófilos, M ϕ , LB	Es una citoquina inmunorreguladora para las células blanco e interviene en la síntesis de IgA

Nota. Abreviaturas: IL interleuquina; FNT Factor de Necrosis Tumoral; IFN interferón; CD8 células dendríticas; M ϕ , macrófago; NK Natural Killer; LTh linfocito T helper; LTc linfocito T citotóxico; PMN polimorfonuclear neutrófilo. Modificada de Male, 2021; Rojas, 2017; Habanjar, 2023 y Gong, 2022.

Los **Factores Estimuladores de Colonias (FSC)** como el Factor Estimulador de Colonia granulocítico (G-CSF), el Factor Estimulador de Colonia granulocito monocito (GM-CSF), Factor Estimulador de Colonia monocítico (M-CSF) y la eritropoyetina, son llamados también factores de crecimiento hematopoyético que intervienen en la producción y maduración en médula ósea de eritrocitos, leucocitos y plaquetas circulantes (ver médula ósea en el Capítulo 1).

Las **quimioquinas** o citoquinas quimiotácticas, son proteínas de bajo peso molecular, que facilitan la migración y ubicación de las células del sistema inmune en el sitio afectado, inflamado o infectado, además participan en la vigilancia de la respuesta inmunitaria y la producción de la memoria por parte de los linfocitos T y B, en la embriogénesis, angiogénesis y organogénesis.

Las quimioquinas se clasifican en constitutivas u homeostáticas con la función regular del tráfico normal de las células; y en inducibles o inflamatorias las cuales se generan en procesos inflamatorios para acelerar y facilitar el flujo de los leucocitos requeridos en el lugar de la agresión.

Existen varios tipos de quimiocinas: las quimiocinas CC tienen dos residuos de cisteína que se encuentran juntos y de las cuales se conocen 28 tipos; las quimiocinas CXC que tienen un aminoácido entre dos cisteínas y se reconocen 17 subtipos; las quimiocinas XC con 2 subtipos y las quimiocinas CX3C con cuatro subtipos.

2.9. INFLAMACIÓN

La inflamación es uno de los procesos de la respuesta inmune innata más requerido en la defensa del huésped contra ciertas lesiones físicas, químicas, infecciones microbianas o enfermedades autoinmunes. El proceso está compuesto por una serie de mecanismos en cadena que, de manera organizada y dinámica,

incluye eventos celulares, moleculares, vasculares y de secreción humoral. La inflamación implica cambios físicos, ubicación de leucocitos (PMN, M ϕ , monocitos, linfocitos, eosinófilos, mastocitos y basófilos), plasma y líquidos en el sitio inflamado. Se producen mediadores y moléculas de señalización (histamina, prostaglandinas, leucotrienos, derivados del oxígeno y nitrógeno, serotonina y radicales libres, entre otros) que dan como resultado la vasodilatación, el enrojecimiento, el edema, mecanismos que dan una alerta al organismo sobre la afectación en el tejido y facilita la migración de células y proteínas que van a iniciar la respuesta inmune contra el agente agresor.

La inflamación es un proceso que hace parte de la inmunidad innata y comunica a la adaptativa para realizar una respuesta inmune eficaz y eficiente contra el agente agresor. La respuesta inflamatoria tiene dos fases, una aguda y una crónica, y dos componentes, uno local y otro sistémico.

La inflamación aguda se divide en vascular y celular. La respuesta vascular se inicia rápidamente una vez que sucede la lesión o infección que estimula la producción de estímulos inflamatorios para la vasodilatación, los vasos se hacen más permeables y se produce edema intersticial. La respuesta celular sucede gracias al estímulo de agentes quimiotácticos como las endotoxinas bacterianas, el fragmento C5a del sistema del complemento, interleuquinas como la IL-8, proteínas producidas por el basófilo como la histamina y leucotrienos, moléculas que producen la infiltración de leucocitos en pocos minutos, siendo los PMN los primeros que llegan al sitio de la inflamación aguda. El tráfico de estos leucocitos es realizado mediante la acción de moléculas de adhesión celular como los ICAM-1 y 2, integrinas, selectina P y E.

La inflamación crónica se caracteriza por la infiltración de células mononucleares (monocitos, linfocitos), proliferación de fibroblastos, fibras de colágeno y formación de tejido conectivo, dando como resultado la formación de granulomas que dañan el tejido circundante, mediado por la acción de proteasas y especies reactivas de oxígeno producidas por las células inflamatorias.

En el componente local de la inflamación, participan células como los mastocitos, los PMN y el endotelio vascular, los cuales liberan mediadores que producen edema, calor, rubor y dolor. En el componente sistémico de la inflamación, actúan el sistema de complemento, las kininas y la coagulación, generando metabolitos del ácido araquidónico y citoquinas que inducen vasodilatación e incremento de la permeabilidad capilar para facilitar el ingreso de células, proteínas y líquido al sitio afectado, además, se produce fiebre, leucocitosis y proteínas de fase aguda de la inflamación producidas por el hígado. La inflamación se produce en varias etapas:

Iniciación: en esta hay liberación de moléculas sintetizadas por PMN, M ϕ y mastocitos como las citoquinas y mediadores como la histamina, que

activan el endotelio para expresar moléculas de adhesión celular y sintetizar quimioquinas para la migración de los PMN hacia el tejido afectado, además, hay incremento de la permeabilidad y paso de proteínas al tejido como son los anticuerpos y las proteínas del sistema de complemento. En esta fase participan la activación de los receptores TLR en las células de la inmunidad innata para producir citoquinas proinflamatorias.

Consolidación: los M ϕ y los linfocitos sintetizan citoquinas las cuales reafirman el proceso de vasodilatación con el fin de permitir el ingreso de células y proteínas del sistema inmune al foco inflamatorio.

Resolución: como las demás respuestas inmunitarias, la inflamación requiere de un proceso de regulación tendiente a finalizar o equilibrar el proceso. Si el antígeno es eliminado, la resolución inicia con la apoptosis de las células que participaron en la respuesta contra el agente y la interacción entre M ϕ y fibroblastos para reparar los daños producidos en el tejido. Si el patógeno no es eliminado o hay fallas en los mecanismos homeostáticos, se produce una inflamación crónica, estimulación de los fibroblastos y se incrementa la producción de colágeno local para dar como resultado una fibrosis.

2.9.1. CÉLULAS EN LA INFLAMACIÓN

Mastocito: aunque todas las células están en capacidad de liberar mediadores de la inflamación, la fuente principal de los mismos es producida por los mastocitos. Esta célula mononuclear es producida en la médula ósea, sale a circulación y se ubica alrededor de los vasos sanguíneos, canales linfáticos de las mucosas y piel, en la glándula mamaria, lengua, peritoneo, próstata y pulmón. Al presentarse procesos alérgicos y parasitarios hay mayor división celular del mastocito. Tiene receptores de membrana que reconocen los PAMPs de los patógenos como son los TLR y lectinas que permiten el reconocimiento de lipopolisacáridos producidos por bacterias Gram Negativas, receptores para anticuerpos tipo IgG, IgM, IgE, receptores para moléculas de complemento y neuropéptidos. Cuando estos receptores reconocen su ligando, el mastocito degranula liberando histamina, heparina, eicosanoides, enzimas proteolíticas, factor quimiotáctico de eosinófilo, factor quimiotáctico de neutrófilo y factor activador de plaquetas; se producen reacciones bioquímicas donde la fosfolipasa actúa sobre los fosfolípidos de la membrana y produce ácido araquidónico, aumento de iones calcio en el citoplasma que facilita el movimiento de los gránulos a la membrana celular para su posterior degranulación. Además, es productora de quimioquinas y citoquinas como la IL-1, IL-2, IL-8, IFN γ , IL-4 y factores estimuladores de crecimiento de fibroblastos.

Macrófago: el macrófago ($M\phi$) como célula que participa en la inflamación, además de su función fagocítica y de presentación de antígeno, libera moléculas como la IL-1, que actúa sobre el sistema termorregulador del organismo generando fiebre, induciendo la producción de prostaglandina E en células endoteliales que revisten los vasos sanguíneos del hipotálamo; sobre el hígado estimula la síntesis de proteínas de fase aguda; activa a los fibroblastos y la producción de colágeno para la reparación de tejido después del proceso inflamatorio.

Los $M\phi$ M1 se originan durante la respuesta inflamatoria por la estimulación de IFN- γ , TNF α o por el reconocimiento de lipopolisacáridos y se caracterizan por la producción de citoquinas y mediadores proinflamatorios, mientras que los M2 se activan mediante mediadores antiinflamatorios como la IL-10, IL-4 e IL-13, promueve la remoción de la matriz, la reparación del tejido afectado y regula la respuesta inmune.

Basófilo: durante una respuesta inmune innata, los basófilos son atraídos hacia el tejido infectado y en su membrana tiene receptores toll (TLR 2 y 4), receptores para quimioquinas (CCR2, CCR3), receptores para la porción Fc de la IgG y la IgE y receptores para proteínas del complemento. Contiene en su citoplasma dos tipos de gránulos. Los gránulos primarios contienen lisosomas e hidrolasas ácidas y los secundarios contienen histamina y heparán sulfato, que actúan como vasodilatadores, la heparina tiene función anticoagulante y los leucotrienos que permiten la contracción del músculo liso.

El proceso de degranulación inicia cuando la IgE que está unida al antígeno, se fija en la membrana del basófilo en el receptor Fc ϵ e igualmente puede activarse este proceso con las anafilotoxinas del sistema de complemento (C3a, C4a y C5a) unidas a su receptor de membrana e incluso algunos fármacos. Una vez se da la unión del estímulo con su receptor, a nivel intracelular se activa la tirosin kinasa (PTK) para iniciar una cascada de reacciones bioquímicas de fosforilación y metilación que permite el ingreso de iones Ca^{++} que conduce a la formación de ácido araquidónico que da origen a las prostaglandinas y leucotrienos para que en la degranulación igualmente se libere histamina y heparina, mediadores importantes para la inflamación.

Eosinófilo: la activación de los eosinófilos por causas externas produce por etapas la liberación de moléculas tóxicas y mediadores de la inflamación. Estos mediadores están implicados en la aparición y progresión de la inflamación, especialmente del tracto respiratorio. Los eosinófilos activos producen IL-4, IL-13, IL-5, el receptor para la quimioquina CCL5, FSC-GM, citoquinas que son proinflamatorias, promueven la migración leucocitaria y la diferenciación de fagocitos importantes en la inflamación; producen además leucotrienos C4, D4 y E4, causantes de la contracción del músculo liso, el incremento de la permeabilidad vascular y la secreción de moco; además, regulan CDs y

linfocitos Th2. Cuando los eosinófilos degranulan, liberan proteínas como la peroxidasa del eosinófilo, proteínas catiónicas de eosinófilos y neurotoxina que contribuyen a la inflamación especialmente en el asma. El eosinófilo produce también factor inhibidor de la migración de macrófagos (FIM) que activa los signos clínicos de la inflamación respiratoria como son la secreción de moco, la hiperreactividad respiratoria y la inflamación eosinofílica. Se ha observado que el FIM interviene en diversos aspectos fisiológicos del eosinófilo como la diferenciación, la supervivencia, migración, activación en procesos alérgicos y en respuesta a infecciones por helmintos.

Plaquetas: liberan numerosos mediadores inflamatorios que no tienen un papel conocido en la hemostasia. Muchos de estos mediadores modifican las respuestas leucocitarias y endoteliales a una variedad de estímulos inflamatorios diferentes. Además, las plaquetas forman agregados con los leucocitos y forman puentes entre los leucocitos y el endotelio, mediados sobre todo por la P-selectina plaquetaria. A través de sus interacciones con monocitos, neutrófilos, linfocitos y el endotelio, las plaquetas son, por tanto, importantes coordinadores de la inflamación y de las respuestas inmunitarias tanto innatas como adaptativas. Producen citoquinas como el TGF β factor regulador de la respuesta inmune, interactúa con PMN y CDs para estimular la síntesis de citoquinas proinflamatorias.

Las plaquetas, al ser activadas por el Factor Activador de Plaquetas (PAF) producido por M ϕ , eosinófilos y PMN, participan activamente en la inflamación. El PAF es más potente que la histamina, produce vasodilatación, edema, contracción del músculo liso, es quimiotáctico para los PMN, hace que el PMN libere lisozimas y eicosanoides.

Linfocitos: la clasificación de las subpoblaciones depende del tipo de antígeno que está estimulando la respuesta inmune. Los linfocito Th CD4+ actúan directamente contra antígenos exógenos, los linfocitos Tc CD8+ contra antígenos endógenos. Los linfocitos Th CD4+ efectores pueden clasificarse en diferentes linajes de acuerdo con el perfil de citoquinas que ellas producen (LTh1, LTh2, LTh17, LTh9), siendo los LTh1 y LTh17 y sus citoquinas, los que están involucrados en trastornos autoinmunitarios e inflamatorios crónicos. La plasticidad que tienen los LTh17, en condiciones inflamatorias les permiten desplazarse hacia un fenotipo LTh1 o LTh2, adquiriendo la capacidad de sintetizar IFN- γ o IL-4.

Polimorfonuclear Neutrófilo (PMN): como respuesta inmune hacia un patógeno sucede el reclutamiento de PMN de la circulación al tejido afectado. La acumulación de PMN en el tejido se ha considerado como una característica patognomónica de los procesos inflamatorios tanto agudos como crónicos.

Anteriormente solo se consideraba el acúmulo de PMN en el tejido como un factor que incrementaba el daño tisular, sin embargo, trabajos

recientes han modificado estos conceptos dándole al PMN un rol central en el desencadenamiento de la resolución inflamatoria, mecanismos que se basan en la comunicación entre los PMN y otras células como los M ϕ y los linfocitos T.

Fibroblastos: una vez el patógeno es eliminado, la fase de resolución del procesos de inflamación se inicia con la reparación de los tejidos por parte de los fagocitos y se activan los fibroblastos para dar inicio a la cicatrización del tejido y la síntesis de colágeno. Además, participa en la síntesis de citoquinas como la IL-6, IL-8, IL-11 e IFN γ .

2.9.2. MEDIADORES ACTIVADORES DE LA INFLAMACIÓN

2.9.2.1. MEDIADORES PRIMARIOS

Son moléculas producidas por células del sistema inmune y otras por activación enzimática. Los mediadores primarios se encuentran presintetizados y son secretados rápidamente cuando se inicia el proceso inflamatorio. Dentro de estos se encuentran:

- **Enzimas proteolíticas:** enzimas como la elastasa y la colagenasa se encuentran en los gránulos azurófilos del PMN; la elastasa tiene como función eliminar los productos de degradación tisular en el sitio de la inflamación y la colagenasa actúa degradando el colágeno en el tejido conectivo.
- **Factor Activador de Plaquetas (PAF):** es un potente mediador químico activador de la primera fase de la inflamación, favorece el flujo, agregación y activación de las plaquetas hacia el tejido lesionado, permite la degranulación de los mastocitos que facilita la amplificación de la inflamación y posteriormente se liberan mediadores como la histamina, bradiquinina y leucotrienos, favorece el flujo y activación de basófilos, eosinófilos y PMN para la liberación de radicales libres y leucotrienos.
- **Quimioquinas:** son proteínas de bajo peso molecular ligadas a la heparina, producidas por células endoteliales activadas y con daño tisular, su función es inducir movimiento de leucocitos a las áreas donde hay lesión e inflamación, favorece la activación de la respuesta inmune adaptativa y contribuye a la patogénesis de algunas enfermedades.
- **Histamina:** molécula de bajo peso molecular, de rápida acción en la inflamación, funciona como neurotransmisor, activa la síntesis de hormonas pituitarias, participa en la regulación gastrointestinal y en reacciones de hipersensibilidad. Se encuentra principalmente en los gránulos de los mastocitos, basófilos y en células como los linfocitos

y neuronas. La histamina es secretada en unión con la heparina, unión que se disocia una vez es secretada por el mastocito o el basófilo. Produce vasodilatación, aumenta la permeabilidad vascular, induce la broncoconstricción en episodios asmáticos, aumenta el peristaltismo intestinal, produce extravasación de líquido y proteínas plasmáticas que forman el edema. Su función la ejerce al unirse a los receptores H1, H2, H3 y H4 que expresan células como CD, monocitos, LT, LB, células de la mucosa gástrica, células del sistema nervioso central y eosinófilos.

- **Heparina:** pertenece a los polímeros de heparán sulfato dentro de los proteoglicanos cuya función principal es anticoagulante y también ejerce efectos antiinflamatorios ya que disminuye la adhesión y la migración leucocitaria al bloquear la expresión de las selectinas L y P. Se almacena especialmente en los gránulos de los mastocitos.
- **Eotaxina:** es una quimioquina que tiene como función atraer los eosinófilos al tejido afectado, regular el tráfico de los eosinófilos en estado basal, promover la eosinofilo-poyésis y permitir la movilización de los progenitores de eosinófilos en la médula ósea para salir como eosinófilo maduro a circulación periférica. Se clasifican en eotaxina-1 (CCL-11), eotaxina-2 (CCL-24) y eotaxina 3 (CCL-26) que se unen al receptor CCR3 de la membrana del eosinófilo.
- **Eicosanoides:** moléculas importantes en la inflamación, originadas de la oxidación de lípidos membranales por acción de enzimas como la fosfolipasa que genera ácido araquidónico y a partir de este, por la vía ciclooxigenasa, se producen las prostaglandinas. Los leucotrienos se producen a partir de la 5-lipooxigenasa y a partir de la 15-lipooxigenasa se producen las lipoxinas, resolvinas y protectinas.
- **Proteínas del complemento:** las anafilotoxinas (C4a, C3a, C2b, C5a) producidas por la activación de las proteínas del complemento actúan como kininas, quimioattractantes e incrementan la permeabilidad vascular y son proinflamatorias (ver Sistema de complemento).

2.9.2.2. MEDIADORES SECUNDARIOS

Los mediadores secundarios se denominan así porque son producidos por células del sistema inmune y se generan cuando ya se ha iniciado el proceso inflamatorio, es decir se producen de nuevo. Dentro de los mediadores secundarios de origen celular se encuentran:

- **Leucotrienos:** moléculas derivadas del ácido araquidónico que por medio de la oxidación que ejerce la enzima 5-lipooxigenasa se transforma en

hidroperoxieicosatetraenoico (HPETE) el cual se reduce espontáneamente a 5-hidroxeicosatetraenoico (HETE) y se transforma en cuatro tipos de leucotrienos (LTA4, LTB4, LTC4, LTD4, LTE4). Funciones biológicas: potentes mediadores de la inflamación, causan constricción del músculo liso especialmente en tejido pulmonar, están presentes en procesos de inflamación crónica ya que incrementan la permeabilidad vascular favoreciendo la producción de edema en el tejido afectado.

- **Prostaglandina E2:** es una de las potentes activadoras del proceso inflamatorio, produce además vasodilatación, fiebre, dolor, incrementa la permeabilidad vascular aunado con el LTB4 y la anafilotoxina C5a
- **Eicosanoides:** moléculas lipídicas que tienen como función regular a nivel intracelular, mediadores del sistema nervioso central, activa la inflamación, participa en la respuesta inmune y en la transmisión de dolor. Su mayor representante es la prostaglandina.
- **Proteínas de fase aguda:** son mediadores producidos por el hígado que se incrementan en las fases iniciales del proceso inflamatorio, actúa como opsonina favoreciendo la activación del sistema de complemento y la fagocitosis. Entre estas proteínas está la proteína C Reactiva, la proteína A sérica del amiloide, la lectina ligadora de manosa y el fibrinógeno.
- **Citoquinas IL-2, IL-5, IL-6, IL-17, IL-23 IFN γ , FNT:** son mediadores proinflamatorios producidos por linfocitos, macrófagos y otro tipo de células. (Ver Citoquinas).

2.9.3. REGULACIÓN DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA

Como en toda respuesta inmune, se requiere inhibir la inflamación una vez se elimine el agente agresor con el fin de evitar una respuesta exagerada o perjudicial. Algunas moléculas activadoras de la inflamación, cuando su concentración disminuye o se unen a otro tipo de receptores, tiene efecto inhibitorio, logrando un equilibrio en la respuesta inmune. Es el caso de la histamina, que cuando se une a receptores tipo H2 encontrados en la membrana de basófilos y mastocitos, produce una disminución en la síntesis de mediadores proinflamatorios, inhibe la acción de los PMN, inhibe la quimiotaxis y activa los linfocitos T reguladores; la PGE inhibe la síntesis de mediadores proinflamatorios por parte del mastocito y el basófilo e inhibe la proliferación y diferenciación de los linfocitos T como agonistas autónomos, el mastocito y el basófilo expresa receptores α -adrenérgicos que inician la regulación de estas células; la heparina inhibe la coagulación y la activación de moléculas del sistema de complemento; el eosinófilo libera enzimas que degradan mediadores proinflamatorios como la

histaminasa que degrada la histamina, la aril-sulfatasa actúa sobre los leucotrienos y la fosfolipasa actúa sobre el factor activador de las plaquetas; la lactoferrina es antiinflamatoria ya que inhibe citoquinas proinflamatorias como la IL-1, la IL-6 y el FNT, además, reduce la producción de prostaglandina E y la actividad del sistema de complemento.

REFERENCIAS

- ABBAS, A., LICHTMAN, A. y POBER, J. (2018). *Inmunología celular y molecular*. Editorial Elsevier. ISBN 84-8174-710-6.
- AMAYA, E. y NAVARRETE, J. (2006). Del alotransplante al xenotransplante: la compatibilidad antigénica donante-receptor por medio del Complejo Mayor de Histocompatibilidad CMH. *Nova*, 4(6). Doi: 10.22490/24629448.364.
- BALAN, S., SAXENA M. and BHARDWAJ, N. (2019). Dendritic cell subsets and locations. *Int Rev Cell Mol Biol*, (348), 1-68. Doi: 10.1016/bs.ircmb.2019.07.004.
- BOZAL, P. (2020). *El uso de proteínas en investigación: el caso de las cadherinas*. [Trabajo de grado Facultad de Ciencias] Universidad de Zaragoza.
- BOZZA, M., LINTOMEN, L., KITOKO, J., PAIVA, C. and OLSEN, P. (2020). The role of MIF on eosinophil biology and eosinophil inflammation. *Clin Rev Allergy Immunol*, 58,15-24. Doi: 10.1007/s12016-019-08726-z.
- BROWN, GC. (2024). Cell death by phagocytosis. *Nat Rev Immunol*, 24(2), 91-102. Doi: 10.1038/s41577-023-00921-6.
- CIZ, M., DENEV, P., KRATCHANOVA, M., VASICEK, O., AMBROZOVA, G. and LOJEK, A. (2012). Flavonoids inhibit the respiratory burst of neutrophils in mammals. *Oxi Med Cell Longev*, (9),181295. Doi:10.1155/2012/181295.
- COLGAN, S., EHRENTAUT, S., GLOVER, L., KOMINSKY, D. and CAMPBELL, E. (2013). Contributions of neutrophils to resolution of mucosal inflammation. *Immunol Res*, 55(1-3), 75-82. Doi: 10.1007/s12026-012-8350-2.
- CONDE, P. (2019). *Macrófagos en tolerancia inmunológica*. [Tesis doctoral, Facultad de Medicina, Departamento de Microbiología]. Universidad Complutense de Madrid.
- COSMI, L., MAGGI, L., SANTARLASCI, V., LIOTTA, F., ANNUNZIATO, F. (2014). T helper cells plasticity in inflammation. *Cytometry A*. 85(1):36-42. Doi: 10.1002/cyto.a.22348.
- DI LORENZO, A., BOLLI, E., TARONE, L., CAVALLO, F. and CONTI, L. (2020).

- Toll-Like Receptor 2 at the Crossroad between Cancer Cells, the Immune System, and the Microbiota. *Int. J. Mol. Sci.* 21(24),9418.
- DU, X., ZHANG, CH., HUANG, H., SHAO, Z., ZHANG, M., ZHAN, X, HE, Y., JU, Z., LI, W., CHEN, Z., YING, S. and SHEN, H. (2021). Eosinophil-derived chemokine (hCCL15/23, mCCL6) interacts with CCR1 to promote eosinophilic airway inflammation. *Signal Transduct Target Ther*, 6(1), 91. Doi:10.1038/s41392-021- 00482-x.
- DUAN, T., Du, Y., XING, C., WANG, HY. and WANG, R. (2022). Toll-Like Receptor Signaling and Its Role in Cell-Mediated Immunity. *Front Immunol.* 3(13), 12774. Doi: 10.3389/fimmu.2022.812774.
- FRACHET, P., Tacnet-Delorme, P., GABORIAUD, C. and THIELENS, NM. (2015). Role of C1q in Efferocytosis and Self-Tolerance-Links With Autoimmunity [Internet].: <http://dx.doi.org/10.5772/60519>.
- GARRED, P., GENSTER, N., PILELY, K., BAYARRI-OLMOS, R., ROSBJERD, A., Jie, M. and Skjoedt, M. (2016). A journey through the lectin pathway of complement-MBL and beyond. *Immunol Rev*, 274(1), 74-97. Doi: 10.1111/imr.12468.
- GOLDSBY, R., KINDT, T., OSBORNE, B. and KUBY, J. (2004). *Inmunología*. McGraw Hill Interamericana. ISBN 970-10-4710-9.
- GONG, L., HUANG, G., WENG, L., Xu, J., Li, Y., Cui, W. and LI, M. (2022), Decreased serum interleukin-41/Metrnl levels in patients with Graves' disease. *J Clin Lab Anal*, 36(10), e24676. Doi: 10.1002/jcla.24676.
- HABANJAR, O., BINGULA, R., DECOMBAT, C., DIAB-ASSAF, M., CALDEFLIE, F. and DELORT, L. (2023) Crosstalk of inflammatory cytokines within the breast tumor microenvironment. *Int J Mol Sci.* 24(4), 4002. Doi: 10.3390/ijms24044002.
- HEIN, M., KVANSAKUL, M., LAY, F., PHAN, T. and HULETT, M. (2022). Defensin-lipid interactions in membrane targeting: mechanisms of action and opportunities for the development of antimicrobial and anticancer therapeutics. *Biochem Soc Trans*, 50(1), 423-437. Doi:10.1042/BST20200884.
- HERNÁNDEZ, J., MONTROYA, C. y URCUQUI-INCHIMA, S. (2007). Papel de los receptores tipo *toll* en las infecciones virales: el VIH-1 como modelo. *Bio-médica*, 27(2), 34-45.
- Ji J. and FAN, J. (2021). Neitrophil in reverse migration: role in sepsis. *Front Immunol*, 12, 656039. Doi: 10.3389/fimmu.2021.656039.
- KATOVICH, C. (2021). Naming HLA diversity: a review of HLA nomenclature. *Hum Immunol.* 82(7):457-465. Doi:10.1016/j.humimm.2020.03.005.

- KATSUNO, H. and Yap A. (2020). Endocytosis, cadherins and tissue dynamics. *Traffic*, 21(3), 268-273. Doi: 10.1111/tra.12721.
- Kavanaugh, J., Leidal, K., Nauseef, W. and Horswill, A. (2020). Cathepsin G degrades *Staphylococcus aureus* biofilms. *J Infect Dis*, 223(11),1865-1869. Doi 10.1093/infdis/jiaa612.
- KELL, D., LOGAN, J., ANDERSEN, I., GUTIERREZ, D., BELL, S., Wainwright, C., Sly, P. and Fantino, E. (2022). Neutrophil respiratory burst activity is not exaggerated in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*, 21(4), 707-712. Doi 10.1016/j.jcf.2021.12.015.
- LAWRENCE, G., FOTI, A., MARSMAN, G., FERISE, P., ZYCHLINSKY, A. (2021).The Neutrophil. *Immunity*. 54(7):1377-1391. doi: 10.1016/j.immuni.2021.06.006.
- LING, M. and MURALI, M. (2019). Analysis of the Complement System in the Clinical Immunology Laboratory. *Clin Lab Med*, 39(4), 579-590. Doi: 10.1016/j.cll.2019.07.006.
- MACÍAS, C. (2006). Moléculas de adhesión. Importancia en la respuesta inmune e inflamatoria. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*, 22(2), 78-98.
- MALE, D. (2021). *Immunology an Illustrates Outline* (6a. ed). CRC Press Taylor and Francis Group. ISBN 978-1-003-13765.
- MANTOVANI, A. and GARLANDA, C. (2023). Humoral Innate Immunity and Acute-Phase Proteins. *N Engl J Med.*, 388(5), 439-452. Doi: 10.1056/NEJMra2206346.
- MERLE, N., CHURCH, S., FREMEAUX, V. and ROUMENINA, L. (2015).Complement system part I- molecular mechanisms of activation and regulation. *Front Immunol*. 6, 262. Doi:20.3389/fimmu.2015.00262.
- MIGLIORANZA,B., van DRONGELEN, V. and HOLOSHITZ, J. (2022). The Lupus susceptibility allele DRB1*03:01 encodes a disease-driving epitope. *Comm Bio*, 5, 751. Doi 10.1038/s42003-022-03717-x.
- Murphy, K. and Weaver, C. (2019). *Inmunología de Janeway*. Manual Moderno. ISBN 978-607-448-767-1.
- NALMPANTIS, D., GATOU, A., FRAGKILOUDAKIS, I., MARGARITI, A., SKOURA, L. and SAKELLARI, D.J. (2020). Azurocidin in gingival crevicular fluid as a potential biomarker of chronic periodontitis. *Periodontal Res*. 55(2), 209-214. Doi: 10.1111/jre.12703.
- NOBS, SP., ZMORA, N. and ELINAV, E. (2020) Nutrition Regulates Innate Immunity in Health and Disease. *Annu Rev Nutr*. 40, 189-219. Doi: 10.1146/annurev-nutr- 120919-094440.

- NOZAL P. y LÓPEZ, M. (2016). Autoanticuerpos frente a proteínas de la vía alternativa del complemento en enfermedad renal. *Nefrología*, 36(5). <https://dx.doi.org/10.1016/j.nefro.2016.01.014>.
- NAVARRETE, J. y PINILLA, G. (2010). Pruebas de valoración fagocítica en neutrófilos. *Hechos microbiológicos*, 1(1), 56.
- NAVARRETE, J., AMAYA, E. (2006). Del alotransplante al xenotransplante: la compatibilidad antigénica donante-receptor por medio del Complejo Mayor de Histocompatibilidad. *CMH. NOVA*, 4(6), 84-93.
- ODALES, J., GUZMAN, J., MARTÍNEZ, F. and MANOUTCHARIAN, K. (2020). Immunogenic properties of immunoglobulin superfamily members within complex biological networks. *Cell Immunol*, 358, 104235. doi: 10.1016/j.cellimm.2020.104235.
- PARHAM, P. (2011). *El sistema inmune* (3ª ed). Manual Moderno. ISBN 978-607-448-074-0.
- PIDWILL, G., GIBSON, J., COLE, J., RENSHAW, S. and FISTER S. (2021). The role of macrophages in Staphylococcus aureus infection. *Front Immunol*, 11, (1-30). Doi:10.3389/fimmu.2020.620339.
- PRADEU, T., THOMMA, B., GIRARDIN, S. and LEMAITRE, B. (2024). The conceptual foundations of innate immunity: taking stock 30 years later. *Immunity*, 9(4), 613-631. Doi: 10.1016/j.immuni.2024.03.007.
- REGUEIRO, J., MARTÍNEZ, E., LÓPEZ, C., GONZÁLEZ, S. y CORELL, A. (2022). *Inmunología, biología y patología del sistema inmune* (5 ed.). Panamericana. ISBN 9788491104209.
- RODRÍGUEZ, A., VÁZQUEZ, L. y RAMOS, G. (2005). Actividad antimicrobiana de la lactoferrina: mecanismos y aplicaciones clínicas potenciales. *Rev Latin Microbiol.* 47(3-4), 102-111.
- ROJAS, W., ANAYA, JM., ARISTIZÁBAL, B., CANO, L., GÓMEZ, L. y LOPERA, D. (2017). *Inmunología de Rojas* (18 ed.). Editorial Corporación para Investigaciones Biológicas. ISBN 958907615-7.
- SEUMEN, C., GRIMM, T. and HAUCK, C. (2021). Protein phosphatases in TLR signaling. *Cell Commun Signal*, 19, 45. Doi: 10.1186/s12964-021-00722-1.
- SIMING, G., HONGLIN, Z., XIAOXIA, Z. and HUI L. (2018). Cathepsin G and its role in inflammation and autoimmune diseases. *Arch Rheumatol*, 33(4), 498-504. Doi:10.5606/ArchRheumatol.2018.6595.
- SIRACUSA, M., KIM, B., SPREGEL, J. and ARTIS, D. (2013). Basophils and allergic inflammation. *J Allergy Clin Immunol*, 132(4), 789-801. Doi: 10.1016/j.aci.2013.07.046.

- TAKADA, Y., YE, X. and SIMON, S. (2007). The integrins. *Genome Bio.*, 8(5), 215. Doi: 10.1186/gb-2007-8-5-215.
- THAISS, C., ZMORA, N., LEVY, M. and ELINAV, E. (2016). The microbiome and innate immunity. *Nature*, 535(7610), 65-74. Doi: 10.1038/nature18847.
- TOLOZA, A. (2016). *Cómo influyen genes y ambiente en la respuesta inmunitaria*. https://genotipia.com/genetica_medica_news/genes-ambiente-y-respuesta-inmunitaria/.
- TOORES, A., CABAÑAS, C. and LAFUENTE, E. (2015). Phagocytic Integrins: activation and signaling. *Front Immunol*, 11, 738. Doi: 10.3389/fimmu.2020.00738.
- TROLDBORG, A., JENSEN, L., DELEURAN, B., STENGAARD-PEDERSEN, K., Thiel, S. and JENSENIUS, J. (2018). The C3dg Fragment of Complement Is Superior to Conventional C3 as a Diagnostic Biomarker in Systemic Lupus Erythematosus. *Front Immunol*, (9), 581. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00581>.
- TRUJILLO, Y., ARCE, S., VIGUERA, R., MARTÍNEZ, I. y WHITE, V. (2018). El complejo mayor de histocompatibilidad. Organización genética, estructura, localización y función. *Panorama. Cuba y salud*, 13(1), 53-57.
- TVAROŠKA, I., SELVARAJ, Ch. and KOČA, J. (2020). Selectins The Two Dr. Jekyll and Mr. Hyde Faces of Adhesion Molecules. A Review. *Molecules*, 25(12), 2835. Doi: 10.3390/molecules25122835.
- URIBE, E. and ROSALES, C. (2020). Phagocytosis: our current understanding of a Universal Biological Process. *Front Immunol*, 11, 1066. Doi:10.3389/fimmu.2020.01066
- VÁSQUEZ, B., SUREDA, M. y REBOLLO, J. (2012). Células dendríticas I: aspectos básicos de su biología y funciones. *Inmunología*, 31(1), 21-30. Doi: 10.1016/j.inmuno.2011.10.001.
- VILELA, R., MATIAS, M., ESPOSITO, D. and GOUVEIA, M. (2022). Mechanism, biomarkers and therapeutics involved in inflammatory disorders and tissue repair 2021. *Oxidative Med Cell Longevity*, 21. Doi: 10.1155/2022/9806128.
- WEIR, D. and STEWART, J. (2000). *Inmunología* (3 ed.). Manual Moderno. ISBN 968-426-816-5.
- XIONG, P., KUBES, P. (2019). The neutrophil's role during health and disease. *Physiol Rev*, 99(2), 1223-1248. Doi 10.1152/physrev.00012.2018.
- YU, U. and SONG, G. (2020). Lipopolysaccharide-binding protein and bactericidal/permeability-increasing protein in lipid metabolism and cardiovascular diseases. *Adv Exp Med Biol*. 1276, 27-35. Doi: 10.1007/978-981-15-6082-8_3.

- ZAMBRANO, S. (2007). *Inmunología básica y clínica*. McGraw Hill. This ISBN 970-10-5513-6.
- ZHENG, R., ZHAN, Y., YUAN, Y., JIA, S. and LIU, J. R. (2022). The complement system, aging and aging related diseases. *Int J Mol Sci*, 23(15), 86-89. Doi:10.3390/ijms23158689.

CAPÍTULO 3

RESPUESTA INMUNE ADAPTATIVA

La respuesta inmune adaptativa o adquirida, como su nombre lo indica, es una respuesta que se adapta o se adquiere al tener contacto con el patógeno que ingresa causando infección. Esta actúa cuando el agente agresor logra atravesar las barreras físicas y químicas que posee el organismo y cuando la respuesta innata no logra eliminar el patógeno invasor, es decir que se convierte en la tercera línea de defensa del organismo.

La inmunidad adaptativa está a cargo de la respuesta específica celular, direccionada por los linfocitos T, y la respuesta específica humoral, a cargo de los linfocitos B con la producción de los anticuerpos o inmunoglobulinas, proteínas altamente específicas contra el antígeno. Los linfocitos T y B tienen la capacidad de reconocer el patógeno, capacita al organismo para ofrecer una respuesta direccionada en un segundo contacto, potente y rápida contra el agente agresor en unión con la respuesta inmune innata. Las características de la respuesta inmune adaptativa realizada por los linfocitos T y B son:

- Además de rápida, su acción es efectiva y altamente específica.
- Proporciona protección contra una amplia variedad de patógenos que se encuentran en el ambiente.
- Al ser altamente específica, su respuesta reconoce diferencias mínimas entre patógenos y las células propias.
- Cuando los linfocitos T y B proliferan en una primoinfección y la respuesta inmune ha logrado eliminar el patógeno, estas células adquieren una vida media prolongada y memoria inmunológica que le permiten controlar de manera rápida y eficaz una infección causada por el mismo patógeno.
- Reacciona contra microorganismos de rápida evolución por su versatilidad para atacar nuevos blancos.
- Reconoce los epítopes del patógeno por medio de receptores de superficie celular del linfocito T (TCR) y del linfocito B (BCR).

Los receptores TCR y BCR que se encuentran en vertebrados y mamíferos, tienen la capacidad de ser polimórficos para generar versiones distintas del sitio de unión para epítopes diferentes, y esto se debe a que los genes que codifican para estos receptores, evolucionan de distintas maneras en el desarrollo de los linfocitos para unirse de manera específica a los componentes del patógeno y generar proliferación, división y diferenciación de linfocitos efectores, cuyo fin es eliminar la infección de manera oportuna. Otro papel importante de la respuesta inmune adaptativa es el rechazo de tumores y en las enfermedades autoinmunes.

3.1. RESPUESTA INMUNE CELULAR ESPECÍFICA

Los linfocitos T tienen la capacidad de reconocer agentes extraños y reaccionar de manera específica para su efectiva eliminación. Si el agente es endógeno, es decir, que requiere estar en el citoplasma de la célula para sobrevivir y multiplicarse (virus, bacteria o parásito intracelular y antígenos tumorales) sus epítopes son presentados mediante el CMH Clase I (ver CMH) a los LT citotóxicos (LTc) que como respuesta van a proliferar, liberar perforinas que causan la lisis de la célula infectada y producir LTc de memoria para enfrentar un segundo contacto.

Por el contrario, si es un microorganismo exógeno que no requiere estar en el interior de una célula para su sobrevivencia (hongos, bacterias y parásitos extracelulares), estos deben ser internalizados por medio de la fagocitosis para que, por medio del CMH Clase II (Ver CMH), se puedan presentar los epítopes a los linfocitos T ayudadores (LTh) y como resultado de esta presentación el LTh prolifera, produce citoquinas y células de memoria que reaccionarán en un contacto posterior frente al mismo agente agresor.

3.1.1. LINFOCITOS T

Los linfocitos T son células mononucleares producidas en la médula ósea por acción de las citoquinas y factores estimuladores de colonias, de donde salen a circulación estimulados por la timotaxina, lo cual provoca que estas células inmaduras se dirijan hacia el timo donde completan su desarrollo, reconocen lo propio y se especializan en las diferentes subpoblaciones.

El 95 % de los linfocitos T que tienen receptor TCR $\alpha\beta$ solo reconocen pequeños epítopes peptídicos que se encuentran unidos al CMH de las células presentadoras de antígeno. Entre las características fisiológicas de los linfocitos T se encuentran que son células mononucleares, su núcleo ocupa el 90 % de su citoplasma, el diámetro oscila entre 6-30 μm ; tienen receptores que los clasifican como linfocitos T ayudadores (LTh) CD3+ CD4+, linfocitos T citotóxicos (LTc)

CD3+ CD8+, linfocitos T reguladores (LTreg) CD3+CD4+CD25+; además poseen el receptor que reconoce los epítopes del antígeno denominado Receptor de la Célula T (TCR), del cual hay dos tipos TCR $\alpha\beta$ y TCR $\gamma\delta$.

Entre sus funciones está mantener la tolerancia frente a lo propio, reconocer de manera restringida a antígenos extraños cuando son presentados por el CMH Clase I al LTc y por el CMH Clase II al LTh y son los productores de mayor proporción de citoquinas involucradas en la respuesta inmune. La acción de los linfocitos estimulados da como resultado dos tipos de respuesta:

- Una respuesta efectora, es decir, sintetizan su producto para contribuir a la eliminación del patógeno, en el caso de los linfocitos Th producir citoquinas, de los LTc hacer citotoxicidad a la célula blanco
- Una respuesta de memoria para realizar una respuesta más rápida y efectiva al tener un segundo contacto con el patógeno. La respuesta de memoria surge a partir de una respuesta primaria con la que los linfocitos T vírgenes, producen subpoblaciones de linfocitos T de memoria que permanecen en estado G0 antes de un segundo contacto; cuando sucede la nueva estimulación, hacen expansión clonal con mayor rapidez e intensidad e igualmente secretan citoquinas en mayor cantidad. En esta fase pueden sobrevivir de meses a años sin recibir estímulo antigénico gracias a las proteínas antiapoptóticas que producen. Para que se produzcan LTh de memoria se requiere la intervención de las IL-15 y IL-7, la pérdida el receptor CD45RA y la selectina L y la adquisición del receptor CD45RO y el CDw29; mientras que para la generación de LTc de memoria se necesita de la interacción CD40-CD40L.

3.1.1.1. MADURACIÓN Y ESPECIALIZACIÓN DEL LINAJE T

El timo es un órgano con un ambiente aislado y organizado que permite el desarrollo y maduración de los linfocitos T; este órgano está totalmente desarrollado al momento de nacer, progresivamente hacia el año inicia un proceso de involución, ya que los linfocitos T periféricos maduros han reaccionado contra diferentes patógenos, poseen memoria, son longevos o son autorrenovables, a diferencia de los linfocitos B maduros que son de vida corta y en la médula ósea se reponen continuamente.

La estructura fisiológica del timo está formada por una red de células epiteliales llamadas estroma tímico, que junto con otras células forman una corteza densa y una médula tímica menos densa siendo la sangre la única vía por la cual entran timocitos y salen linfocitos T maduros. Los linfocitos precursores de línea T entran en contacto con el estroma tímico, se dividen y pierden receptores de

célula madre (CD34) y adquieren los primeros receptores de la línea T como el CD2, inician el reordenamiento de genes del receptor T (TCR) y son doblemente negativos para CD4 y CD8. La IL-7 y el receptor Notch 1, permiten el inicio de la diferenciación de los linfocitos T.

La primera fase de maduración de los linfocitos T inicia con el desarrollo de una célula precursora de linfocito T que expresa el receptor TCR (TCR $\alpha\beta$ y TCR $\gamma\delta$). Estos TCR compiten entre sí para determinar cuál se expresa primero para anular la expresión del otro, es decir si se expresa primero $\alpha\beta$ el linaje de esos timocitos va a ser $\alpha\beta$ y no $\gamma\delta$ y viceversa. Los linfocitos que no logran el reordenamiento genético de sus receptores TCR mueren por apoptosis y son fagocitadas por macrófagos en la corteza del timo. Durante este proceso expresan varias glucoproteínas que actúan como receptores de membrana, los diferencia entre ellos en cuanto a sus funciones en la respuesta inmunitaria y son denominados CD3, CD4 y CD8. En este momento expresan correceptores CD4⁺ y CD8⁺ denominándose timocitos doblemente positivos.

La segunda fase del desarrollo de los linfocitos T, es el reconocimiento de los antígenos propios (CMH) por parte del receptor TCR $\alpha\beta$. Los linfocitos T, TCR $\alpha\beta$ pasan por dos filtros:

- Selección positiva: proceso mediante el cual los linfocitos T inmaduros doblemente positivos (CD4⁺ CD8⁺) se unen con una baja afinidad a las moléculas del CMH expresadas en la membrana de las células epiteliales de la corteza del timo (células nodriza). Los timocitos son rescatados de la muerte celular programada y estimuladas a sobrevivir. En este proceso los genes de la cadena α del TCR continúan reordenándose a fin de que se puedan producir TCR de diferentes tipos para que uno de esos reconozca el CMH propio. En esta etapa, muchos linfocitos fallan en la selección positiva y mueren por apoptosis. El tipo de molécula CMH que interviene en la selección positiva, determina cuál receptor CD4 o CD8 se va a mantener en la membrana del linfocito que está en proceso de maduración.
- Selección negativa: de las células que ya pasaron por el proceso de selección positiva, las que poseen TCR que reconocen los péptidos propios del CMH con alta afinidad, mueren por apoptosis con el fin de eliminar células potencialmente autorreactivas. Los linfocitos T autorreactivos que logran entrar a circulación, entran en un estado de anergia al reconocer el péptido propio y son regulados por los linfocitos T reguladores.

Los linfocitos que sobrevivieron a los dos procesos, selección positiva y negativa entran a la médula del timo para especializarse en las diferentes subpoblaciones gracias a la acción de las hormonas tímicas como la timopoyetina,

timulina y factor humoral del timo; posteriormente salen como LT maduros a circulación hacia los órganos linfoides secundarios, con la capacidad de reconocer péptidos extraños y diferenciarse en linfocitos T efectores de diferentes subtipos. Los linfocitos que salen a circulación el 95 % son LT TCR $\alpha\beta$, y 5 % son LT TCR $\gamma\delta$, en mucosas los linfocitos T TCR $\gamma\delta$ se encuentran en una concentración del 10 %.

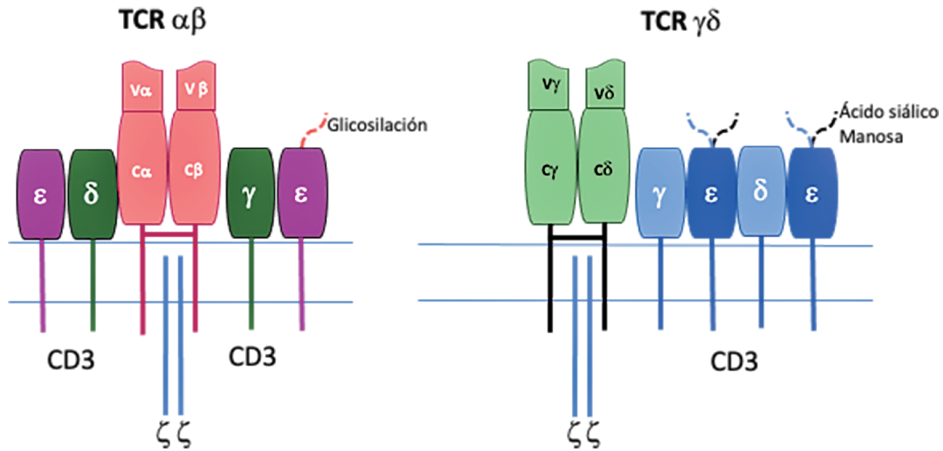
En resumen, los linfocitos T ya maduros y especializados tienen como receptores el TCR $\alpha\beta$, CD3+ que indica que es un linfocito T, CD4+CD8- es un linfocito Th, CD4-CD8+ es un linfocito Tc, CD4+ CD25+ es un linfocito T regulador. Los linfocitos Th tienen la capacidad de reconocer péptidos extraños en el contexto del CMH Clase II ya que su ligando es el CD4 y los LTc reconocen péptidos unidos al CMH Clase I porque el ligando es el CD8. Son los responsables de la inmunidad celular específica, ambas subpoblaciones dejan memoria para reaccionar de manera rápida y eficaz en un segundo contacto con el mismo agente.

Por otra parte, los linfocitos T con TCR $\gamma\delta$ tienen CD3+, son doblemente negativos es decir CD4-CD8-, reconocen antígenos lipídicos y no generan memoria. Debido a estas características, los LT TCR $\gamma\delta$ han sido postulados como células que participan activamente en el sistema inmune innato.

3.1.1.2. RECEPTOR DE CÉLULA T (TCR)

Este receptor compuesto de proteínas de membrana, pertenece a la superfamilia de las inmunoglobulinas, se enlaza específicamente al complejo CMH-péptido que se encuentra en la membrana de las células presentadoras de antígeno o de células blanco. Existen dos tipos de receptor TCR: TCR $\alpha\beta$ y TCR $\gamma\delta$ (**figura 3.1**). Cada una de las cadenas que componen el receptor TCR consta de dos regiones: una variable que se encuentra a nivel extracelular y está ubicada en el extremo aminoterminal del receptor y una región constante que se ubica en el extremo carboxilo terminal. Las regiones variables del TCR están a cargo del reconocimiento del péptido antigénico. Esta región se subdivide en tres fragmentos hipervariables cortos por cadena llamados Regiones Determinantes de Complementariedad (CDR), es decir que hay un total de seis fragmentos CDR por receptor. Las regiones constantes del TCR cuentan con una cadena transmembranal y una pequeña región intracitoplasmática la cual permite la traducción de las señales del TCR que dan como resultado la respuesta efectora del linfocito T.

Figura 3.1. Estructura del receptor T. A: TCR $\alpha\beta$ compuesto por una cadena α y una cadena β las cuales tienen una región variable y una constante; este TCR está acompañado por el receptor CD3 que está compuesto por cuatro cadenas (γ , 2ε , δ). B: TCR $\gamma\delta$: compuesto por una cadena γ y una cadena δ acompañado por el receptor CD3



Nota. Elaboración propia.

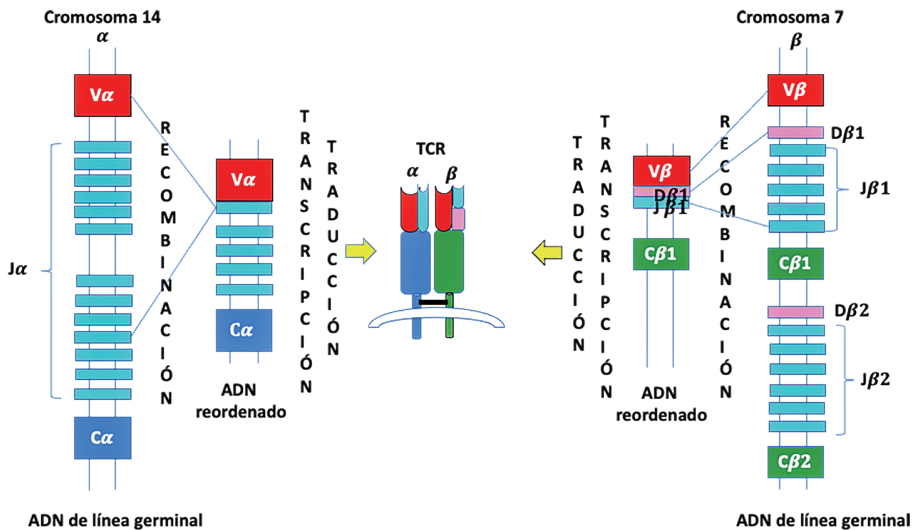
Las regiones variables de las cadenas de los receptores TCR están determinadas por una serie de combinaciones génicas de los segmentos variable (V), diversidad (D) y de unión (J) que componen cada uno de los genes que la codifican. Los segmentos V, D y J se encuentran en las regiones 5' de cada gen con una distribución muy conservada en el humano y las regiones constantes de las cadenas determinadas por los exones se encuentran en las regiones 3' de las cadenas del receptor. La recombinación V(D)J se reordenan genéticamente durante el desarrollo de los linfocitos que están en proceso de maduración, lo que permite la generación de un repertorio amplio de receptores para antígenos diferentes dando como resultado una especificidad antigénica diferente a cada linfocito virgen con capacidad ilimitada de reconocimiento de diversos antígenos.

Los genes para la cadena α del TCR tienen arreglos V, D y J, mientras que para la cadena β solo tiene V y J. Para que se produzca un gen funcional, todos los segmentos génicos distintos deben colocarse de manera contigua por corte y empalme del ADN con la eliminación de regiones interpuestas, proceso que es catalizado por enzimas y es llamado reordenamiento génico, el cual crea secuencias de regiones variables que se transcriben y traducen en la porción variable de la proteína del receptor TCR (**figura 3.2**).

Las múltiples recombinaciones de los segmentos V, D y J o V y J son la principal fuente de la diversidad de la región variable del TCR que, en resumen, consta de una maquinaria enzimática que corta y pega el DNA durante el reordenamiento génico, y su objetivo es introducir nucleótidos adicionales en las uniones entre los segmentos génicos, creando diversidad en las secuencias de las regiones variables del receptor T.

El complejo del receptor TCR $\alpha\beta$ junto con el CD3, cuando reciben el estímulo de la presentación del péptido unido al CMH, realiza una traducción de señales intracelulares para dar como resultado la proliferación de la célula y la producción de las moléculas efectoras de cada subpoblación de linfocito T.

Figura 3.2. Organización y reordenamiento de los genes del que codifican el receptor TCR. Se evidencia la configuración de la línea germinal para las cadenas α y β del TCR, con los segmentos génicos variable (V), diversidad (D) y de unión (J). En el desarrollo del Linfocitos T hay recombinación del ADN donde se ensambla el segmento V, para la cadena α , un segmento V se reordena con uno J que crea un exón funcional para el fragmento variable del TCR. Para la cadena β se reordenan un segmento V, uno D y uno J para crear un exón funcional V. Posteriormente hay transcripción, se produce RNAm que codifica para las cadenas α y β del TCR.



Nota: Elaboración propia.

Las señales intracelulares del TCR se pueden encontrar en la siguiente secuencia:

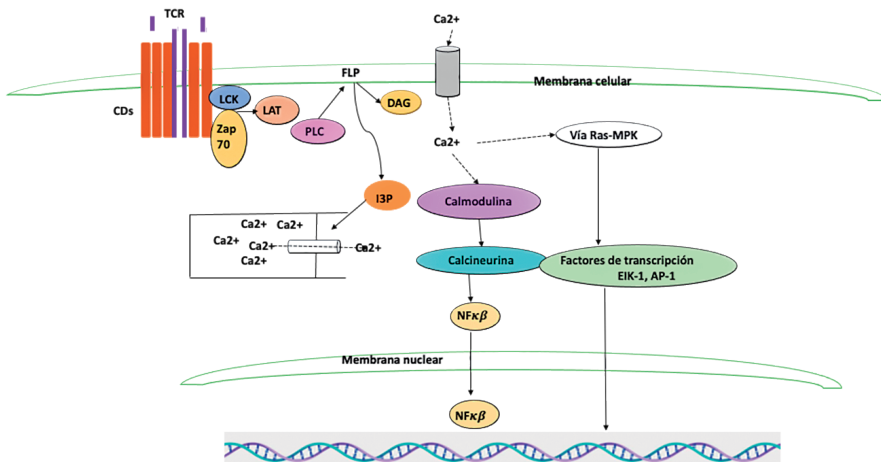
- *Activación de proteínas tirosin-quinasa (PTK):* las colas intracitoplasmáticas

del CD3 poseen un fragmento inmunorreceptor basado en la activación de la tirosina (ITAM), sitio importante para que se dé el proceso de transducción del receptor TCR mediante la fosforilación de las tirosinas. La señalización asociada a los correceptores CD4 y CD8 inducen la fosforilación del ITAM presente en los dominios intracitoplasmáticos del CD3 que recluta la proteína asociada al segmento ζ (ZAP-70), la cual se autofosforila, activando proteínas citoplasmáticas e iniciando la actividad de las moléculas adaptadoras (figura 3.3).

- *Moléculas adaptadoras:* constituyen un grupo de proteínas que no tienen actividad enzimática ni funcionan como factores de transcripción, se comunican con otras proteínas para amplificar las señales de la PTK y las vías corriente abajo. Entre ellas están LAT, SLP-76, BLNK, FYB, SLAP, SKAP55 y 3BP2. Para activación del linfocito T la molécula (LAT) es fosforilada y esto conduce al reclutamiento de fosfolipasas y el fosfatidilinositol, a la agregación multiproteica necesaria para incrementar el calcio intracelular y a promover la transcripción del gen de la IL-2 que permite la expansión de los linfocitos T (figura 3.3).
- *Vías efectoras de la señalización intracelular:* la señalización intracelular depende de la actividad de fosfolipasas, proteínas ligadoras de GTP y fosfatidil inositol quinasa. Este proceso inicia con el reclutamiento y activación de fosfolipasas que hidrolizan los fosfolípidos de la membrana liberando inositol 1, 4, 5 trifosfato (IP3) y diacilglicerol (DAG). El IP3 permite que aumente el calcio intracitoplasmático que activa varias proteínas enzimáticas y factores de transcripción. El DAG activa la proteinkinasa C (PKC) que, a su vez, activa factores de transcripción, actúa sinérgicamente con la calcineurina para promover la transcripción del gen de la IL-2 y fosforila el factor de transcripción que se une al AMPc. Entre las proteínas que unen GTP está la Ras que une nucleótidos de guanina la cual interactúa con otras proteínas que se contactan con los fragmentos ITAM fosforilados. La familia de las GPTasas intercambia nucleótidos de guanina y regula el ensamblaje de filamentos de actina. Tanto Ras como la familia de las GPTasas se encuentran en una cascada de actividad serina-treonina-quinasa que activa la quinasa, activadora de mitosis MAPK (figura 3.3).
- *Activación y traslocación nuclear de factores de transcripción:* las vías de señalización anteriormente descritas, se centran en la activación de factores de transcripción mediante la acción de las protequinas, que cambian dos o más nucleótidos en el ADN y fosforilan las proteínas de transcripción. Los factores de transcripción de la familia NF se activan y son desfosforilados por la calcineurina; estos factores junto con AP-1

y $\text{NF-}\kappa\beta$, son los que promueven la transcripción de los genes para las citoquinas, específicamente el de la IL-2, la cual tiene como función activar la mitosis del linfocito T (figura 3.3).

Figura 3.3. Señalización intracelular del TCR. Con el reconocimiento antigénico por parte del TCR sucede la activación de la tirosinkinasa (LCK y ZAP70), posteriormente está la fosforilación y activación de la fosfolipasa C que hidroliza los fosfolípidos de la membrana celular, que permite el ingreso de calcio al citoplasma que activa la calmodulina, la calcineurina y el factor de transcripción $\text{NF}\kappa\beta$ que, liberado de su inhibidor, ingresa al núcleo. Además, la concentración citoplasmática del calcio activa la vía Ras-MPK, activa otros factores de transcripción que ingresan al núcleo, juntos activan los genes responsables de la respuesta efectora del linfocito T.



Nota: Elaboración propia.

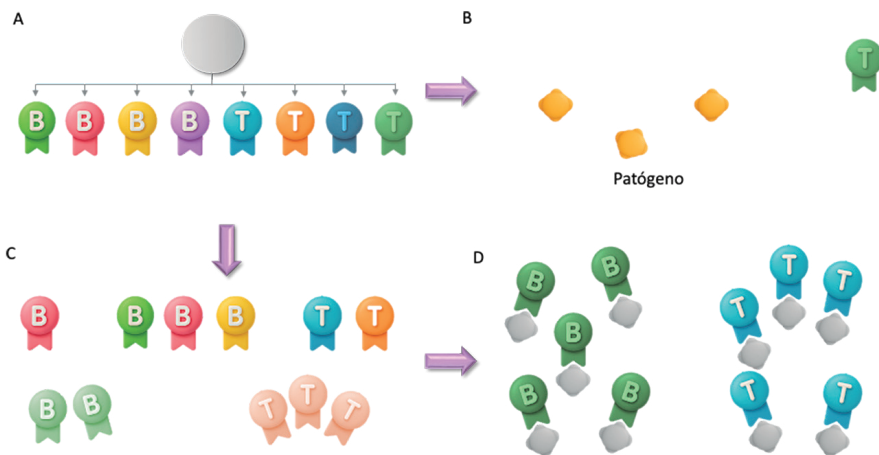
La señalización intracelular participa en diversas respuestas fisiológicas del linfocito T, como es ingresar al ciclo celular, expresión de genes para producir citoquinas y receptores, activación y regulación de genes específicos para su proliferación, diferenciación, anergia y la apoptosis. En el caso de la anergia, los timocitos toman la cascada MAPK para que se dé la selección positiva del timocito; la transcripción del gen para la IL-2 se realiza mediante señales dependientes e independientes de calcio junto con la calcineurina, la vía Ras-MAPK, isoformas de la PKC y efectos bioquímicos originados por la acción del FNT que finaliza en la activación del $\text{NF-}\kappa\beta$; la apoptosis es mediada por FasL donde intervienen las señales inducidas por el correceptor CD4, lo cual permite la regulación de la expansión de los linfocitos T. En relación con la expresión de los receptores para citoquinas, que son responsables de la diferenciación de la población de los linfocitos T CD4^+ en cada subpoblación, por ejemplo, la acción

de la IL-12 permite que se diferencien los clones de los linfocitos T ayudadores en Th1, la IL-4 favorece la subpoblación Th2.

3.1.1.3. SELECCIÓN CLONAL DEL LINFOCITO T

Como consecuencia del reordenamiento de los genes del TCR, durante el desarrollo de los linfocitos T, producen gran cantidad de linfocitos T cada uno con receptores TCR diferentes (**figura 3.4A**), que hacen que la respuesta inmune contra el patógeno pueda hacerse de manera uniforme pero diversa. Solo los receptores TCR de unos pocos linfocitos T logran interactuar con las moléculas de membrana del patógeno (**figura 3.4B**). Los linfocitos que reconocen los componentes del patógeno se convierten en linfocitos reactivos frente a un estímulo específico del patógeno para que los LT puedan ser inducidos a dividirse y proliferar (**figura 3.4C**). Los linfocitos activados por el patógeno se convierten en células efectoras para la eliminación del patógeno. En otras palabras, el patógeno selecciona los receptores TCR apropiados y cuando son reconocidos, la expansión de los linfocitos T da como resultado clones con TCR idénticos que proliferan para trabajar unidos en la eliminación del patógeno (**figura 3.4D**).

Figura 3.4. Selección y expansión de los linfocitos T. (A) en la maduración las células progenitoras dan origen a linfocitos T con distintas formas de TCR. (B) Solo unos pocos linfocitos T circulantes reconocen el patógeno. (C) Los linfocitos reactivos proliferan. (D) Los linfocitos activados por el patógeno son células efectoras contra el patógeno



Nota. Imagen generada por inteligencia artificial a través de ChatGPT. OpenAI, 2025 <https://chat.openai.com>

3.1.1.4. RECONOCIMIENTO DEL PATÓGENO POR PARTE DE LOS LINFOCITOS T

Los Linfocitos T no reconocen estructuras o macromoléculas intactas de la membrana del patógeno, requiere de la degradación por parte de las células presentadoras de antígeno, especialmente las CDs, para poder reconocer fracciones peptídicas de estructura lineal de 8 a 25 aminoácidos de longitud que se encuentren ligados al CMH Clase I o Clase II (ver CMH). Las moléculas del CMH tienen la capacidad de unirse a un gran número de péptidos degradados, pero de acuerdo con la longitud del péptidos y determinadas características, limita su unión al CMH, lo que significa que un número reducido de péptidos del patógeno que actúan como antígeno, logran ser presentados por el CMH. Gracias al polimorfismo del CMH, hay mayor oportunidad de presentar péptidos inmunógenos para activar la respuesta inmune adaptativa.

3.1.1.4.1. Linfocito T ayudador (LTh)

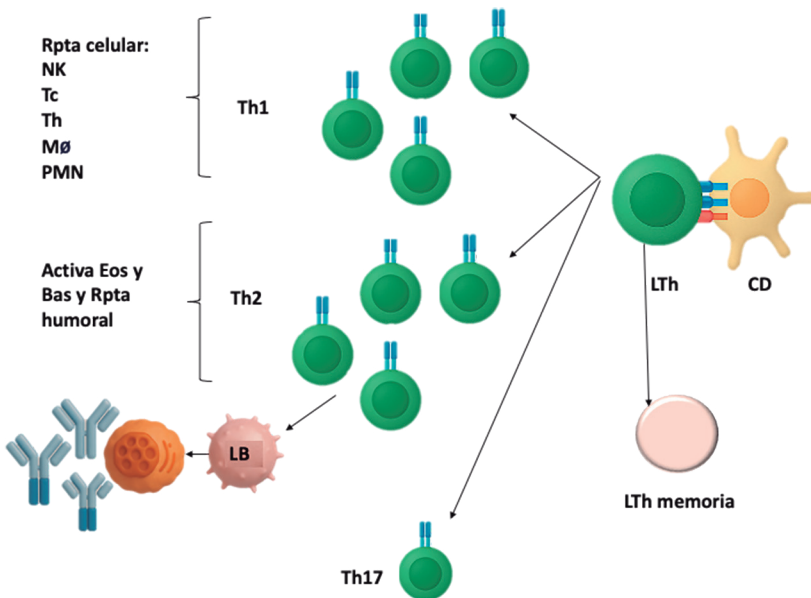
Una vez los linfocitos vírgenes T ayudadores CD4⁺ son activados, proliferan y de acuerdo con el antígeno reconocido se especializan en subtipos de LTh que sintetizan citoquinas específicas para promover varias clases de respuesta inmune. Estas subpoblaciones de LTh fueron descritas por Mosmann y Coffman (1986) cuando describieron a los linfocitos T CD4⁺ en Th1, los cuales producían citoquinas como la IL-2, IFN γ , GM-CSF y los linfocitos Th2 productores de IL-4, IL-5, factor estimulante de linfocitos B (BSF-1) y Factor de Crecimiento de Mastocitos (MCGF). Hacia 1990 se observó que estas células podían estar en la sangre periférica, en los tejidos y en diversos órganos. En 1994 se reportó otra población de linfocitos T CD4⁺, los linfocitos Th3, denominados como reguladoras y productoras del Factor de Crecimiento Transformante β que expresan en su membrana el CD25. En 1997 se describió un subtipo de linfocitos T CD4 que proliferaba muy poco y producía IL-10, citoquina reguladora de la respuesta inmune y fueron llamadas LT reguladores (LTr1) que posteriormente las denominaron LT foliculares CD4 (LTfh) necesarias para la formación de centros germinales, la diferenciación de linfocitos B en células plasmáticas y de memoria. En 2005 se descubrió la subpoblación Th17 que produce IL-17, en 2009 las Th22 productoras de IL-22 y FNT, luego las Th9 productoras de la IL-9, es decir que la subpoblación se denomina de acuerdo con la citoquina que produce.

La activación de los linfocitos T CD4⁺ depende del procesamiento del patógeno exógeno por parte de las células presentadoras de antígeno que expresan el complejo péptido-CMH Clase II. Los linfocitos T CD4⁺ vírgenes pueden diferenciarse al ser activados por la presentación del antígeno y la intervención de citoquinas, en linfocitos Th0, Th1 y Th2 (**figura 3.5**).

Las Th0 activadas, pero no diferenciadas, secretan citoquinas características de los Th1 o Th2 y esto depende del tipo de antígeno que esté activando la respuesta inmune celular específica. Las citoquinas secretadas ejercen una influencia importante para estas células Th0; es así que cuando las CPA presentan antígenos intracelulares (virus, tumores, parásitos y bacterias intracelulares), los Mφ, CDs y NK sintetizan IL-12, que promueve la diferenciación a Th1, por medio de las citoquinas que estos producen, se da una respuesta inmune eminentemente celular (activación de NK, LTc, PMN, Mφ) (**figura 3.5**).

Por otro lado, cuando el Th0 es activado por la presentación de antígenos extracelulares y por acción de la IL-4 producida por el linfocito T CD4⁺, la IL-5 y la IL-10 en conjunto hacen que se promueva la diferenciación a Th2, las cuales producen citoquinas que dirigen la respuesta inmune humoral (**figura 3.5**).

Figura 3.5. Activación de la respuesta Th por la presentación de péptidos unidos al CMH Clase II. Los LTh activados reciben estímulos de citoquinas para poder diferenciarse en Th1 o Th2. Los LTh1 producen una respuesta eminentemente celular y los LTh2 humoral



Nota. Imagen generada por inteligencia artificial a través de ChatGPT. OpenAI, 2025 <https://chat.openai.com>

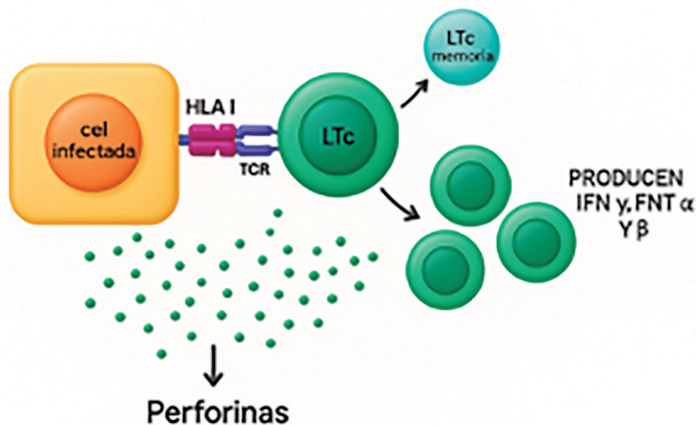
La IL-4 activa y prolifera los linfocitos B, facilita el cambio de isotipo de las inmunoglobulinas, junto con la IL-10 incrementa la producción de células cebadas, mientras que la IL-5 aumenta el crecimiento de eosinófilos. Cuando

hay presencia de helmintos y enfermedades alérgicas mediadas por la IgE, la respuesta Th2 domina en presencia de este tipo de estímulo. La IL-4 y la IL-10 favorecen la expresión de las CMH Clase II en el linfocito B, lo cual permite la interacción con los linfocitos Th2.

3.1.1.4.2. Linfocito T citotóxico (LTc)

Son linfocitos que reconocen péptidos generados de la degradación enzimática de proteínas virales o tumorales que se expresan en la membrana de la célula blanco, asociados al CMH Clase I, producen la lisis de la misma y así refuerza la acción citotóxica de las NK; además tiene efecto citotóxico sobre células infectadas con bacterias intracelulares, como es el caso del *Micobacterium* y *Listeria*. En su membrana, los receptores CD3⁺, CD8⁺, CD28⁺ y TCR $\alpha\beta$, reconocen el complejo CMH Clase I-péptido intracelular, que al unirse las dos células mediante estos receptores, libera perforinas o citolisinas, granzimas o fragmentinas y granulolisinas, que son las causantes de la lisis de la célula blanco, produciendo poros, fragmentando el ADN y degradando los lípidos de la membrana respectivamente; además, pueden inducir apoptosis en la célula diana mediante la activación de los receptores Fas y su receptor Fas-ligando (**figura 3.6**). El linfocito Tc produce citoquinas como el IFN- γ , FNT α y β que incrementan su acción antiviral. Para que se produzca la fase efectora del LTc, se requiere de otras moléculas coestimuladoras como CD2, CD28, CD43, B7, CD22, ICAM-1, ICAM-2 y LFA3.

Figura 3.6. Acción citotóxica de los linfocitos Tc frente a una célula infectada. Una vez el LTc reconoce los péptidos del antígeno endógeno unidos al CMH Clase I, el linfocito Tc prolifera, produce citoquinas y perforinas causantes de la lisis celular



Nota. Imagen generada por inteligencia artificial a través de ChatGPT. OpenAI, 2025 <https://chat.openai.com>

3.1.1.5. *LINFOCITO T REGULADOR (LTREG)*

Son linfocitos que tienen sobre su membrana receptores $CD4^+$ y $CD25^+$, tienen una función importante en la supresión de la respuesta inmune que se produce para la eliminación del agente agresor. Esta supresión la realizan inhibiendo el crecimiento y maduración de las células del sistema inmune, así como inducir la apoptosis y fagocitosis de leucocitos activos e inhibir la producción de mediadores de la inflamación y los que amplifican la respuesta inmune.

Además, cumple una función importante en la tolerancia frente a antígenos propios para que no se produzcan enfermedades autoinmunes, frente a trasplantes alogénicos y en la tolerancia hacia el feto en el embarazo, además, controlan las enfermedades alérgicas.

Tienen acción inhibitoria frente a NK, NKT, LB, LTh, LTc y CPA. Los mecanismos que usan los LTreg para ejercer su acción inhibitoria se da cuando degrada el triptófano del receptor CTLA-4 produciendo kinureninas para inhibir a los linfocitos T e inducir apoptosis; produciendo citoquinas reguladoras como la IL-10, TGF- β y la IL-35 que inhiben la acción de los Th1, Th2 y Th17 y, por último, con la inducción de apoptosis en las células inmunes por contacto directo. Los mecanismos de supresión que usan los linfocitos Treg para inhibir la respuesta inmune son:

- Producir IL-10 y TGF- β : proteínas con actividad inhibitoria de citoquinas proinflamatorias.
- Lisis y muerte celular: los LTreg en su citoplasma contienen vesículas ricas en granzimas A y B, perforinas y galectinas que tienen la función de romper la membrana celular de linfocitos para inhibir su proliferación.
- Inhibición usando receptores de superficie celular: los LTreg tienen en su membrana receptores como el CTLA-4 y LAG 3 los cuales inhiben la actividad de los linfocitos efectores.
- Modulación del microambiente: los LTreg producen adenosina que estimula la secreción de citoquinas antiinflamatorias y disminuye la capacidad de respuesta del linfocito B.

3.1.1.6. *LINFOCITOS T GAMMA DELTA*

Son linfocitos T que tienen diversas características como:

- Pertenecen a la inmunidad innata, por lo tanto no generan memoria.
- Reconocen antígenos de manera independiente del CMH sin el procesamiento por medio de las CPA, es decir que no son estimulados por

péptidos o proteínas sino por carbohidratos, reconocen intermediarios fosforilados denominados fosfoantígenos (pirofosfato de hidroximetil-butenilo, pirofosfato de bromohidrina, pirofosfato de isopentenilo), reaccionan frente a patógenos como el *Micobacterium tuberculosis* y el *Plasmodium falciparum*.

- En circulación se encuentran en una concentración de 5 % y en mucosa intestinal y en bazo en un 10 %
- En su proceso de maduración no están sujetos a la selección positiva y negativa en el timo. Poseen alguna diversidad en el receptor TCR que proviene del uso de diversos fragmentos V y D y de su manera diferente de unir dichos fragmentos. Al tener una diversidad limitada, los linfocitos $T\gamma\delta$ reconocen antígenos que comparten características comunes, semejante al reconocimiento que realizan los receptores de la inmunidad innata como los tipo Toll.
- Son linfocitos que tienen en su membrana receptor CD3; más del 80 % carecen de receptor para la quimioquina CCR7 que les impide ingresar al tejido linfoide secundario; expresan receptor para CCR5 y receptores para citoquinas proinflamatorias lo que les permite ingresar a tejidos infectados.
- Son capaces de sintetizar citoquinas proinflamatorias como el IFN gama y el FNT alfa y una vez se ha eliminado el patógeno, interviene en la reparación de tejido mediante la producción de Factor de Crecimiento de Fibroblasto.
- Tienen actividad citolítica al producir un péptido antimicrobiano denominado granulisina.
- Refuerzan la acción de la inmunidad celular ya que cuando están maduras son células presentadoras de antígeno porque expresan CMH Clase II, moléculas coestimuladoras B7, ligandos de CD40 y aumenta la expresión de CMH Clase I.

3.2. RESPUESTA INMUNE HUMORAL ESPECÍFICA

Este tipo de respuesta está dirigida por los linfocitos B con la producción de anticuerpos altamente específicos para el antígeno que estimuló su producción.

3.2.1. LINFOCITOS B

Los linfocitos B son células producidas y maduras en la médula ósea y son los responsables de dirigir la inmunidad humoral específica al producir

anticuerpos o inmunoglobulinas (Igs) y además, son células presentadoras de antígeno. Una diferencia importante entre los linfocitos T y B se encuentra en el tipo de antígeno que reconocen. Los linfocitos B pueden reconocer moléculas solubles, no particularizadas y patógenos intactos por medio de su receptor BCR mientras que los linfocitos T reconocen péptidos restringidos por el CMH. Los linfocitos B son células mononucleares, redondeadas, pequeñas de 6 a 15 μm de diámetro y núcleo rico en heterocromatina. Se encuentran en circulación, en ganglios linfáticos, pulpa blanca del bazo y en tejido linfoide asociado a las mucosas. Tienen receptores de membrana como el Receptor de la Célula B (BCR), el receptor CD24, CD21 y, en menor proporción, el CD45. De los linfocitos B existen dos subtipos, los linfocitos B1 o timoindependientes (B1a y B1b) y los linfocitos B2 o timodependientes que generan memoria para reaccionar contra el antígeno en un segundo contacto.

3.2.1.1. MADURACIÓN DEL LINAJE B

El desarrollo de las células B sucede a partir de las células madres hematopoyéticas que dan origen a células linfoides tanto para T como para B. La célula precursora para los linfocitos B (proB, preB) inician con el reordenamiento de genes de inmunoglobulina M que permite la expresión de receptores diversos compuestos por las cadenas pesadas μ y livianas κ y λ . Posteriormente, se asocia con las cadenas $\text{Ig}\alpha$ e $\text{Ig}\beta$ para conformar el receptor del linfocito B (BCR), para continuar con su proceso de maduración.

El linfocito B realiza una selección negativa que impide el reconocimiento de lo propio por parte de los receptores celulares, esto con el fin de no permitir la circulación de linfocitos autorreactivos. Este proceso se realiza cuando el linfocito B reconoce el antígeno propio, este genera señales negativas dentro de la célula que desactiva el linfocito B o activa el mecanismo de apoptosis impidiendo la maduración de linfocitos B autorreactivos. Esta selección negativa la realizan 75 % de la población de linfocitos B que están en proceso de maduración.

Posteriormente, los linfocitos B autotolerantes que no reaccionan con un autoantígeno, hacen que se inicie la transcripción de la cadena δ para que junto con la IgM se expresen en la membrana el receptor IgD para realizar la selección positiva, donde los linfocitos B inmaduros deben competir por los sitios foliculares de los órganos linfáticos secundarios, donde completan su desarrollo a linfocitos B maduros. Estos linfocitos recirculan a órganos linfoidesecundarios a través de la linfa y también por circulación sanguínea en busca de patógenos donde sus antígenos se unen a los receptores del linfocito B (BCR).

A nivel genético, en la maduración del linfocito B se realiza reordenamiento y expresión de genes de las cadenas livianas y pesadas de las inmunoglobulinas

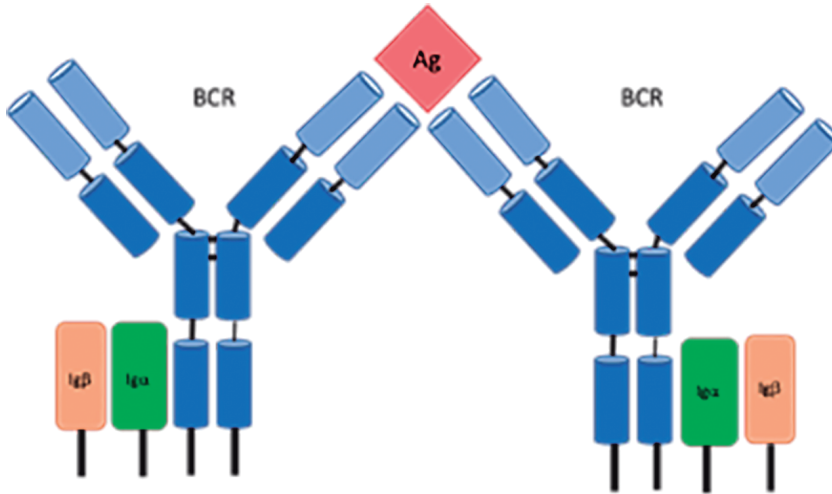
a medida que recibe estímulos con antígenos timodependientes, esto le permite progresar en su maduración, momento en que la clase predominante de anticuerpos cambia de IgM a IgG, IgA o IgE ya que hay una represión del gen de la cadena constante. Una vez reconocen el antígeno, gracias a las citoquinas producidas por Th2, el linfocito B expresa receptores que le permiten migrar a los tejidos linfoides secundarios que le proporcionan el microambiente para expandirse y proliferar y se tornan específicos para el antígeno con la capacidad de producir anticuerpos con diferente función biológica, pero con la misma especificidad para el epítipo; por último, se transforman en células plasmáticas productoras de los anticuerpos y en células de memoria altamente específicas y efectivas contra el patógeno en un segundo contacto.

La modificación de respuesta primaria a secundaria se basa no solo en el tipo de anticuerpo predominante (primaria IgM, secundaria IgG, IgA o IgE) sino también por el proceso continuo de maduración. Esto resulta por la producción, en la respuesta primaria, de anticuerpos de baja afinidad y en la secundaria o de memoria con anticuerpos de alta afinidad, además, hay mutaciones de la región variable, tanto de la cadena pesada como de la liviana, con capacidad de reconocer su antígeno específico.

3.2.1.2. RECEPTOR DE LA CÉLULA B (BCR)

Los receptores que expresa el linfocito B en su membrana son el CD5, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD35, CD38, CD40/CD40L, CD45, CD72, CMH Clase I y Clase II, moléculas de adhesión LFA-1 e ICAM-1 y el Receptor de la Célula B (BCR). El BCR consta de una IgM monomérica que capta el antígeno (proteína, carbohidrato, toxinas bacterianas, proteínas solubles, lipoproteínas solubles, ácidos nucleicos) en su región variable, pero no logra traducir señales intracitoplasmáticas, función que sí realizan las dos moléculas accesorias denominadas $Ig\alpha$ (CD79a) e $Ig\beta$ (CD79b), las cuales tienen un dominio extracelular de tipo Ig y colas intracitoplasmáticas de 61 a.a para la $Ig\alpha$ y 48 a.a. para la $Ig\beta$, además que tienen una función similar al CD3 del linfocito T y es realizar la señalización intracelular cuando el linfocito B reconoce el antígeno (**figura 3.7**).

Figura 3.7. Receptor BCR compuesto de una IgM monomérica transmembranal y dos correceptores Iga (CD79a) e Igβ (CD79b) que activa al LB cuando dos BCR reconocen entrecruzadamente el antígeno



Nota. Elaboración propia.

Sobre la membrana también se expresa la IgD que tiene como función impedir que el LB se haga autotolerante frente al antígeno reconocido por la IgM. Se cree que la tolerancia se da en la vida fetal, tolera los antígenos propios al no poseer la IgD de membrana.

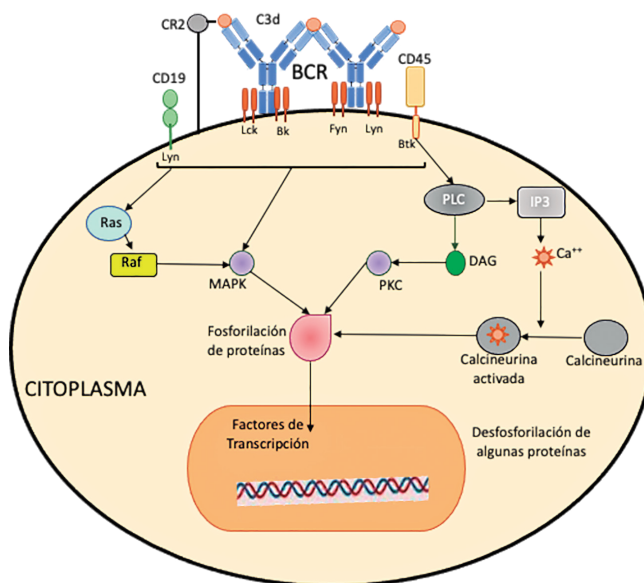
Cuando dos BCR hacen entrecruzamiento con el mismo antígeno (**figura 3.7**), se produce un cambio conformacional de la fracción constante (Fc) de la Ig, los correceptores CD79 reconocen este cambio y se inicia la fosforilación del segmento intracelular rico en tirosina (ITAM), que junto con las señales producidas por los receptores CD21 (ligando para iC3b), receptores de citoquinas y la interacción de CD40 y su ligando, realizan una serie de reacciones bioquímicas en cascada para entrar en proceso de activación. Inicialmente hay fosforilaciones y desfosforilaciones realizadas por las enzimas como fosfatasas (CD45) y quinasas (Fyn, Lyn, Lck, Btk, Syk, PI3K) que llevan a la activación de la fosfolipasa C (FLC). La FLC se hidroliza y genera diacilglicerol (DAG) que activa la proteinkinasa C (PKC) e inositol trifosfato (IP3) que activa los canales de calcio de la membrana plasmática produciendo incremento de estos iones en el citoplasma lo que causa activación de la calcineurina. Continúan las fosforilaciones por quinasas (PKC, Raf, Ras, MAPK) y fosfatasas mediadas por la calcineurina, dando como resultado la activación de factores de transcripción (Fos, JunB y el Factor Nuclear $\kappa\beta$ NF $\kappa\beta$) que se traslocan al núcleo del LB,

lo que resulta en la expresión de genes productores de la respuesta efectora del LB. Los LB requieren de otros estímulos como de la molécula del sistema de complemento C3d que, junto con CD19 y CD81, refuerza la fosforilación de las tirosinas en el proceso de señalización para una eficiente producción de anticuerpos (**figura 3.8**).

En el LB se activan los genes para la mitosis al dejar su estado de reposo G0 a G1, los genes para la producción de Igs, hay incremento en la síntesis y expresión de CMH Clase II y de receptores de citoquinas. En los órganos linfoides secundarios estos LB pueden migrar a áreas foliculares para formar centros germinales donde hacen mutación somática de los genes de las Ig para dar el cambio de isotipo, se diferencian en células plasmáticas productoras de anticuerpos y además generar LB de memoria.

Por otra parte, cuando el LB es célula presentadora de antígeno, el BCR permite la endocitosis del antígeno con el fin de degradarlo en endosomas y poder enlazar los péptidos a las moléculas Clase II para poderlo presentar y para ello es necesario el receptor CD40 en el LB y la expresión del CD40L en el LTh.

Figura 3.8. Señalización del receptor del linfocito B (BCR). El estímulo entrecruzado del antígeno con el BCR es traducido por las moléculas accesorias CD79 mediante una serie de reacciones bioquímicas de tipo enzimático para la liberación de los factores de transcripción ($NF\kappa\beta$) y puedan ingresar al núcleo y activen los genes para la síntesis de proteínas (Igs)



Nota. Elaboración propia.

3.2.1.3. *LINFOCITO B1*

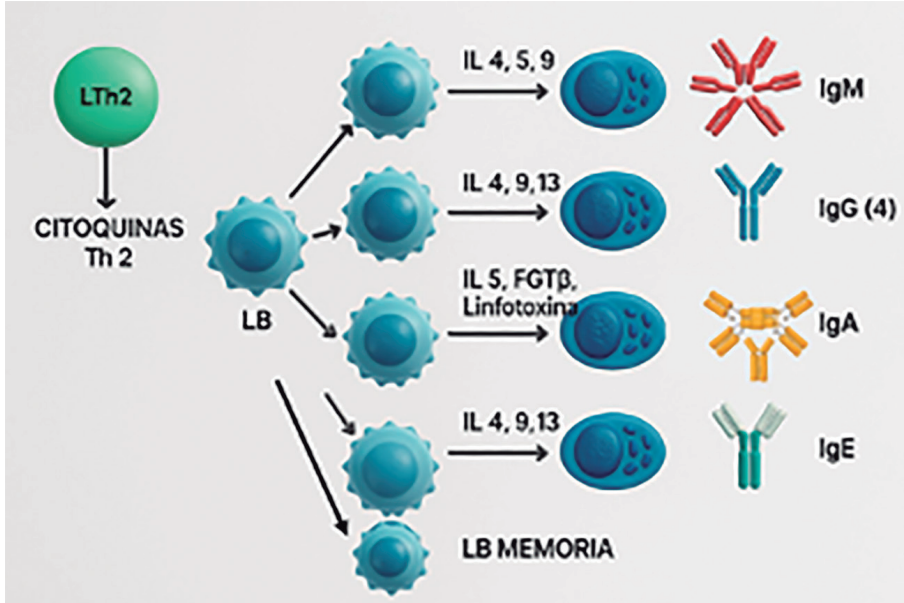
Cuando el tipo de antígeno que está activando la respuesta inmune es un lipopolisacárido se denomina antígeno timoindependiente (TI) tipo 1 o si son carbohidratos, polisacáridos o proteínas de alta densidad en la membrana de los microorganismos, se denominan antígenos timoindependientes (TI) tipo 2. Estos antígenos son reconocidos por los LB1 que producen IgM sin la intervención de las citoquinas producidas por los LTh. Sin embargo, en el caso de los antígenos TI-1, se requiere la intervención de receptores de la inmunidad innata como los TLR, los cuales refuerzan la señalización para que se produzca IgM anti LPS. Como ejemplo tenemos: por acción de los LPS interviene el TLR4, si es ADN bacteriano interviene el TLR 9. Los antígenos TI-2 forman enlaces entrecruzados con el BCR y sus correceptores, lo cual no requiere del refuerzo de otros receptores para la señalización intracelular para la producción solamente de IgM. Estos LB1 no hacen cambio de isotipo debido a que no hay producción de citoquinas por parte de los LTh ya que reconocen péptidos restringidos por el CMH y por este tipo de estímulo, hay síntesis de citoquinas por el LTh; no hay hipermutación somática por tanto no hay incremento de la afinidad de los anticuerpos producidos, pertenecen a la inmunidad innata, es decir no generan memoria y se encuentran en un mayor porcentaje en los epitelios de las mucosas del organismo.

3.2.1.4. *LINFOCITOS B2*

Cuando las proteínas de un patógeno son particularizadas y presentadas en péptidos unidos al CMH Clase II al linfocito Th en los órganos linfoides secundarios, como respuesta, el LTh produce citoquinas como la IL-4 que promueven la diferenciación en LTh2, el cual produce citoquinas que estimulan a LB vírgenes a diferenciarse en células plasmáticas específicas para el antígeno y producir los anticuerpos, este tipo de LB son los timodependientes o linfocitos B2 (**figura 3.9**).

Para dar una respuesta efectora por parte de los LB se requiere de la activación de los LTh y LB con el mismo antígeno, contacto físico entre ellos, presentación del antígeno por parte del LB al LTh, activación del LTh y con las citoquinas que este produce, da como resultado la activación del LB para producir anticuerpos.

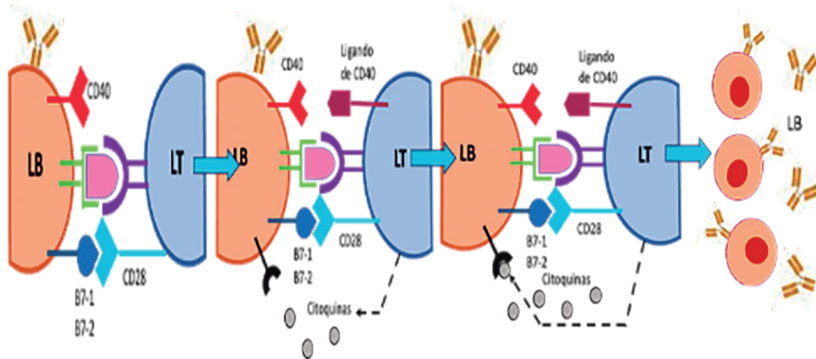
Figura 3.9. Respuesta efectora del linfocitos B para transformarse en célula plasmática productora de anticuerpos y respuesta de memoria



Nota. Imagen generada por inteligencia artificial a través de ChatGPT. OpenAI, 2025 <https://chat.openai.com>

Cuando el LB le presenta péptidos en el contexto del CMH, en esta interacción física entre el LB y LT, es importante la comunicación por medio del receptor CD40 en el LB y su ligando CD40L en la membrana del LTh, y del B7 en el LB con su ligando CD28 por parte del LTh. Como respuesta a esta comunicación celular se producen citoquinas como la IL-2, IL-4 e IL-5 que estimulan la proliferación del LB, la IL-6 actúa como factor de crecimiento de los LB secretores de anticuerpos ya diferenciados y favorecen el cambio de isotipo de las cadenas pesadas (**figura 3.10**).

Figura 3.10. *Mecanismos de activación del linfocito B mediante la función efectora de los linfocitos T ayudadores. A: presentación de CMH-péptidos proteicos por parte del LB al LTh. B: el LTh se activa, expresa el receptor CD40 L y sintetiza citoquinas. C: el LB se activa por las citoquinas producidas por LTh. D: el LB prolifera y se diferencia para convertirse en célula plasmática*



Nota. Elaboración propia.

Los LB activados proliferan, reordenan su genoma para producir en cada clon un isotipo de anticuerpo con la región Fab específica para el mismo antígeno. Parte de los LB que se han multiplicado como respuesta al estímulo antigénico y a las citoquinas producidas por los LTh, se diferencian en células plasmáticas productoras de los Acs que dan la respuesta efectora del LB y en células de memoria (**figura 3.9**).

Las células plasmáticas tienen características morfofuncionales que las diferencian del LB, como no presentar Igs de membrana, aumentan su tamaño con un prominente citoplasma, se desarrolla el retículo endoplásmico y el aparato de Golgi para albergar múltiples ribosomas, no se encuentran en circulación sanguínea ni linfática, sino que se ubican en la médula del ganglio linfático, en la pulpa roja del bazo y en la médula ósea. Sobreviven poco tiempo, carecen de capacidad mitótica y mueren por apoptosis una vez han cumplido su función. La morfología de las células plasmáticas en relación con el tamaño del diámetro varía de 15 a 30 μm , poseen un citoplasma abundante y basófilo, con núcleo redondo u ovalado con cromatina densamente condensada, excéntrico y pequeño.

La otra parte de los LB que proliferaron, se convierten en células B de memoria específicas para el antígeno y pueden mantenerse en estado de reposo (G0) para sobrevivir por periodos largos de tiempo (20 a 30 años). Estos linfocitos B de memoria permanecen en la corteza de los ganglios linfáticos, otros circulan para ubicarse en otros órganos linfoides secundarios. A diferencia de los LB vírgenes, los LB de memoria poseen receptores de alta afinidad por el antígeno y moléculas

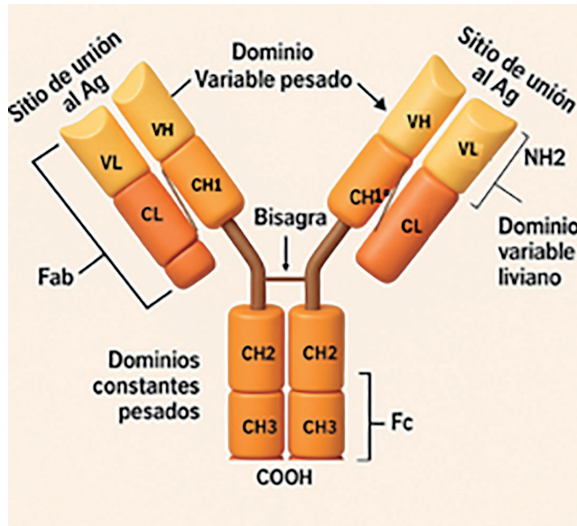
de Ig. Cuando se produce la respuesta inmune secundaria (LB de memoria) se requiere de la producción de citoquinas por parte del LTh, se incrementa la maduración de la afinidad por el antígeno que debe ser de carácter proteico que es el tipo de antígeno que estimula los LTh.

3.2.2. ANTICUERPOS

Son glicoproteínas altamente específicas producidas por el linfocito B frente a un estímulo antigénico. Están compuestas por dos cadenas pesadas (H) de 55 kDa cada una y dos cadenas livianas (L) de 24 kDa cada una, unidas entre sí por puentes disulfuro; cada cadena –pesada y liviana– está dividida en región variable (VH y VL) y región constante (CL y CH). Las cadenas H y L están subdivididas en estructuras globulares unidas por puentes disulfuro denominadas dominios, cumplen las funciones biológicas del anticuerpo. En las cadenas livianas están los dominios VL y CL; y en las cadenas pesadas están los dos dominios de la región variable VH y en la región constante los dominios CH1, CH2, CH3 y en algunos Acs hay un CH4 (**figura 3.11**). Dentro de cada dominio de la región variable, están tres regiones llamada región hipervariable compuesta por tres segmentos CDR1, CDR2 y CDR3. La función del dominio CH2 es fijar las proteínas del sistema de complemento; cuando la IgG marca el microorganismo (opsonización), los receptores de los fagocitos se unen al dominio CH3 del Ac; las células de la placenta, específicamente el trofoblasto, tiene receptores para el dominio CH3 de la IgG lo que permite el traspaso placentario de la IgG materna al feto; la IgD se adhiere al linfocito B por medio del dominio CH3. El dominio CH4 en la IgE permite la unión con los receptores de los mastocitos y en la IgM activa el complemento.

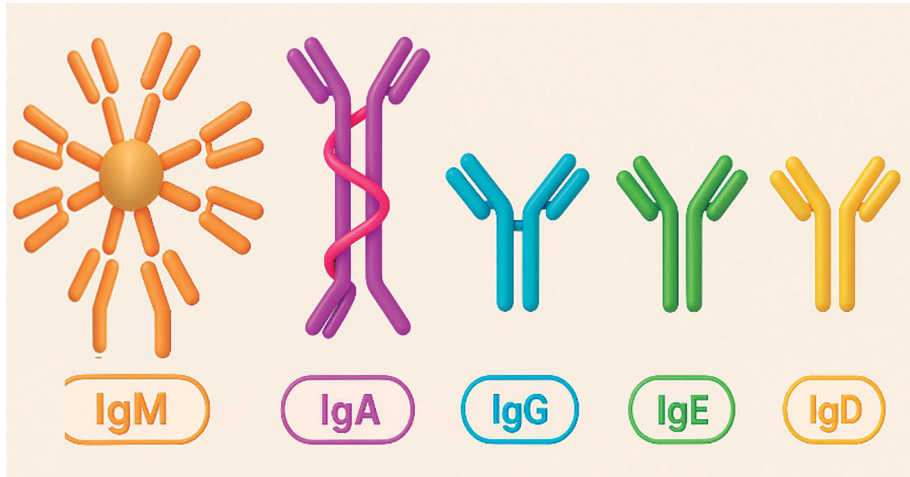
Mediante el uso de enzimas como la papaína o la tripsina se pueden romper los puentes disulfuro de la bisagra y generar dos fragmentos de anticuerpos, la parte superior que es el fragmento de unión al antígeno (*Fragment antigen binding*) o región Fab, queda conformada por los dominios VL y CL de la cadena liviana y por los dominios VH y CH1 de la cadena pesada. La cola del anticuerpo resultante de la división enzimática se denomina fragmento cristalizante (Fc) el cual cumple funciones como la activación de complemento, unión con los receptores de las de la superficie celular (**figura 3.11**). Los puentes disulfuro que unen las regiones constantes de las cadenas pesadas se denominan bisagra o gozne, que tienen como función la movilidad de la región Fab, que facilita reconocer y unir el antígeno en la región variable.

Figura 3.11. Estructura de un anticuerpo: dos cadenas pesadas (H), dos cadenas livianas (L) unidas por puentes disulfuro; dominios variable (VH, VL) los cuales conforman el sitio de unión con el antígeno; dominios constantes (CL, CH1, CH2, CH3) que realizan las funciones biológicas del anticuerpo; bisagra que permite la movilidad de la región Fab (Fragmento de unión al antígeno); fragmento cristalizante (Fc)



Nota. Imagen generada por inteligencia artificial a través de ChatGPT. OpenAI, 2025 <https://chat.openai.com>

Los anticuerpos tienen diversas formas de presentación, en monómero, dímero y pentámero. Los anticuerpos que son monómeros son IgG y sus cuatro subclases que se diferencian entre sí por el número y posición de los puentes disulfuro, la IgA1, IgE e IgD; en dímero la IgA2 y en pentámero la IgM sérica (**figura 3.12**).

Figura 3.12. Estructura de los anticuerpos en pentámero, dímero y monómero

Nota. Imagen generada por inteligencia artificial a través de ChatGPT. OpenAI, 2025 <https://chat.openai.com>

El Isotipo de un Ac se encuentra en la región constante de la cadena pesada de cada Ig. Los linfocitos B tienen la capacidad de sintetizar cinco tipos de isotipos, por medio del proceso de recombinación de cambio de clase, esto permite la síntesis de cinco tipos de Acs así: α para IgA, δ para IgD, ϵ para IgE, γ para IgG y μ para IgM. Además, hay dos tipos de cadenas livianas κ y λ .

El idiotipo es el sitio de unión con el antígeno que se encuentra en la región variable de las cadenas pesada y liviana y es el sitio que le otorga la especificidad al Ac. La producción del idiotipo depende del reordenamiento genético, de la diversidad en la unión de cada uno de sus fragmentos, de los P-nucleótidos, los N-nucleótidos y las hipermutaciones somáticas que realiza en el genoma del LB para sintetizar un anticuerpo diferente y altamente específico.

El alotipo se define como la porción del anticuerpo que se comparte dentro de un organismo de la misma especie, pero genéticamente diferente; esta región se encuentra en la cadena pesada región constante de cada Ig.

3.2.2.1. FUNCIONES DE LOS ANTICUERPOS

Los anticuerpos tienen varias funciones que contribuyen con la eliminación del patógeno:

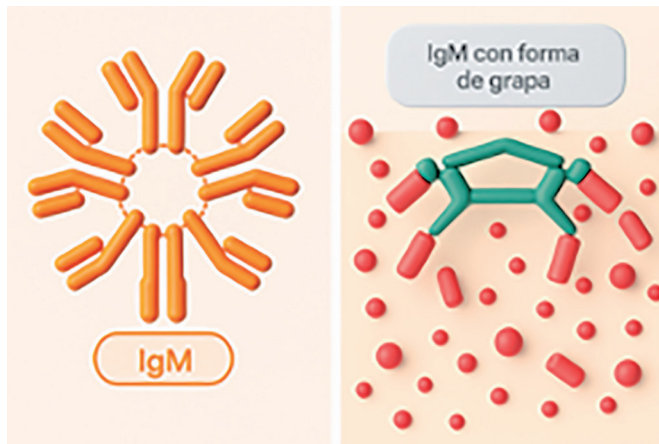
- Reconocimiento del antígeno para activar funciones biológicas que faciliten la eliminación del mismo.
- La acción neutralizante se produce cuando un anticuerpo reconoce virus o toxinas y esta unión Ag-Ac ocupa el sitio activo del patógeno lo cual le impide unirse a los receptores celulares ya que son antígenos endógenos, que requieren estar dentro de una célula para ejercer su efecto patógeno.
- En la función de citotoxicidad, como es el caso de las células infectadas por un virus, el Ac reconoce la partícula viral expresada en la membrana de la célula blanco y las NK se unen a este complejo mediante receptores Fcγ para liberar perforinas y causar la muerte de la célula infectada, a este proceso se le denomina citotoxicidad mediada por un Ac.
- Oponización, proceso de marcaje del microorganismo por medio de moléculas de anticuerpo para ejercer una función biológica sobre el agente. Como en el caso de la IgG, facilita la fagocitosis, con la IgE activa la desgranulación de mastocitos y basófilos implicados en la inflamación y con los eosinófilos degranula para la eliminación de parásitos.
- Participación en reacciones de hipersensibilidad inmediata a través de la IgE cuando se une a mastocitos y basófilos exacerbando las reacciones alérgicas.
- Cuando hay un complejo Ag-Ac la vía clásica del complemento se activa gracias a la acción de la IgG1, 2 y 3 y la IgM. En el caso de la vía alterna, se activa por la intervención de la IgG4 y la IgA1.
- Proporciona inmunidad pasiva al feto mediante el traspaso placentario de la IgG materna al feto y de la IgA en la leche materna, permitiendo que el bebé se defienda de agentes agresores mientras su propia respuesta inmune llega a niveles más adecuados.
- Inmoviliza bacterias que tengan flagelo, que no causa necesariamente la muerte del patógeno, pero impide su diseminación.
- Cuando se activa el sistema de complemento por vía clásica o vía alterna, se libera la fracción C5a que es quimiotáctica para los PMN.

3.2.2.2. *CARACTERÍSTICAS DE LOS ACS O IGS*

Inmunoglobulina M (IgM): es el anticuerpo responsable de la respuesta primaria frente a un antígeno, por su peso y tamaño se encuentra en circulación, está conformada por cinco monómeros unidos por una cadena J que los fija en la porción de carbohidrato de cada monómero, formando un pentámero. En la vía clásica de complemento es la que más activa esta vía por tener diez cadenas

constantes pesadas. Cuando el pentámero se encuentra en circulación su forma es plana, cuando se fija al antígeno la IgM se dobla hacia la membrana del patógeno en forma de grapa, lo que facilita la activación de complemento por vía clásica (**figura 3.13**) (**tabla 3.1**).

Figura 3.13. Disposición estructural de la IgM cuando reconoce un Ag se dobla en forma de grapa y cuando está en circulación su estructura es plana



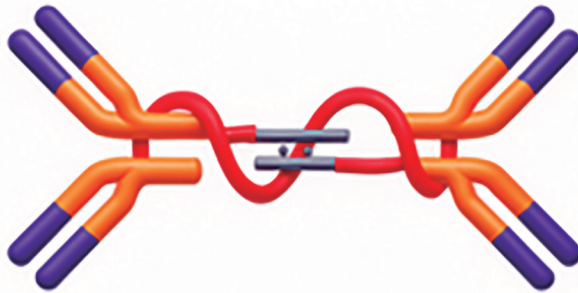
Nota. Imagen generada por inteligencia artificial a través de ChatGPT. OpenAI, 2025 <https://chat.openai.com>

Inmunoglobulina G (IgG): de las proteínas plasmáticas este Ac corresponde al 85 % del total de estas proteínas, es la encargada de la memoria para agredir el patógeno de manera eficaz en un segundo contacto, activa el complemento por vía clásica en su segmento CH₂, por su tamaño y peso se puede encontrar en tejidos, posee cuatro subclases siendo la IgG3 la que más fija complemento por vía clásica, a la que le siguen la IgG1 y por último la IgG2, la IgG4 activa complemento por vía alterna. Se ha visto que la IgG como anticuerpo natural en humanos, específicamente la IgG antialfagalactosa mejora la defensa contra infecciones bacterianas extracelulares por su potente acción al activar el sistema de complemento (**tabla 3.1**)

Inmunoglobulina A (IgA): presenta dos subclases, la IgA1 que se encuentra en circulación, activa el complemento por vía alterna y es un monómero; la IgA2 que se encuentra en mucosas urinarias e intestinales y se presenta en dímero. Cuando se activa la síntesis de la IgA2 esta sale del linfocito B en dímero (**figura 3.14**), donde cada monómero está unido por medio de la cadena J, ingresa a las células epiteliales de las mucosas, cuando transita por esta célula, la célula

epitelial le proporciona al dímero una molécula que es el componente secretor cuya función es evitar la proteólisis enzimática que puede suceder por las enzimas encontradas en las secreciones de la mucosa; el dímero y el componente secretor salen a la luz de la mucosa con el fin de ser una barrera altamente específica para el patógeno que estimuló su producción ya que evita la adhesión a la mucosa. Tiene acción neutralizante para toxinas y virus y proporciona inmunidad pasiva al bebé recién nacido con las tomas de leche materna (**tabla 3.1**).

Figura 3.14. *IgA en dímero unidos por la cadena J y para evitar la degradación por proteasas de la mucosa, está el componente secretor que rodea el dímero*



Nota. Imagen generada por inteligencia artificial a través de ChatGPT. OpenAI, 2025 <https://chat.openai.com>

Inmunoglobulina E (IgE): en circulación se encuentra en muy bajas concentraciones, está en mucosas respiratorias y digestivas; actúa por estímulos antigénicos de helmintos nemátodos y tremátodos y por alérgenos en personas susceptibles a producir alergias; participa activamente en la inflamación al activar los mastocitos y ejerce acción citotóxica contra parásitos al fijarse a la membrana de los eosinófilos. En personas con alergias a los alimentos, se desencadenan reacciones agudas por la activación de los mastocitos y basófilos que liberan mediadores de la inflamación al fijar la IgE al receptor sobre las membranas de estas células (**tabla 3.1**).

Inmunoglobulina D (IgD): se encuentran en la mucosa del aparato respiratorio alto, se presenta en bajas concentraciones en el plasma, tienen afinidad con los basófilos y mastocitos, estimulan en el linfocito B la producción de IL4 e IL13, contribuyen en la síntesis de catelicidina, es un indicador de madurez del LB capaz de transformarse en célula plasmática productora de Acs (**tabla 3.1**).

3.2.2.3. RECOMBINACIÓN VDJ

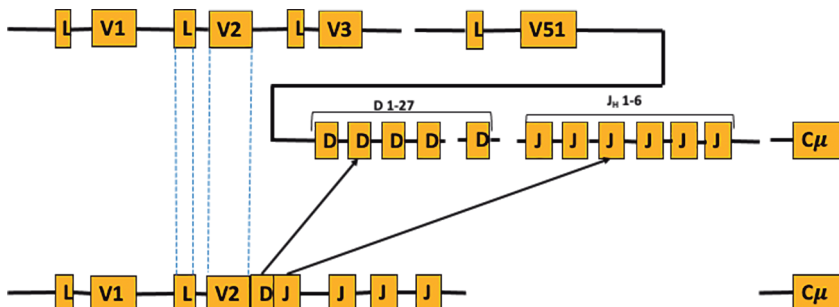
Las regiones variables de los anticuerpos tanto de la cadena pesada como de la liviana son creadas por una recombinación genética denominada V(D)J de la cadena pesada y VJ de la cadena liviana, donde todas las posibles combinaciones de diferentes segmentos genéticos variables (V), de diversidad (D) y de unión (J) pueden dar como resultado millones de anticuerpos diferentes.

Los genes de los anticuerpos se encuentran en tres loci de genes en cromosomas distintos: el gen de la cadena pesada (H) se encuentra en el cromosoma 14, el gen para la cadena liviana λ en el cromosoma 2 y para la cadena liviana κ se encuentra en el cromosoma 22. En cada uno de los loci existe un amplio número de segmentos de genes que se expresan fenotípicamente (exones) separados por segmentos que no lo hacen (intrones) pero que controlan los procesos de recombinación. Durante el desarrollo y maduración de los LB sucede una serie de eventos de recombinación en el ADN para la región variable (V) de las cadenas pesada H y liviana L.

La diversidad se basa en la generación de segmentos V que depende de muchos genes V germinales diferentes en los loci IGK, IGL e IGH, de la variedad de la recombinación entre los segmentos V-D-J, la inserción de nucleótidos no germinales (N) en cada unión, las combinaciones variadas de las cadenas H y L y por último, la mutación somática de los genes recombinados que codifican dominios HL y VL (**figura 3.15**).

Los genes activadores de recombinación (RAG-1) y (RAG-2), controlan la recombinación de los genes en el LB. La enzima desoxinucleotidil transferasa terminal (Tdt) es la enzima encargada de adicionar nucleótidos a los extremos expuestos del ADN durante la recombinación, estos nucleótidos se incorporan en las uniones entre los segmentos V,D y J. Por estos procesos de reordenamiento se sabe que pueden existir al menos 1.016 variantes posibles de cada anticuerpo.

Figura 3.15. *Recombinación VDJ en el locus de la IGH humano que permite la diversidad en la síntesis de los anticuerpos*

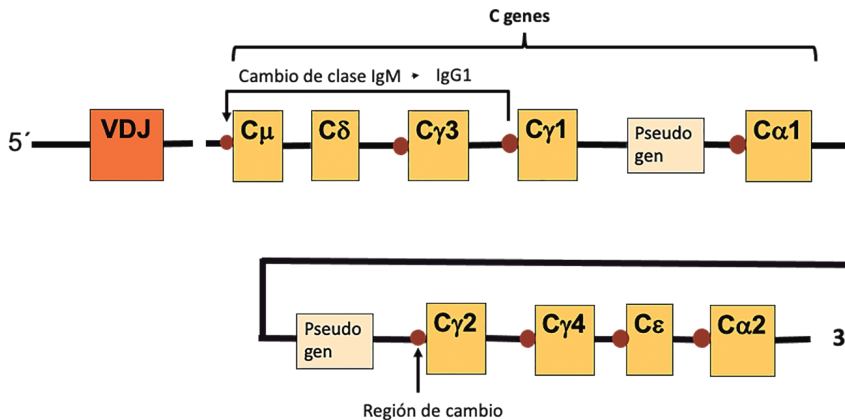


Nota: Elaboración propia.

La hipermutación somática consiste en los cambios que se dan en el ADN durante el ciclo de vida del LB, allí se producen mutaciones puntuales que suceden en los genes VJ y VDJ recombinados y están asociados con el cambio de clase de IgM a IgG1 con la misma especificidad antigénica. El cambio de clase de Ac está modulado por las citoquinas que produce el LTh. Como ejemplo tenemos: la IL-4 promueve el cambio de IgG4 a IgE, la IL-5 promueve el cambio a IgA (figura 3.16).

Para que se produzca la síntesis de los anticuerpos, los segmentos del ADN que codifican para la recombinación VDJ de la cadena pesada, VJ de la liviana y C de la región constante se transcriben en el RNA primario que aún posee intrones, posteriormente en la transcripción se eliminan los intrones, se produce el ARNm que se dirige hacia el retículo endoplásmico (RE). Cada ARN tiene una secuencia líder que es traducida ensamblando los aminoácidos que son glicosilados en el RE y almacenados en el aparato de Golgi, las cadenas pesadas y livianas son polimerizadas y la Ig secretada se libera por exocitosis.

Figura 3.16. Cambio de clase en el locus del gen *IGH C* humano en la región constante lo cual permite la producción de cada isotipo de Ig



Nota: Elaboración propia

En conclusión, la respuesta inmune humoral específica a cargo de los linfocitos B y los anticuerpos se caracteriza por:

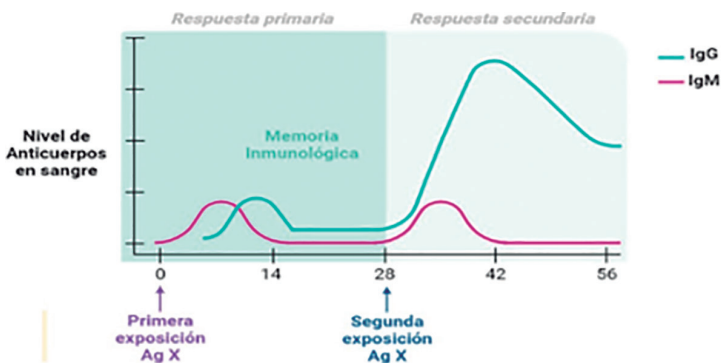
- Las proteínas que actúan como antígeno son dependientes de la acción de los linfocitos T (Ags timodependientes) y no se pueden producir anticuerpos sin la acción de las citoquinas producidas por los linfocitos Th.

- Los Ags timodependientes inducen una respuesta más especializada, se producen todos los isotipos de anticuerpos IgG, IgM, IgA, IgE, son Acs de alta afinidad y por parte de la IgG produce memoria contra el antígeno de larga vida.
- Los lipopolisacáridos, carbohidratos y lípidos inducen la producción de anticuerpos sin la acción de los linfocitos Th (Ags timoindpendientes).
- Con los antígenos timoindpendientes se producen IgM ya que no hay cambio de isotipo.
- La respuesta secundaria de desarrolla más rápido que la primaria y produce mayores cantidades de anticuerpos
- La exposición repetida del antígeno hace que se incremente el cambio de inmunoglobulina, lo que incrementa la afinidad, favorece la eliminación del patógeno y combate con mayor eficiencia infecciones persistentes o recurrentes.

3.2.2.4. RESPUESTA INMUNE PRIMARIA Y SECUNDARIA

La respuesta inmune primaria se desencadena por estímulo de cualquier tipo de inmunógeno, habitualmente dura de 5 a 10 días, predomina la síntesis de IgM más que la IgG y se requieren dosis relativamente altas del antígeno. En la respuesta inmune secundaria que reacciona frente a antígenos proteicos, a dosis bajas de antígeno, la respuesta es superior a la primaria, más rápida, es dominada por altos títulos de IgG que tienen mayor afinidad por el antígeno y dependiendo del estímulo hay presencia de IgA e IgE (figura 3.17).

Figura 3.17. Respuesta inmune primaria y secundaria: niveles de anticuerpos en relación con el tiempo de haber tenido contacto con el antígeno en primera y segunda exposición



Nota. Imagen generada por inteligencia artificial a través de ChatGPT. OpenAI, 2025 <https://chat.openai.com>

La respuesta inmune humoral primaria frente a antígenos timodependientes se diferencia cualitativa y cuantitativamente de la respuesta secundaria, ambas requieren de las señales que provienen del estímulo de epítipo unido al CMH Clase II y de las señales recibidas por las citoquinas que producen los macrófagos y los linfocitos Th.

En la respuesta primaria, el linfocito B reconoce la conformación del epítipo, que estimula al linfocito B a expresar receptores para citoquinas en la membrana celular. En este momento los macrófagos y linfocitos Th producen citoquinas como factor de necrosis tumoral (TNF), interluequinas 1 y 6, que estimulan a los linfocitos B a proliferar y a diferenciarse a células plasmáticas. En esta etapa se produce IgM de baja afinidad y se generan LB de memoria.

En la respuesta secundaria, los linfocitos B de memoria reconocen al epítipo y expresan receptores para un conjunto de citoquinas que estimulan sobre el linfocito B la producción con mayor predominio de IgG, que es más vigorosa y de mayor afinidad. En esta respuesta es de crucial importancia la presencia de linfocitos Th que han reconocido al antígeno y que a través de la liberación de citoquinas influyen en estos cambios cualitativos de la respuesta. Los efectos de estas citoquinas se resumen como proliferación linfocitaria, diferenciación a células plasmáticas, variación de isotipo y aumento de afinidad. Esta respuesta deja células B y Th de memoria.

3.3. TOLERANCIA INMUNOLÓGICA

Una de las características de la respuesta inmune es poder diferenciar entre lo propio y lo extraño, mantener esa tolerancia frente a los antígenos propios e igualmente poder atacar de manera eficaz los patógenos y células malignas. La pérdida de la tolerancia desencadena respuestas adversas para el organismo como infecciones, presencia de tumores o enfermedades autoinmunes. Para evitar esta autorreactividad los linfocitos T y B logran reconocer y tolerar los antígenos propios durante su etapa de desarrollo y maduración en el timo y médula ósea.

La tolerancia está direccionada por los linfocitos T, los cuales desarrollan una tolerancia central en el timo donde son eliminados los clones de linfocitos T autorreactivos. Una vez los linfocitos T culminan el proceso de maduración, salen a circulación donde son sometidos a una selección secundaria para mantener la tolerancia periférica. Así, los linfocitos T autorreactivos son regulados o adquieren anergia. La regulación entre la tolerancia central y periférica sucede por la ausencia de estimulación por parte de las células presentadoras de antígeno o por ausencia en la expresión de receptores de membrana. Por otra parte, los linfocitos T reguladores (LTreg) CD4⁺CD25⁺ tienen como función el papel de mantener la autotolerancia periférica y regular diferentes reacciones inmunológicas.

La autotolerancia periférica puede ser usada como un mecanismo de evasión de tumores para no ser agredidos por la respuesta inmune. La interrupción de la autotolerancia causada por procesos infecciosos o por influencias ambientales, puede contribuir al desarrollo de enfermedades autoinmunes.

Existen varios mecanismos que impiden que el sistema inmune reaccione contra células o tejidos propios del organismo, es el caso de las proteínas que existen sobre las membranas de las células y en circulación, las cuales tienen el papel de inhibir que se fije el sistema de complemento y lise las células propias del organismo, igualmente los componentes de la inmunidad innata tienen la capacidad de diferenciar componentes microbianos de los componentes celulares y proteicos del organismo humano.

La inmunidad adaptativa (linfocitos T y B) posee mecanismos que contribuyen a la tolerancia inmunitaria frente a lo propio como son:

- La selección negativa que sucede en la maduración de estas células en el timo y en la médula ósea: se eliminan linfocitos que poseen en su membrana receptores autorreactivos antes de salir a circulación como células maduras.
- La expresión de proteínas específicas de tejido en el timo: incrementa la acción de la tolerancia central adquirida en el timo y en la médula ósea, ya que estas proteínas participan en la selección negativa de clones autorreactivos.
- Acceso prohibido de los linfocitos T a algunos tejidos: hay secuestro de antígenos propios en sitios inmunológicamente privilegiados (encéfalo, ojos, testículo) que no permite la circulación linfocitaria a los mismos.
- Supresión de respuestas autoinmunes por acción de los linfocitos Treg: las células autorreactivas que escapan a la selección negativa en la tolerancia central e ingresan a la circulación son inducidas a un estado de anergia por acción de los LT reguladores.

REFERENCIAS

- ABBAS, A., LICHTMAN, A. and POBER, J. (2018). *Inmunología celular y molecular* (9 ed.). Elsevier. ISBN 84-8174-710-6.
- AUAD, J., CERUTTI, J., COOPER, L., AGUILAR, M. y LOZANO, A. (2020). Dinámica de la transferencia de inmunoglobulina G en el binomio madre-cría de llamas (*Lama glama*). *Rev Vet*, 31(1), 78-81. Doi: 10.30972/vet.3114638.

- BECERRIL, J. (2021). Vías de señalización intracelular: un enfoque hacia la fisiología y patología humana. *Med Int Méx.* 37(5), 766-780. Doi: 10.24245/mim.v37i5.3528.
- BERNTH J., LAURSEN, N., KJELDSSEN, R., Andersen, G., Jensenius, J., Skov, U., Thiel, S. (2020). Complement activation by human IgG antibodies to galactose-1,3 galactose. *Immunol*, 161(1), 66-79.. doi: 10.1111/imm.13229
- CENERETI, M., SAILLARD, M., ROMERO, P. and JANDUS, C. (2022). The era of cytotoxic CD4 T cells. *Front Immunol*, 13, 867189. Doi: 10.3389/fimmu.2022.867189.
- CERUTTI, A., CHEN, K. and CHORNY, A. (2022). Immunoglobulin responses at the mucosal interface. *Annu Rev Immunol*, 29, 273-93. Doi: 10.1146/annurev-immunol-031210-101317.
- CHI, X., LI, Y. and QUI, X. (2020). V(D)J recombination, somatic hypermutation and class switch recombination of immunoglobulins: mechanism and regulation. *Immunol*, 160(3), 233-247. Doi: 10.1111/imm.13176.
- CYSTER, J. and ALLEN, C. (2019). B Cell responses: cell interaction dynamics and decisions. *Cell*. 177(3), 524-540. Doi: 10.1016/j.cell.2019.03.016.
- DE SOUSA, P. and WOOF, J. (2019). IgA: structure, function and developability. *Antibodies*, 8(4), 57. Doi: 10.3390/antib8040057.
- GARCÍA, A., BLANCO, B. y HERNÁNDEZ, C. (2013). Generación de diversidad de los receptores de antígeno en linfocitos: validación del modelo de accesibilidad en el control de la recombinación V(D)J. *Immunol*, 32(2), 57-69. Doi: 10.1016/j.immuno.2012.07.003.
- GOLDSBY, R., KINDT, T., OSBORNE, B. y KUBY, J. (2004). *Inmunología* (5 ed.). McGraw Hill. ISBN 970-10-4710-9.
- IZQUIERDO, J., BONILLA, F., CAÑAS, C. y TOBÓN, J. (20124). Calcio, canales, señalización intracelular y autoinmunidad. *Reumatol Clin*, 10(1), 43-47. Doi: 10.1016/j.reuma.2013.05.00.
- KANAGARATHAM, C., ANSARI, Y., LEWIS, O. and OETTGEN, H (2020). IgE and IgG antibodies as regulators of mast cell and basophil functions in food allergy. *Front Immunol*, 11, 603050. Doi: 10.3389/fimmu.2020.603050.
- MA, H. and O'KENNEDY, R. (2015). The structure of Natural and Recombinant antibodies. *Methods Mol Biol*, 1348, 7-11. Doi: 10.1007/978-1-4939-2999-3_2.
- MALE, D. (2021). *Immunology an illustrated outline*. (6 ed.). CRC Press.
- MORATH, A. and SCHAMEL, W. (2020). α and $\gamma\delta$ T cell receptors: similar but different. *J Leuk Biol*, 107, 1045-1055. Doi: 10.1002/JLB.2MR1219-233R.

- MURPHY, K. y WEAVER, C. (2019). *Inmunología de Janeway*. Manual Moderno. ISBN 978-607-448-767-1.
- NAVARRETE, J., VERA, V., VILLAMIL, L. y RAMÍREZ, G. (2002). Producción de anticuerpos monoclonales contra proteínas de la nucleocápside una cepa de campo del virus de la Rinotraqueítis Bovina Infecciosa (IBR) y evaluación de su utilidad diagnóstica a través de la prueba ELISA. *Revista Colombiana de Biotecnología* 4(1), 114-120.
- NAVARRETE, J., RUIZ, A., MUÑOZ, C. y PINILLA, G. (2007). *Determinación de valores de referencia para la fagocitosis de polimorfonucleares neutrófilos usando la microtécnica de muerte intracelular de cándida*. Laboratorio Actual. Memorias Sexto Congreso Internacional Del Colegio Nacional de Bacteriólogos.
- PARHAM, P. (2011). *El sistema inmune*. Manual Moderno.
- PASETTO, A. and BUGGERT, M. (2022). T-cell repertoire characterization. *Methods Mol Biol*, 2574, 209-219. Doi: 10.1007/978-1-0716-2712-9_9.
- READ, K., POWELL, M., SREEKUMAR, B. and OESTREICH, K. (2019). In vitro differentiation of effector CD4+ T helper cell subsets. *Methods Mol Biol*, 1960, 75- 84. Doi: 10.1007/978-1-4939-9167-9_6.
- REGUEIRO, J., MARTÍNEZ, E., LÓPEZ, C., GONZÁLEZ, S., CORELL, A. (2022). *Inmunología, biología y patología del sistema inmune*. (5 ed.). Panamericana. ISBN 9788491104209.
- RIBATTI, D. (2015). Edelman's view on the discovery of antibodies. *Immunol Lett*. 164(2), 72-5. Doi: 10.1016/j.imlet.2015.02.005.
- RINCÓN, N., JARAMILLO, P. y LLANOS, C. (2017). Morfología e inmunofenotipo de las células plasmáticas en el mieloma múltiple. *Med y Lab*, 23(9-10), 443-458
- ROJAS, W., ANAYA, J. M., ARISTIZÁBAL, B., CANO, L. E., GÓMEZ, L. M. y LOPERA, D. (2017). *Inmunología de Rojas* (18 ed.). Editorial Corporación para Investigaciones Biológicas. ISBN 958907615-7
- SIACHOQUE, H., VALERO, O. e IGLESIAS, A. (2013). Tolerancia inmunológica, un recorrido en el tiempo: ¿cómo discriminar entre lo propio y lo extraño? *Rev Col Reumatol*, 20(4), 237-249. Doi: 10.1016/S0121-8123(13)70138-5
- STANFIELD, R., WILSON, I. (2014). Antibody Structure. *Microbiol Spectr*. 2(2):1-11. Doi: 10.1128/microbiolspec.AID-0012-2013
- TÉLLEZ, N., SIACHOQUE, J., SIACHOQUE, J., SIACHOQUE, M. y SIACHOQUE H. (2018). Activación de la célula T, alteraciones en el lupus eritematoso sistémico, una revisión narrativa. *Rev Col Reumatol*, 25(1), 38-54. Doi: 10.1016/j.rcreu.2017.07.002.

- WEIR, D. and STEWART, J. (2000). *Inmunología*. (3 ed.). Manual Moderno. ISBN 968-426-816-5.
- WOOTLA, B., DENIC, A. and RODRÍGUEZ, M. (2014). Polyclonal and monoclonal antibodies in clinic. *Methods Mol Biol*, 1060:79-110. Doi: 10.1007/978-1-62703-586-6_5.
- ZAMBRANO, S. (2007). *Inmunología básica y clínica*. McGraw Hill. ISBN 970-10-5513-6.

CAPÍTULO 4

FUNDAMENTOS INMUNOLÓGICOS DE PRUEBAS DE LABORATORIO

La inmunología se ha convertido en una ciencia transversal que ha permeado y enriquecido otras ciencias biológicas y químicas como la microbiología, la bioquímica, la genética, la medicina, la patología y la biología molecular, por mencionar algunas.

Inicialmente, la inmunología se enfocaba casi de manera exclusiva en la prevención de las enfermedades infecciosas mediante vacunación, posteriormente, la inclusión de reacciones serológicas se convirtió en un elemento con fines meramente diagnósticos; en la actualidad, no solo se busca descubrir nuevas pruebas específicas para cada enfermedad, sino también mejorar y, sobre todo, automatizar las técnicas existentes. Además, la inmunoquímica y la inmunobiología han aportado el conocimiento sobre la estructura de los antígenos, inmunoglobulinas, la química del complemento y otros componentes del sistema inmune, así como al estudio de las bases biológicas, genéticas y moleculares de la respuesta inmune.

Actualmente podemos clasificar las técnicas diagnósticas en: *i)* cuantificación y detección de anticuerpos o antígenos específicos mediante interacciones antígeno-anticuerpo, *ii)* detección, enumeración y fraccionamiento de células inmunocompetentes, *iii)* ensayos de inmunidad celular, *ic)* evaluación de los componentes del complemento y su función y *v)* inmunología de trasplantes.

4.1. CARACTERÍSTICAS DE LA REACCIÓN ANTÍGENO-ANTICUERPO (Ag-Ac)

La reacción Ag-Ac es una unión de naturaleza química con alto grado de especificidad, puede producirse *in vivo* e *in vitro*. En esta reacción interactúa una región limitada del Ag denominada epítipo que es reconocido por el parátipo, región que se encuentra ubicada en la porción variable del Ac; esta interacción sucede cuando las dos porciones tienen un acercamiento tal que la conformación de la superficie en uno de ellos se ensambla en la conformación de la superficie de la otra partícula. Las fuerzas que participan en la unión de estas dos moléculas

son enlaces no covalentes y por lo tanto son reacciones reversibles. Entre las interacciones moleculares están las electrostáticas, los puentes de hidrógeno y las fuerzas de Van der Waals. La reacción Ag-Ac tiene las siguientes propiedades:

- **Afinidad:** es la relación termodinámica de la fuerza de interacción entre el sitio de unión del Ac por un único epítipo y la suma de las fuerzas que atraen o rechazan los sitios de unión.
- **Avidez:** es la fuerza de unión entre un Ac multivalente con un Ag en las mismas condiciones. Esta se produce por la fuerza de interacción entre múltiples sitios de unión de un Ac y múltiples epítipos repetidos en un antígeno polivalente.
- **Especificidad:** es la capacidad que tienen el Ac para distinguir su ligando en el Ag diferenciándolo de otro similar en su estructura; esta unión es exacta y distingue diferencias mínimas en su estructura química. Por otra parte, la especificidad es la probabilidad de clasificar correctamente a los sanos o la fracción de los verdaderamente negativos.
- **Sensibilidad:** es la facultad que tiene una prueba diagnóstica de identificar los casos positivos como los realmente enfermos.
- **Espontaneidad:** es una reacción que no requiere energía adicional para que se produzca la unión.
- **Rapidez:** la interacción Ag-Ac in vitro sucede en dos etapas, la interacción primaria que no es visible y la interacción secundaria que se caracteriza por la aparición de un fenómeno visible (aglutina o precipita) dependiendo de su concentración y característica del Ag y del Ac. La velocidad de la primera etapa para reconocer Ag-Ac es de milésimas de segundo y depende del medio de difusión. La segunda etapa es más prolongada en su manifestación (precipitación, aglutinación, neutralización).
- **Reversibilidad:** por la naturaleza de las uniones entre Ag-Ac, esta característica depende de factores externos como la concentración de sus componentes, la temperatura de la reacción, el pH y la fuerza iónica del medio.

Las pruebas diagnósticas basadas en la detección de complejos Ag-Ac, permiten determinar los resultados positivos en pacientes enfermos y negativos en sanos. Por lo anterior, es muy importante tener en cuenta en las pruebas diagnósticas condiciones como la validez, la reproducibilidad y la seguridad; igualmente que sea sencillo de aplicar, aceptado por la población en general (paciente y sector salud), que tenga mínimos efectos adversos y económicamente sostenible.

En cuanto a la **validez**, está relacionada con la sensibilidad y especificidad diagnóstica, es decir, es la capacidad de una prueba de laboratorio para identificar correctamente al enfermo como enfermo y al sano como sano.

La **seguridad** en una prueba está determinada por los valores predictivos que dependen de los conceptos de sensibilidad y especificidad, que son los que dan la validez de una prueba diagnóstica para determinar un resultado concreto positivo o negativo en función del verdadero estado del paciente (sano o enfermo). El valor predictivo positivo es la probabilidad de padecer la enfermedad con un resultado positivo; el valor predictivo negativo es la probabilidad de que el individuo con un resultado negativo esté realmente sano.

La **reproducibilidad** en una prueba diagnóstica es la capacidad de un test de que sea replicado por otros profesionales con resultados consistentes y estables en condiciones experimentales similares.

Otro concepto de las pruebas de inmunodiagnóstico es si son de tipo directo o indirecto. Cuando se está buscando en la muestra la presencia de antígeno, se denomina prueba directa (inmunofluorescencia directa, por ejemplo); cuando en la muestra se determina la presencia de Acs, se considera una prueba indirecta (inmunofluorescencia indirecta).

4.2. TIPOS DE REACCIONES AG-AC

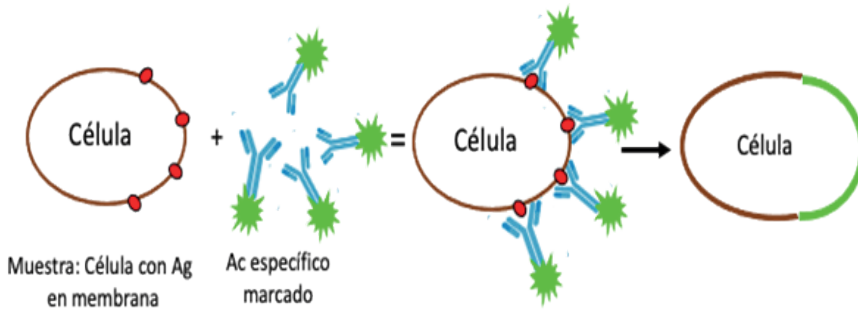
4.2.1. REACCIONES DE INTERACCIÓN PRIMARIA

La reacción Ag-Ac puede determinarse por procedimientos de interacción primaria en los que se mide directamente la cantidad de complejo Ag-Ac formado, tiene mayor sensibilidad (pg/ml) y requiere de un sistema revelador como en la inmunofluorescencia (fluorocromos conjugados), la ELISA (reacción colorimétrica enzima-sustrato), la quimioluminiscencia (reacción luminiscente enzima-luminol) y el radioinmunoensayo (RIA) (isótopos radioactivos).

4.2.1.1. INMUNOFLUORESCENCIA (IF)

Se determina la presencia del Ag o de Ac usando Acs fluorescentes mediante la unión química de compuestos orgánicos como el isotiocianato de fluoresceína (verde) o de rodamina (rojo), entre otros. En la **inmunofluorescencia directa (IFD)** el Ac marcado no altera la especificidad por el Ag que se encuentra en la muestra y hace posible la determinación de patógenos o de proteínas de superficie celular debido a que el fluorocromo está unido a la porción Fc del Ac. Al observar la muestra al microscopio de fluorescencia se visualiza el citoplasma celular o la membrana fluorescente (**figura 4.1**).

Figura 4.1. *Inmunofluorescencia directa: determinación del Ag en la muestra del paciente*



Nota: Elaboración propia.

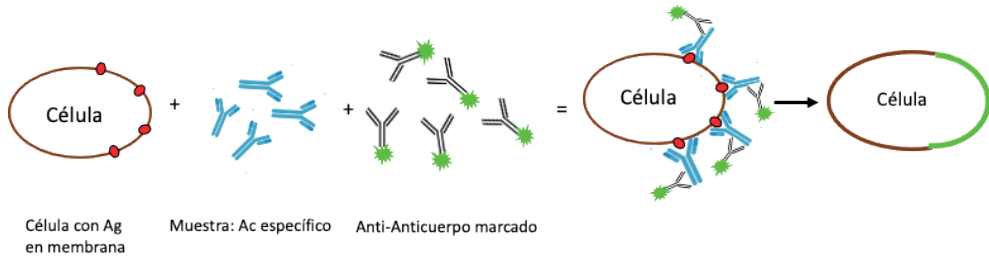
En la figura se observa que el antígeno se expresa en la membrana de la célula y es reconocido por el Ac que está marcado con isotiocianato de fluoresceína, en este caso, el resultado de esta unión es la observación de la membrana fluorescente.

Como ejemplo del uso en el laboratorio de pruebas de inmunofluorescencia directa están la determinación de virus como el *virus sincitial respiratorio*, *Influenza, tipo B*, *dengue*, entre otros, donde se usa un anticuerpo monoclonal específico para el patógeno que debe estar marcado con isotiocianato de fluoresceína (FITC). La lectura fluorescente detecta la presencia del patógeno directamente en la muestra a analizar.

En la **inmunofluorescencia indirecta (IFI)**, se determinan anticuerpos específicos en la muestra (suero o plasma) contra antígenos como patógenos o biomoléculas unidas a tejidos (lectinas, proteínas, péptidos, ácidos nucleicos, oligosacáridos y polisacáridos); para visualizar el complejo Ag-Ac se requiere de un segundo Ac, anti-IgG o anti-IgM marcado con la sustancia fluorescente. Esta unión permite observar el citoplasma o la membrana de la célula de color fluorescente, si es usado como fluorocromo el isotiocianato de fluoresceína (comúnmente usado en los *kits* diagnósticos) se observa de color verde o de color rojo si es usado el isotiocianato de rodamina B (**figura 4.2**).

Como ejemplo de los usos clínicos de pruebas de IFI, está la determinación de IgG en el diagnóstico de enfermedades parasitarias como las causadas por el *Toxoplasma gondii* y el *Trypanosoma cruzi*; en enfermedades de origen bacteriano como la sífilis causada por *Treponema pallidum* (FTA-Abs); en infecciones de origen viral como la causada por el *virus sincitial respiratorio*, entre otras.

Figura 4.2. *Inmunofluorescencia indirecta: determina Acs específicos en la muestra de suero del paciente, generalmente IgG, contra el Ag. Estos Acs reconocen la células que posee el antígeno (inmuno-reactivo) y la reacción Ag-Ac se evidencia mediante un segundo anticuerpo marcado con fluorocromo.*



Nota: Elaboración propia.

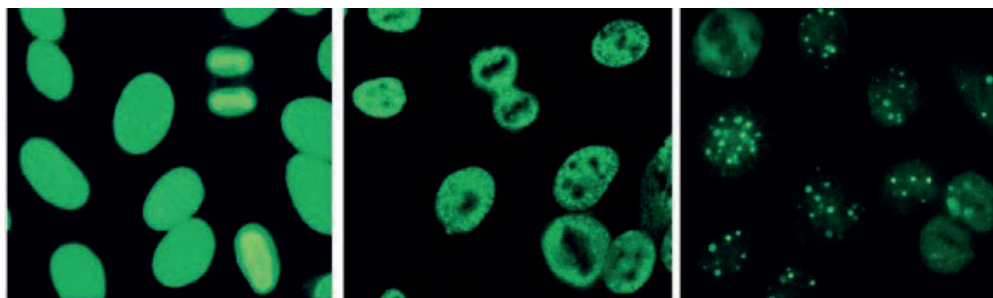
Para el diagnóstico de enfermedades autoinmunes, la inmunofluorescencia indirecta es prueba oro para la determinación de **anticuerpos contra antígenos nucleares (ANA)**. En la actualidad se utilizan como sustrato para la reacción de IFI células Hep-2, Hep 2000, HeLa o Hep 20-10 de tejido hepático de primate, las cuales proporcionan los componentes intracitoplasmáticos o intranucleares reconocidos por los Acs del paciente, útiles para el diagnóstico de enfermedades autoinmunes.

El Ac primario (IgG) de la muestra del paciente, por medio de la porción Fab reconoce la molécula presente en el núcleo y se une formando el complejo Ag-Ac que es evidenciado por medio del segundo anticuerpo fluorescente. Los resultados, cuando hay presencia de IgG contra componentes del núcleo, evidencian diversos tipos de fluorescencia nuclear dependiendo del tipo de Ag reconocido en la célula, el cual se observa en diversas maneras de fluorescencia del núcleo (homogénea, granular, periferia del núcleo, nucleolos, centrómeros, entre otros).

En el patrón **homogéneo o difuso**, donde todo el núcleo evidencia fluorescencia homogénea, los Acs se unen a la cromatina, histonas o ADN bicatenario; en la tinción **periférica** donde se observa la fluorescencia de la membrana nuclear, los Acs están unidos al ADN bicatenario o proteínas de envoltura nuclear; en el patrón **moteado** fino o grueso, se observa fluorescencia en forma de grumos, los Acs están unidos a todo el ADN, a las ribonucleoproteínas, al antígeno Smith (Sm) o a los Acs Ro y La; en el patrón **nucleolar**, donde solo fluoresce el nucleolo, los Acs están unidos al ARN; en el patrón **centromérico** los Acs reconocen las placas de cromatina; en el patrón del **aparato mitótico** son Acs que reconocen el centriolo en diferentes fases del ciclo celular (**figura 4.3**).

Se recomienda confirmar resultados con pruebas más específicas y sensibles (ELISA) para detectar anticuerpos antinucleares diferenciados o específico contra antígenos extraídos de una solución salina como: antirribonucleoproteína (anti-RNP), contra el Ag Smith (anti-Sm), antisíndrome de Sjögren A (anti-SSA/Ro), antisíndrome de Sjögren B (SSB/La), antiesclerodermia antitopoisomerasa 1 (anti-Scl-70), anticuerpos antihistidil t-ARN sintetasa (anti-Jo-1).

Figura 4.3. *Patrones de Anticuerpos Antinucleares (ANA): se observan de izquierda a derecha patrón homogéneo, patrón moteado y patrón nucleolar*



Nota. Modificada de Ens et al., (2015). <https://www.researchgate.net/publication/274086902>

La utilidad de la determinación de los ANA se ha evidenciado en el diagnóstico de enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso sistémico (LES), con una positividad del 95 %, escleroderma 40 %, artritis reumatoide 25 %, síndrome de Sjögren 15 % a 20 %, artritis reumatoidea juvenil 22 %; además, en otras patologías como la cirrosis pancreática 33 % y hepatitis crónica activa 50 % a 70 %. Se han reportado patrones de fluorescencia citoplasmática (ANCA) producida especialmente por Acs contra las proteínas mieloperoxidasa (MPO) y proteinasa 3 (PR3) que están en los gránulos del citoplasma de monocitos y PMN.

La fluorescencia que se presenta de tipo granular distribuida regularmente por todo el citoplasma a excepción del núcleo celular se denomina cANCA (patrón citoplasmático), la fluorescencia predominantemente lisa, parcialmente granular fina y enrollada en forma de cinta alrededor del núcleo celular de los granulocitos se denomina pANCA (patrón perinuclear) y el patrón de fluorescencia atípico se llama X-ANCA). Estos Acs están asociados principalmente a vasculitis, enfermedades granulomatosas, poliangeítis microscópica y poliarteritis nodosa.

Otra prueba de IFI para el diagnóstico de enfermedades autoinmunes son los **Acs anti-ADN**, donde se usa como sustrato el parásito de lagarto denominado *Crithidia luciliae*, el cual posee una mitocondria gran tamaño denominada

kinetoplasto que contiene ADN de doble cadena (ADNs). La muestra del suero del paciente con Acs IgG contra el ADN se fija en la lámina que contiene el parásito y posteriormente se evidencia mediante un segundo anticuerpo marcado con isotiocianato de fluoresceína. En una reacción positiva se observa fluorescente el kinetoplasto en la base del flagelo del parásito, encontrándose de manera exclusiva en el 40 % a 90% de los casos de LES.

4.2.1.2. ENSAYO INMUNOENZIMÁTICO (ELISA)

Los ensayos inmunoenzimáticos son pruebas colorimétricas comunes de diagnóstico en el laboratorio para detectar y cuantificar anticuerpos, antígenos y proteínas en muestras de fluidos biológicos que incluyen sangre, plasma, orina, saliva y líquido cefalorraquídeo.

En la prueba ELISA, se usan diversas fases sólidas en las que se fija el Ag o el Ac, entre ellas están las placas de poliestireno con pozos de fondo plano, tubos y perlas de poliestireno, papel de nitrocelulosa, entre otras. Para visualizar la reacción Ag-Ac se requiere de Acs marcados con una enzima comúnmente peroxidasa o fosfatasa, enzima que al degradar el sustrato produce color, para determinar y cuantificar la presencia de Ag ó Ac en la muestra del paciente.

El tipo de inmunoensayo de mayor frecuencia de uso es la **ELISA en sándwich**. Para determinar Ag en la muestra biológica, denominada **ELISA directa en sándwich**, se requiere de un Ac específico adherido a la fase sólida que reconocerá el Ag que se encontrará en la muestra biológica y será evidenciado mediante el uso de un Ac específico conjugado con la enzima, a esta reacción se le adiciona el sustrato que es degradado por la enzima y produce color (**figura 3.4**).

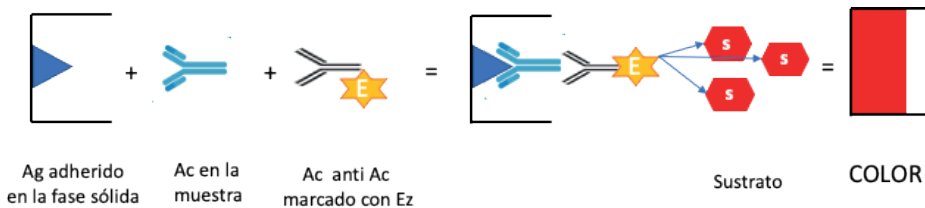
Figura 4.4. ELISA directa en sándwich para la determinación de Ag en la muestra biológica



Nota: Elaboración propia.

Para poder determinar anticuerpos en la muestra biológica denominada **ELISA indirecta en sándwich**, se requiere de un Ag adherido a la fase sólida que será reconocido por el Ac, generalmente IgG, que se encuentra en la muestra biológica (suero o plasma) y este complejo Ag-Ac será evidenciado mediante el uso de un segundo Ac específico para la porción Fc γ , el cual está conjugado con la enzima que, al adicionarse el sustrato, lo degrada y produce color (**figura 4.5**).

Figura 4.5. *ELISA indirecta en sándwich para la determinación de Ac en la muestra biológica*



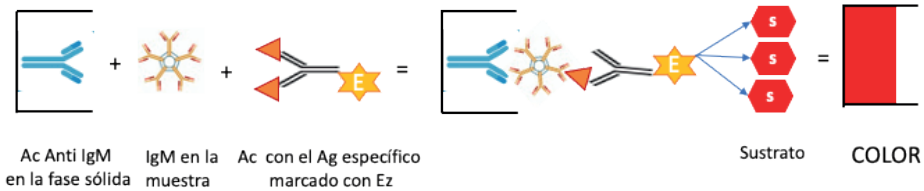
Nota. Elaboración propia.

En este tipo de ELISA donde se determina usualmente IgG presente en la muestra, se usa como apoyo diagnóstico de patologías infecciosas de tipo viral, bacteriano y parasitario. Es importante tener en cuenta los valores que pueden determinar memoria contra el patógeno. Se recomienda para diagnóstico de infección aguda, realizar la determinación de IgG pareada, es decir dos muestras con diferencia de 15 días entre ellas para observar el incremento de este Ac.

Recientemente se desarrollaron pruebas de ELISA en sándwich, en las que se determinó la avidéz de los anticuerpos IgG, con lo cual se incrementa la especificidad del resultado. Se ha observado que la afinidad de los anticuerpos específicos tipo IgG es más baja al inicio de la infección y va aumentando con el tiempo en los estadios crónicos, lo cual ayuda a diferenciar las infecciones adquiridas en forma reciente de las más avanzadas, estas pruebas se denominan **test de avidéz por ELISA**. Esta prueba se ha utilizado para el diagnóstico temprano de infecciones como la toxoplasmosis, toxocariosis, rubeola, citomegalovirus, virus de hepatitis C, parvovirus B19 y Epstein Barr.

En la **ELISA de captura**, usada generalmente para determinación de IgM contra el patógeno. En la fase sólida se encuentra un Ac anti-IgM que captura las IgM que se encuentran en la muestra biológica, este complejo se evidencia con un conjugado compuesto de Ag-Ac-enzima, que se une a la IgM capturada en la fase sólida y que es específica para el Ag; posteriormente se adiciona el sustrato que es degradado por la enzima y produce color (**figura 4.6**).

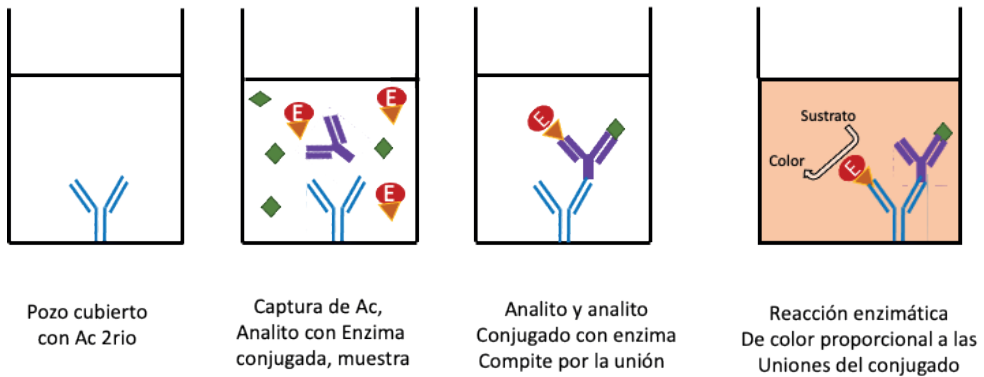
Figura 4.6. ELISA de captura para la determinación de IgM en la muestra biológica y que es específica para el antígeno



Nota. Elaboración propia.

En la prueba de **Elisa competitiva**, se produce una competencia entre los anticuerpos de la muestra (si están presentes) y los anticuerpos secundarios contra el Ag marcado con la enzima. Si la muestra contiene Acs específicos de interés, se unirán a los Ags y no permitirán que los Acs unidos a la enzima se unan a los Ags que luego son eliminados en los lavados de la prueba, por lo tanto, después de agregar el sustrato, no habrá un cambio de color que indique que la prueba es positiva y viceversa (**figura 4.7**).

Figura 4.7. ELISA competitiva usada para determinar presencia de antígeno ó Acs en la muestra biológica



Nota: Elaboración propia.

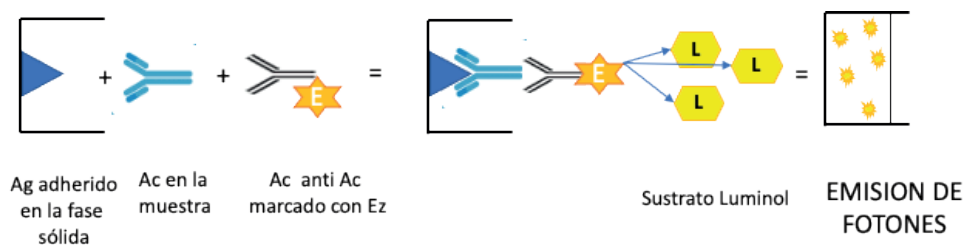
Los *kits* de ELISA son inmunoensayos versátiles y de uso común en laboratorios de investigación y diagnóstico para la detección y cuantificación de bioanalitos. Sin embargo, frente a la creciente necesidad de detectar analitos presentes en muy bajas concentraciones, estos ensayos presentan algunas limitaciones en cuanto a

la sensibilidad se refiere. Esta limitación se ha solventado con el desarrollo de variaciones de los inmunoensayos enzimáticos tradicionales a los inmunoensayos quimioluminiscentes (del inglés *Chemi Luminescent Immuno Assay* CLIA).

4.2.1.3. QUIMIOLUMINISCENCIA

Se determina la presencia de Acs IgG e IgM en la muestra del paciente frente a un Ag específico. Tiene el mismo fundamento de una ELISA, la diferencia radica en que el conjugado, es decir, la enzima acoplada al Ac de detección, cataliza sobre el sustrato (Luminol o éster de acridilo) una reacción quimioluminiscente que resulta en la emisión de fotones, produciendo luz en vez de color y evidencia una sensibilidad hasta de 1 pg/mL (**figura 4.8**).

Figura 4.8. Quimioluminiscencia para determinar Ac en la muestra biológica



Nota: Elaboración propia.

En los últimos años, los ensayos de CLIA han cobrado fuerza en el campo de la investigación biomédica, el diagnóstico, la seguridad alimentaria y el análisis farmacéutico, debido a su alta sensibilidad y especificidad. La luminometría proporciona una sensibilidad extremadamente alta de 1pg/mL con un rango de detección amplio y el uso de equipos que no son demasiado costosos (**tabla 4.1**).

Tabla 4.1. ELISA y quimioluminiscencia. Diferencias, ventajas y desventajas entre ELISA y quimioluminiscencia

Diferencias entre ELISA vs. quimioluminiscencia		
Característica	ELISA	Quimioluminiscencia
Sustrato	Usa cromógenos como TMB o ABTS	Usa sustrato luminiscente como luminol o éster de acridino
Analitos	Permite analizar una amplia gama de analitos para estudio	Determina un panel limitado de analitos dependiendo de la marca

Señal	Su resultado se mide por cambio de color	Su resultado se mide por emisión de luz
Sensibilidad	Alta sensibilidad ≥ 500 pg/mL	Ultrasensible ≥ 1 pg/mL
Tiempo de resultados	En un rango de 60 a 120 minutos	En un rango de 17 a 40 minutos
Ventajas	Reactivos estables con vida de 18 meses, rápida y fácil de automatizar, ampliamente utilizado y estandarizado	Reactivos altamente estables y de vida útil de 3 años, mayor rango dinámico (aumenta 106 o 107 veces la linealidad del ensayo y la reducción de desbordamiento), bajo fondo, fácil de automatizar y en constante evolución
Inconvenientes	La lectura debe hacerse en un corto tiempo desde la reacción enzima-sustrato No puede leer por encima de 3.0 D.O. por lo que requiere dilución de la muestra	Precisa equipamiento específico con lector de quimioluminiscencia

4.2.1.4. RADIOINMUNOENSAYO (RIA)

Es un ensayo competitivo en el que una cantidad fija de Ag marcado radiactivamente y el Ag de la muestra, compiten por un número limitado de sitios de enlaces específicos con el Ac. La unión de los dos Ags con el Ac forma un complejo precipitable. El porcentaje del Ag marcado que se precipita disminuye a medida que la concentración del Ag no marcado en la muestra aumenta. Por lo tanto, la concentración del Ag en la muestra problema es inversamente proporcional a la cantidad de radioactividad de la fracción enlazada. Tras producirse la reacción, se separan los Ags unidos (Ag-Ac, Ag-marcado-Ac) de los libres (Ag marcado y Ac). Una vez separados se mide la radioactividad de las fracciones unida y libre. Usando curvas de calibración obtenidas con patrones de concentración conocida de Ag, es posible mediante la relación de Ag libre y unido calcular la concentración del Ag en la muestra problema.

4.2.2. REACCIONES DE INTERACCIÓN SECUNDARIA

En las reacciones de interacción secundaria, el Ac se determina por los cambios físicos que suceden en el Ag, mide la consecuencia o efecto de la unión Ag-Ac, es de menor sensibilidad ($\mu\text{g/mL}$), es de observación directa como es la aglutinación de un Ag particulado y la inmunoprecipitación de un Ag soluble.

4.2.2.1. PRECIPITACIÓN

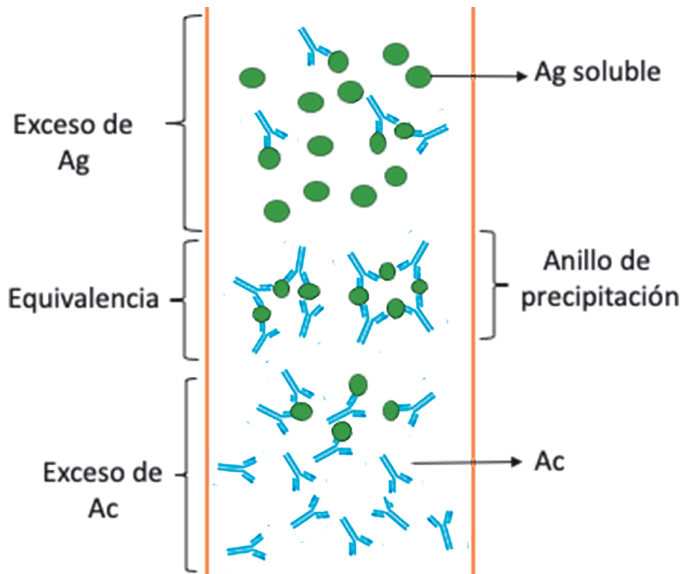
- **Precipitación simple**

Sucede con la mezcla de un Ac por lo menos bivalente con un Ag soluble lo que conlleva a la formación de un agregado que precipita. Para que este resultado se dé, las condiciones de Ag y Ac deben ser óptimas de equilibrio, es una reacción observable y útil para medir concentraciones de Acs (**figura 4.9**).

La mayoría de los antígenos son proteínas y generalmente son multivalentes, es decir que tienen varios determinantes antigénicos por molécula que son reconocidos por los Acs los cuales forman complejos insolubles que precipitan. Los Acs tienen dos sitios de unión con el Ag lo que le permite formar agregados de gran tamaño.

Cuando en una solución se mezclan cantidades de antígeno y de anticuerpo específico para el mismo, se produce una reacción Ag-Ac formando una red formada por complejos inmunes que se puede observar a simple vista.

Figura 4.9. *Reacción de precipitación en condiciones de equilibrio Ag-Ac, es decir, cuando hay exceso de alguno de los componentes no se produce la reacción de precipitación*



Nota. Elaboración propia.

Como se observa en la **figura 4.9**, cuando se agregan cantidades crecientes de Ag a una cantidad fija de Acs específicos, el agregado se va incrementando hasta llegar al máximo de reacción. Si se agregan cantidades pequeñas de Ag se forman complejos inmunes en exceso de Ac. Por el contrario, al agregar grandes cantidades de Ag se producen complejos inmunes en menor cantidad. Es decir que para que se formen grandes redes de complejos inmunes que precipiten debe haber una equivalencia tanto de Ag como de Ac para visualizar la reacción.

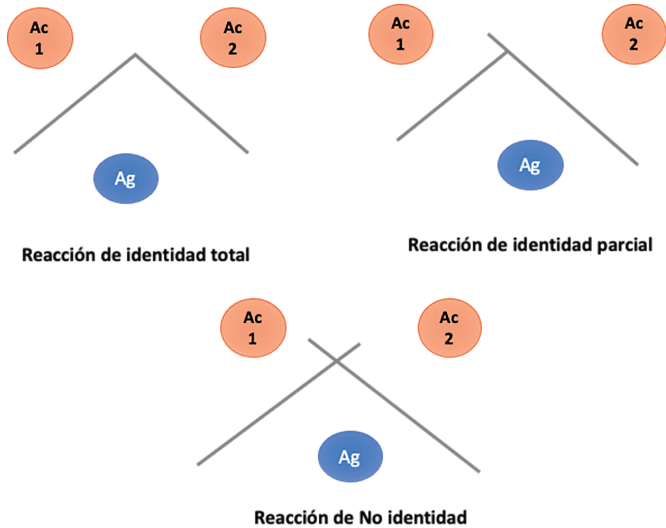
- **Inmunodifusión doble de Ouchterlony**

Cuando se incluyen antígenos y anticuerpos en un gel de agarosa, estas dos moléculas se difunden la una hacia la otra formando bandas de precipitación entre los dos frentes de difusión. En la difusión doble de Ouchterlony o en difusión en dos dimensiones, las soluciones de antígeno y anticuerpo se colocan en pocillos separados cortados en una placa de agarosa que después de la difusión y de hallar el equilibrio de las dos soluciones, forman el precipitado. Cuando el inmunorreactivo tiene un solo Ag, el Ac de la muestra formará una única banda de precipitación, cuando hay dos o más Ags, cada uno de ellos se comporta de manera independiente formando bandas de precipitación que indican que hay varios pares de reacciones Ag-Ac.

En la inmunodifusión doble, se coloca una solución de anticuerpo en dos pocillos adyacentes y el antígeno homólogo se coloca en el centro, las dos bandas de precipitación que se forman se unirán en sus extremos más cercanos y se fusionarán. Esto se conoce como una reacción de identidad (**figura 4.10**).

Cuando hay reacción de identidad total, los Acs están reconociendo el mismo tipo de Ag, producen una misma banda de precipitación que se unen en un vértice; la identidad parcial se produce cuando los Acs reconocen epítomos idénticos, pero además está reconociendo otros epítomos del Ag, en la precipitación se observa un espolón en uno de sus vértices; en la reacción de no identidad, los Acs no tienen ninguna conexión inmunológica con el Ag y forman bandas de precipitación que se cruzan entre sí (**figura 4.10**).

Figura 4.10. *Inmunodifusión doble de Ouchterlony: las bandas de precipitación de identidad total, es cuando los Acs reconocen el mismo Ag; identidad parcial cuando además de reconocer el mismo Ag, el Ac reacciona contra otros componentes del Ag; no identidad cuando los Acs reconocen diferentes tipos de componentes del Ag*



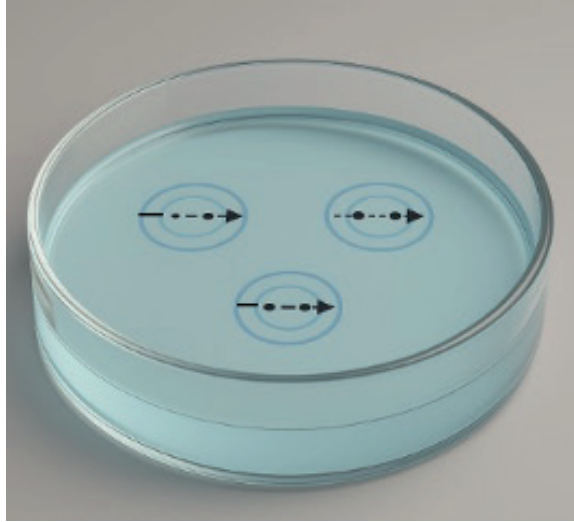
Nota. Elaboración propia.

- **Inmunodifusión radial (IDR)**

Esta técnica de precipitación permite cuantificar moléculas solubles que se encuentran en plasma como: inmunoglobulinas IgG, IgM e IgA, moléculas del sistema de complemento C3, C4 y transferrina, entre otras. En este caso las moléculas de inmunoglobulinas G, M y A o las moléculas de complemento se comportan como Ag y en la placa de agar se encuentra disuelto el Ac específico contra cada una de estas proteínas (anti-IgG, anti-IgM, anti-IgA, anti C3, anti-C4). La muestra biológica (suero o plasma del paciente) se introduce en los pocillos de la placa y a medida que el Ag en la muestra se difunde de forma radial en el borde del pozo en el agar de la placa se forma complejo Ag-Ac que precipita en forma circular hasta consumir todo el Ag de la muestra.

Si la concentración de Ac y el grosor del gel son constantes, el área cubierta por el precipitado es proporcional a la cantidad de Ag en la muestra (**figura 4.11**).

Figura 4.11. *Inmunodifusión radial: en la placa con pozos en donde el Ag (IgG, IgM, IgA, C3 ó C4) que se encuentra en la muestra, ha sido reconocido por el Ac anti inmunoglobulinas o anti complemento inmerso en el gel de cada placa, forma un precipitado de forma radial; la concentración de Ag es proporcional al diámetro del aro de precipitación, que según curvas con estándares de concentración conocida, proporcional a la cantidad en mg/dL del Ag que se esté cuantificando*



Nota. Imagen generada por inteligencia artificial a través de ChatGPT. OpenAI, 2025 <https://chat.openai.com>.

Esta es una reacción de punto final y el tiempo para lograr la difusión total lo determina la cantidad de Ag presente en la muestra, el cual generalmente es de 2 a 4 días. Para hallar la concentración de la proteína a cuantificar, las casas comerciales proporcionan la tabla que indica a qué cantidad en mg/dL que corresponde al diámetro del precipitado. La concentración de Acs en mg/dL es:

- IgG: 650 a 1600 mg/dL
- IgM: 54 a 300 mg/dL
- IgA: 40 a 350 mg/dL
- IgE= 0,0003 mg/dL
- IgD 0,03 mg/mL.

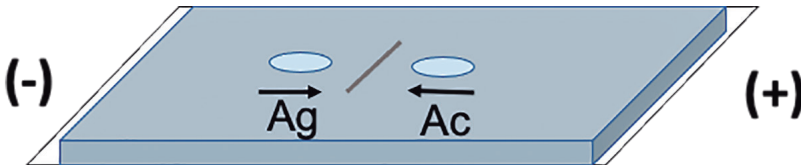
Los valores de referencia para C3 = 75-150 mg/dL y C4= 14-45 mg/dL.

- **Contrainmunolectroforésis (CIE)**

Es una técnica electroforética en gel donde se enfrentan el Ag y el Ac mediante una corriente eléctrica. En esta prueba se mezclan la velocidad de la electroforesis y la especificidad inmunoquímica que favorece la formación del complejo Ag-Ac el cual precipita en el gel. El sistema gel-buffer tiene un efecto primario sobre la movilidad neta de los reactantes, especialmente los de carga neutra, es decir los Acs son empujados por los iones H_3O^+ que se encuentran en el gel que migran hacia el polo negativo, mientras que el Ag que tiene carga negativa se moviliza hacia el polo positivo. Cuando se forma el complejo inmune se produce una banda de precipitación que indica la presencia del Ag específico en la muestra (**figura 4.12**).

Esta metodología es usada para el diagnóstico de enfermedades infecciosas usando fluidos biológicos como suero, sangre, líquido cefalorraquídeo, líquido sinovial, entre otros, en donde se encuentra el agente infeccioso.

Figura 4.12. *Contrainmunolectroforesis: la lámina portaobjetos con gel de alta electro-endo-osmosis. Una vez solidificado se enfrentan Ag y Ac a una distancia de 1 cm entre ellos. Si después del corrido electroforético se produce una banda de precipitación esto indica que hay reconocimiento del Ag por parte de Ac específico.*

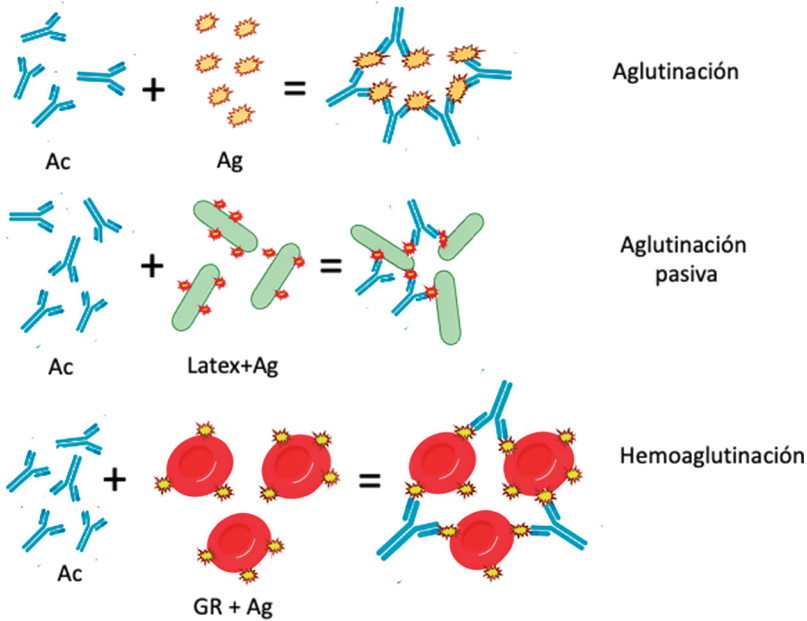


Nota. Imagen generada por inteligencia artificial a través de ChatGPT. OpenAI, 2025 <https://chat.openai.com>

4.2.2.2. AGLUTINACIÓN

En este tipo de reacciones Ag-Ac, el Ac mínimo divalente, reconoce el Ag particulado que se encuentra adherido a la superficie de una partícula o célula y forma grumos o agregados. Es más sensible que la precipitación al determinar pequeñas cantidades de Ac y esto se logra adsorbiendo el Ag a partículas como por ejemplo al látex (aglutinación pasiva), glóbulos rojos (hemoaglutinación) o a la superficie de la membrana de algunas bacterias (**figura 4.13**).

+**Figura 4.13.** Reacciones de aglutinación simple donde el Ac reconoce partículas de Ag y las agrupa en grumos. La aglutinación pasiva puede usar un soporte (látex) que se agrupa para visualizar la reacción Ag-Ac. La hemoaglutinación usa como soporte eritrocitos para agrupar los complejos Ag-Ac



Nota. Elaboración propia.

4.2.2.3. FLOCULACIÓN

La floculación es un proceso químico mediante el cual, con la adición de sustancias denominadas floculantes, aglutinan las sustancias coloidales presentes en el agua, facilitando su interpretación al microscopio. La prueba del VDRL (*Venereal Disease Research Laboratory*) determina Acs IgG floculantes contra soluciones alcohólicas con cantidades predeterminadas de cardiolípidinas, colesterol y lecitinas, sustancias que son producidas por tejidos dañados en la sífilis causada por el *Treponema pallidum* o por lesiones de otras enfermedades. Como se determinan Acs contra la cardiolípidina, colesterol y lecitinas, se les denominan pruebas no treponémicas para el diagnóstico de sífilis. Los resultados positivos de VDRL que pueden ser determinados de manera paralela con la prueba RPR (del inglés *Rapid Plasma Reagin*) prueba no treponémica basada en la aglutinación de partículas de carbón que tiene adherida en su superficie cardiolípidina, colesterol y lecitinas, las cuales al ser reconocidas por los Acs, forman agregados visibles.

Ambas pruebas VDRL y RPR deben ser confirmados por pruebas treponémicas como el FTA-abs (prueba de IFI) o TPHA (prueba hemoaglutinante contra el *Treponema pallidum*).

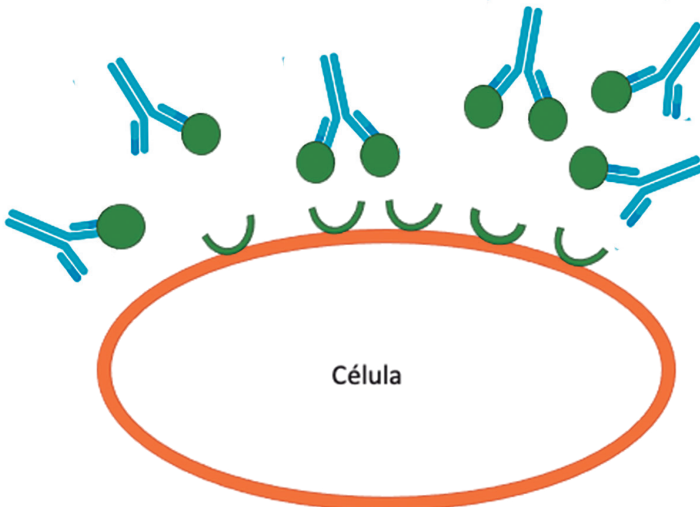
4.2.3. OTRAS REACCIONES AG-AC

Dependiendo de la naturaleza del antígeno, del anticuerpo y de las condiciones de reacción, se pueden observar diferentes tipos de reacciones serológicas (estudio de reacciones Ag-Ac *in vitro*).

4.2.3.1. NEUTRALIZACIÓN

Acs específicos tienen la capacidad de ocupar el sitio activo del Ag y neutralizar su acción tóxica, química o infectante, como es el caso de las toxinas, las enzimas o los virus (**figura 4.14**). Los Acs neutralizantes requieren de un solo tipo de acoplamiento con el Ag para ejercer su acción, y esto depende de la valencia del Ac que pueden ser monovalentes (Ac con un sitio capaz de reconocer el Ag), bivalentes (Ac con dos sitios de reconocimiento para el Ag) o multivalentes; por otra parte, la valencia en el Ag depende del número de epítopes que posee.

Figura 4.14. Neutralización: los Acs neutralizantes ocupan el sitio activo de la partícula e inhiben el efecto sobre la célula blanco



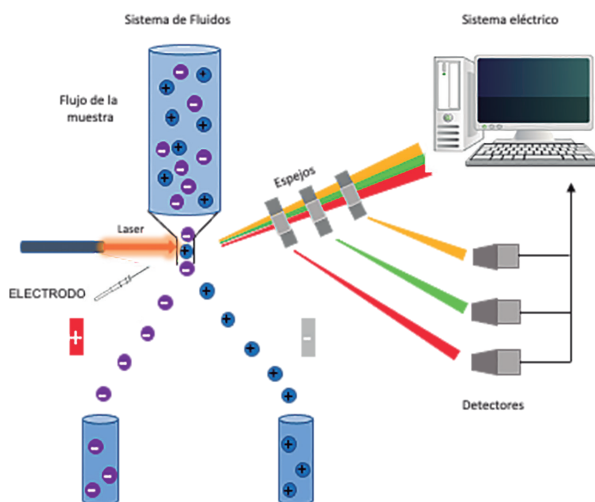
Nota. Elaboración propia.

4.2.3.2. CITOMETRÍA DE FLUJO

El fundamento de la citometría consiste en la incidencia del láser en cada una de las células, produce una dispersión de la luz a en diferentes direcciones que proporciona información sobre su tamaño y complejidad interna; además puede captar fluorescencia emitida que proporciona información sobre expresión de moléculas sobre la superficie o en el citoplasma de la célula. Las señales emitidas son recolectadas y transformadas en un *software* que facilita la interpretación de sus resultados.

El citómetro está compuesto por un sistema de fluidos que toma la muestra, la dirige y permite el tránsito de células individuales para que sean detectadas por el sistema óptico compuesto de laser y un colector de señales emitidas. Cuando el láser se encuentra con la célula, el haz de luz se dispersa dependiendo del tamaño y su complejidad interna. Esta luz dispersada es captada por un detector frontal y un detector lateral que dan valores dependiendo de la complejidad interna de la célula. El citómetro incluye también un sistema eléctrico que se encarga de hacer la conversión de las señales ópticas en señales electrónicas mediante fotodetectores, que con base en su intensidad, se le asigna un valor relativo en una escala (**figura 4.15**). Las señales con idénticas intensidades se acumulan en el mismo valor de la escala, lo que incrementa la altura del pico en la gráfica.

Figura 4.15. Citometría de flujo: los componentes del citómetro donde se indican tres sistemas que lo componen, sistema de fluido, óptico y electrónico así como el procesamiento y la detección



Nota. Elaboración propia.

Además, la citometría permite analizar las características individuales de células o partículas en suspensión a medida que pasan por uno o varios haces de luz láser. Los citómetros brindan una lectura a alta velocidad ya que puede leer miles de células por segundo de tal manera que puede realizar un análisis multiparamétrico que, aunado a la velocidad de lectura, son las dos mayores ventajas de su uso en el laboratorio clínico ya que favorece el diagnóstico basado en el análisis celular mediante la caracterización de células normales según parámetros de tamaño, complejidad, antígenos de superficie, linaje, función, bioquímica intracelular, entre otras; así como en la identificación y detección de células anormales observando cambios en la morfología celular, alteraciones genotípicas e inmunofenotípicas, y alteraciones en la bioquímica intracelular.

Además, con la citometría se pueden analizar parámetros nucleares basados en el ADN (contenido de ADN, estructura de la cromatina, superenrollamiento del ADN, roturas de hebras del ADN, entre otros); parámetros de análisis de estructura y dinámica de la superficie celular (receptores de membrana, sitios de unión a lectinas, densidad de la superficie, transporte e internalización de ligandos, etc.); parámetros citoplasmáticos para el análisis de componentes intracelulares (proteínas totales, estructurales, funcionales, lípidos y glicoproteínas intracelulares) así como las funciones intracelulares (actividad enzimática, síntesis de proteínas); parámetros extracelulares en el análisis de la dinámica de la secreción celular (captura de proteínas secretadas, activación celular, diferenciación celular).

Las muestras que puede analizar el citómetro son sangre, poblaciones de células purificadas, suspensiones celulares de órganos sólidos, organelos, liposomas, vesículas extracelulares, líquidos biológicos y partículas inertes. Además puede cuantificar moléculas en solución en muestras de suero, plasma, orina, líquido cefalorraquídeo, calostro, semen, entre otros.

En la citometría de flujo usando Acs monoclonales (Mo), se puede determinar la presencia de receptores específicos en cualquier célula que pueden clasificarla como es el caso sobre los LT detectando el receptor CD3 en su membrana, LTh detectando el receptor CD4 y LTc al detectar el receptor CD8 en su membrana. Los anticuerpos monoclonales usados para reconocer los receptores celulares se marcan con diversos tipos de fluorocromos ya que cada uno emite una energía de excitación a diversas longitudes de onda (**tabla 4.2**)

Tabla 4.2. Principales fluorocromos comerciales de uso en la citometría de flujo

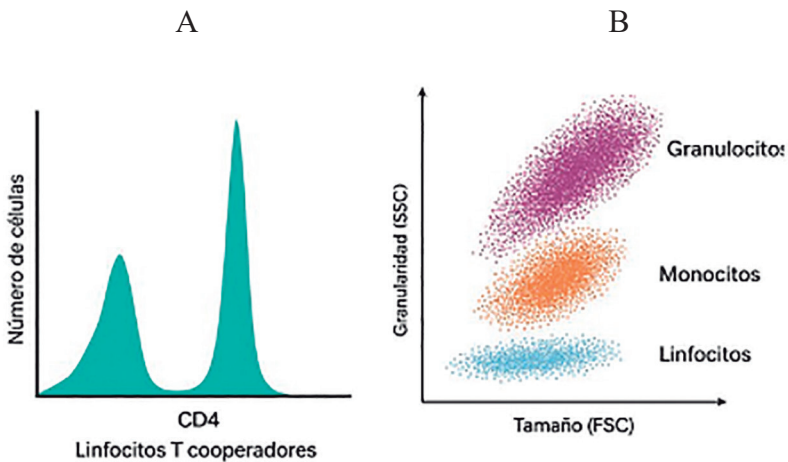
Fluorocromo	Color de la fluoresceína emitida	Energía de excitación (nm)
Alexa Fluor 405	Azul	401
Dylight 405	Azul	400
Pacific Blue	Azul	405
Cy2	Verde azul	489
DyLight 488	Verde azul	493
AmCyan	Verde	457
Alexa Fluo 488	Verde	495
FITC	Verde	495
ATTO 488	Verde	501
ATTO 532	Amarillo verdoso	532
Cy3	Amarillo Verdoso	552
DyLight 549	Amarillo verdoso	550
PE	Amarillo	496-564
PE Texas red	Naranja	496-564
Rhodamina (TRITC)	Naranja	550
Texas red	Naranja	595
ATTO 594	Rojo	601
APC	Rojo	650
Alexa fluor 647	Rojo	650
PE-Cy5	Rojo	496-564
PerCP	Rojo	482
PerCP-Cy5.5	Rojo lejano	482
Alexa Fluor 700	Rojo lejano	696
PE-Cy7	Infrarrojo	496-564
APC_Cy7	Infrarrojo	650
DyLight 680	Infrarrojo	682
DyLight 800	Infrarrojo	770

Nota. Modificado de Lomonte (2020) y adaptado de Rockland Immunochemicals, Inc

Los resultados pueden ser representados en gráfica de puntos (relación entre dos marcadores diferentes), en gráficos de densidad en el que las poblaciones

con mayor número de eventos se representan mediante una escala de grises (gráfico en zebra), mediante colores cercanos al naranja (pseudocolor) o mediante líneas (densidad) (**figura 4.16A**). Otra forma de representar los resultados, es mediante los histogramas, los cuales muestran la expresión de un marcador versus el número de eventos, si la curva se desplaza hacia la derecha indica mayor expresión del marcador y la altura indica la frecuencia de las células capturadas (**figura 4.16B**).

Figura 4.16. A. Histograma que evidencia picos de población de células positivas para un marcador B. Células marcadas con un anticuerpo monoclonal representadas en grafico de puntos, pseudocolor, zebra y densidad



Nota. Imagen generada por inteligencia artificial a través de *ChatGPT. OpenAI, 2025* <https://chat.openai.com>

4.2.3.3. NEFELOMETRÍA

En la nefelometría se cuantifican proteínas como las inmunoglobulinas en solución las cuales entran en contacto con un exceso de anticuerpos anti-IgG, anti-IgM o anti-IgA para que se produzcan complejos inmunes que son detectados mediante un método óptico que cuantifica la luz dispersada por dichos complejos y es proporcional a la concentración de la proteína en estudio. Además de las inmunoglobulinas se pueden cuantificar proteínas del complemento como C3 y C4, proteína C reactiva, factor reumatorideo properdin, haptoglobina, albúmina, transferrina, entre otras.

4.2.3.4. *ACTIVACIÓN Y FIJACIÓN DE COMPLEMENTO*

En la vía clásica de activación del sistema de complemento, los Ac reconocen el Ag que se encuentra en la célula blanco y activan la cascada enzimática causando la lisis de la misma. Las reacciones de fijación de complemento ocurren cuando la IgG o IgM reaccionan con el Ag en presencia del complemento adicionado. Esta fijación sucede en dos fases, en la primera se mezcla el suero descomplementado (precalentado a 56 °C por 30 min) con el Ag y una cantidad determinada de complemento; en la segunda fase se adiciona un sistema indicador (glóbulo rojo carnero y Ac). El resultado de hemolisis es porque no se formó el complejo Ag-Ac en la fase 1 y el complemento quedó libre y al adicionar el sistema indicador, el complemento lisa el GR, la reacción es negativa para la fijación de complemento. Por el contrario, si no hay hemolisis, es porque en la fase 1 se fijó el complemento al complejo Ag-Ac y al adicionar el sistema indicador, no hubo complemento que causara la lisis del GR, en este caso es una reacción de fijación de complemento positiva.

4.2.3.5. *PRUEBAS INMUNOGENÉTICAS*

4.2.3.5.1. *Grupo sanguíneo A, B, O*

Un grupo sanguíneo es la característica heredada de padres que se expresa mediante la presencia de una proteína específica sobre la superficie de los eritrocitos y puede ser detectada por una Ac específico. El grupo ABO son Ags heredados como grupo, los cuales están controlados genéticamente por genes alélicos heredados independientemente los unos de los otros. Los grupos sanguíneos se pueden clasificar de acuerdo a su importancia clínica, por la fuente de sensibilización o por relaciones bioquímicas.

























Los Acs que definen los Ags del grupo sanguíneo son de tres tipos: aloanticuerpos que pueden ser naturales producidos por el estímulo de una transfusión sanguínea o de un embarazo; los autoanticuerpos producidos contra Ags de alta frecuencia de la misma persona que produce los Acs y los anticuerpos heterólogos que son Acs contra los glóbulos rojos producidos en otras especies.

El suero humano posee Acs del grupo sanguíneo ABO, Acs que se encuentran ausentes en el recién nacido y en cantidad moderada en lactante de 12 a 20 semanas. Estos Acs se producen sin inmunización obvia, por lo tanto, se consideran naturales, es decir que se sintetizan en ausencia de un estímulo antigénico conocido. Estos Ags naturales promueven la respuesta de IgM, mientras que los que se producen por presencia de antígenos eritrocitarios extraños producen Acs IgG. De los Acs, los Rh son los más comunes seguidos

por los sistemas de grupo sanguíneo Kell, Kidd y Duffy. La formación de anti-D ocurre casi en 1 % de las exposiciones antigénicas, anti-K en 0,1 %, anti C y anti E en 0,04 %.

La determinación del grupo sanguíneo se realiza por aglutinación, los Acs monoclonales que se encuentran en los antisueros fijan los Ags que están en la membrana de los eritrocitos formando una red. Para esta determinación se adiciona en un portaobjeto una gota de sangre anticoagulada y una gota del antisuero respectivo, se mezcla por 3 minutos con palillo y se lee donde se observa aglutinación (**figura 4.17**).

Figura 4.17. Clasificación de grupo sanguíneo: se produce aglutinación usando los antisueros anti A, anti B, anti D con los glóbulos rojos de la muestra para la determinación de grupo sanguíneo sistema ABO y Grupo Rh D

Grupo Sanguíneo ABO y Grupo Rh D	Anti A	Anti B	Anti D
A+			
A-			
B+			
B-			
AB+			
AB-			
O+			
O-			

Nota. Elaboración propia

Entre los factores que pueden afectar las reacciones Ag-Ac eritrocitarias están la fuerza iónica (carga negativa en la membrana que hace que se rechacen entre sí), la temperatura (IgM reacciona en frío, IgG reaccionan en caliente), el pH (el cual

debe estar entre 6,5 y 7,5), la proporción de Ag y Ac (preparación de GR 2-5 %), el tiempo de incubación (cuando se usa antiglobulina humana en los sistemas de solución salina la incubación esta entre 30 y 60 min a 37 °C; cuando se usa solución salina de baja fuerza iónica el tiempo es de 10 y 15 minutos a 37 °C) y se recomienda que el suero y los eritrocitos hayan sido obtenidos recientemente.

4.2.3.5.2. *Tipificación de antígenos de histocompatibilidad*

El estudio del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) tiene como objetivo analizar la compatibilidad entre donante y receptor en el trasplante de órganos vascularizados, en trasplante de médula ósea, para estudios de paternidad, análisis de la asociación de alelos HLA con enfermedades (susceptibilidad) y en estudios antropológicos para establecer posibles relaciones entre distintas poblaciones o grupos étnicos.

La determinación de compatibilidad se realiza mediante la prueba serológica denominada microlinfocitotoxicidad en placas de Terasaky, y en la actualidad se realiza mediante pruebas moleculares como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) con cebadores específicos de secuencia (SSP), PCR con cebadores específicos de locus e hibridización con sondas marcadas específicas de alelos (SSOP), secuenciación directa (SBT) y otras pruebas moleculares como fragmentos de restricción de longitud polimórfica (RFLP) y polimorfismo conformacional de cadena simple (SSCP).

- **SSP:** en esta técnica se realiza una PCR usando como molde el ADN extraído de células de sangre periférica del paciente. Como primers (oligonucleótidos cebadores) se emplean combinaciones de pares de bases de los oligonucleótidos específicos para diferentes alelos del HLA. En el termociclador se logra la amplificación de los fragmentos de ADN de diferente longitud, el cual es analizado en una electroforesis horizontal en gel de agarosa que permite observar, bajo luz UV, la presencia de los alelos en la muestra del paciente. Para obtener el grado de resolución en la muestra, se deben realizar varias reacciones de PCR, tantas como pares de primers se empleen en la tipificación de la población en estudio. Esta técnica es sencilla, no requiere de equipos altamente sofisticados, es más sensible que la microlinfocitotoxicidad, como muestra se emplea sangre total periférica, el costo es relativamente bajo, se puede interrumpir en algunos pasos de la prueba y permite la detección de alelos nulos. Como desventajas, no es la técnica óptima para la determinación de alelos que sean de origen cadavérico, puede dar resultados ambiguos al no lograr la definición de algunas combinaciones alélicas, cada primer puede

amplificar uno o varios alelos HLA, y debido al polimorfismo de estas moléculas, se requiere de un elevado número de primers para la obtención de un resultado lo óptimo posible.

- **SSOP:** se realiza una PCR de células de sangre periférica del paciente, como primers se usan pares de oligonucleótidos específicos para diferentes loci del HLA. Se deben amplificar por separado HLA A, B y C. Los fragmentos de ADN son inmovilizados en membranas de nylon e hibridizados con sondas marcadas y específicas para cada patrón de alelos del HLA. Estas membranas con los alelos obtenidos se observan con placas de autorradiografía. El ADN extraído en unión con los primers, permite la realización de la PCR en el termociclador, reacción que se visualiza en una electroforesis horizontal en gel de agarosa, posteriormente se inmovilizan los productos en membranas de nylon para la hibridización con sondas marcadas con ^{32}P , las cuales se exponen en placas de rayos X para la visualización y análisis de resultados. Además de las ventajas de la SSP descritas anteriormente, la técnica de SSOP es bastante sensible, permite la detección de homocigosis, es adecuada para análisis de trasplante cadavérico, existe la opción de evidenciar los resultados mediante quimioluminiscencia para no usar elementos radioactivos, permite la detección de alelos nulos y se pueden analizar un número mayor de muestras. Como desventajas están que la elaboración y su interpretación son complejas, pueden encontrarse ambigüedades, la técnica es costosa, requiere de equipos para la hibridización y por el manejo de radioisótopos se requiere de infraestructura compleja y se genera desechos radioactivos.
- **SBT:** la fuente de ADN es la misma de las anteriores, se realiza una PCR, se usan primers específicos para diferentes alelos del HLA, se realiza la tipificación por separado (HLA A, HLA B y HLAC). Los fragmentos son secuenciados en un equipo específico que compara los datos a analizar con datos de secuencias internas y asigna los alelos HLA de la muestra. Como ventajas: es óptimo para la caracterización de HLA de cadáver, automatizado y permite detectar alelos nulos. Como desventajas: requiere de equipos altamente costosos y analiza un número reducido de muestras.
- **CROSS MATCH:** se requiere este análisis para determinar la presencia de Acs en el receptor en lista de espera contra los alelos HLA del donante de órganos vascularizados. La prueba se puede realizar en placas de Terasaky donde reacciona el Ac del receptor con células del donante vivo (leucocitos de sangre periférica) o cadáver (leucocitos extraídos de bazo). Después de la incubación, se adiciona suero de conejo para tener fuente de complemento para observar la citotoxicidad causada por la formación del complejo Ag-Ac. Igualmente se puede realizar una citometría de flujo,

donde las células del donante entran en contacto con los Acs del receptor y este complejo Ag-Ac se evidencia con un segundo Ac antihumano marcado con FITC para analizar las células en el citómetro. El Cross-match contra panel se realiza de la misma manera con Acs del receptor con panel de células con alelos HLA representativos de la población. Los resultados de esta prueba dan la probabilidad de éxito o fracaso del trasplante, específicamente del renal.

4.3. PRUEBAS INMUNOLÓGICAS PARA DETERMINAR LA FUNCIÓN DE LA INMUNIDAD INNATA

4.3.1. VALORACIÓN DE LA QUIMIOTAXIS

Los fagocitos (PMN y M ϕ) se enfrentan a un influjo de gradientes mediado por factores quimiotácticos que hacen que salgan de su estado inactivo donde realizan patrullaje del tejido (movimiento al azar) e inicien su desplazamiento mediante un movimiento dirigido denominado quimiotaxis o movimiento unidireccional. Este movimiento en respuesta a un estímulo externo se requiere para la eliminación del agente infeccioso, la cicatrización de heridas y el desarrollo de la inflamación.

Existen varios métodos para valorar la función quimiotáctica de los fagocitos como en ensayo con la cámara de Boyden, donde los PMN son atraídos, mediante una sustancia quimioatrayente, para atravesar una membrana de poros de 3 μ m, la cual es teñida con colorantes para realizar el conteo a través de un microscopio. Esta prueba puede determinar el movimiento dirigido, pero no es una representación adecuada de los gradientes encontrados en tejidos.

Otra prueba es la quimiotaxis bajo agarosa que permite evaluar el movimientos de las células a través de un sustrato sólido en una delgada película acuosa que se produce debajo de la agarosa. Este gradiente de poca profundidad es semejante al gradiente que se presenta de forma natural en los tejidos, en donde se puede medir la imagen de migración de la distancia recorrida hacia el estímulo por medio del microscopio. Ambas pruebas, cámara de Boyden y bajo agarosa, son reacciones de punto final.

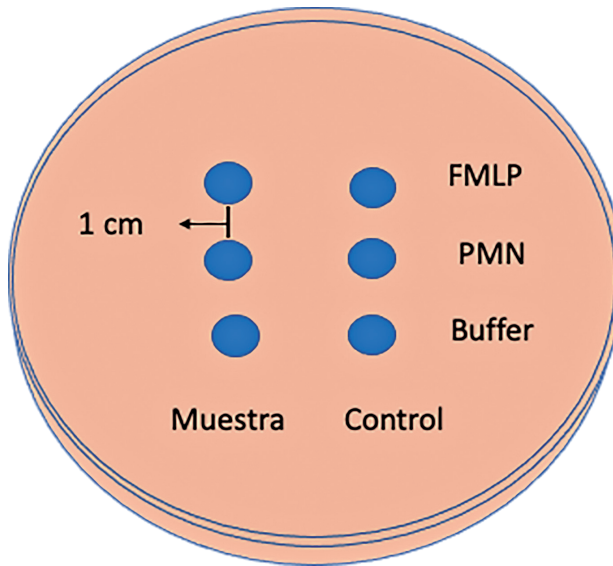
4.3.1.1. PROTOCOLO DE QUIMIOTAXIS BAJO AGAROSA

- Muestra: en tubo plástico obtener sangre anticoagulada con ácido cítrico monohidratado, citrato de sodio y dextrosa (ACD) en una proporción de 5:1
- PMN: se requiere separar los glóbulos rojos de los leucocitos usando un gradiente de sedimentación (dextrán 70 al 6 %), para ello depositar la

sangre anticoagulada en el dextrán, mezclar y dejar el tubo plástico en reposo en una inclinación de 45° por 15 min a temperatura ambiente. Colocar el tubo verticalmente por 30 min a temperatura ambiente. Separar el sobrenadante (plasma) y someterlo a un gradiente de densidad con Ficoll Hypaque (d=1077) en una proporción de 2 partes de plasma por 1 de Ficoll Hypaque, centrifugar a 400g/30 min/4 °C. Descartar el plasma, la capa de células mononucleares que están en la interfase y el Ficoll. En el fondo del tubo están los granulocitos y glóbulos rojos contaminantes que se eliminan con lisis hipotónica (KCL 0,6 N y agua destilada). Centrifugar la suspensión a 300g/6 min/4 °C. Suspender los granulocitos en buffer fosfato pH 7.4 (PBS, ver anexo). Evaluar la viabilidad y pureza de los granulocitos con azul tripano y violeta de genciana para tomar valores superiores al 95 %. Llevar los granulocitos a una concentración final de 5×10^7 PMN/mL.

- Prueba de quimiotaxis bajo agarosa: preparar agarosa tipo II en 4,2 mL de agua destilada y desionizada, Medio Escencial Mínimo 2X, HEPES 0,01M y suero humano inactivado al 10 %. Colocar el gel preparado en cajas de Petri de poliestireno (60x15mm). Elaborar filas de tres pozos de 3 mm de diámetro a una distancia entre ellos de 1 cm (figura 4.18).
- En los pozos inferiores se debe colocar como sustancia blanco 10 μ L de buffer Hank's con gelatina al 0,1 %; en los pozos centrales adicionar 10 μ L de los PMN a una concentración de 5×10^7 PMN/mL; en los pozos superiores adicionar 10 μ L de Formil-Methionil-Fenil-Alanina (FMLP) 10⁻⁷M como factor quimiotáctico. Incubar las cajas de Petri en cámara de CO₂ 5 % por 2,5 h a 37 °C. Para fijar las células a la placa, adicionar glutaraldehído al 2,5 % e incubar toda la noche a 4 °C. A la mañana siguiente, retirar la agarosa de la placa y teñir las células con colorante de Wright por 15 min.

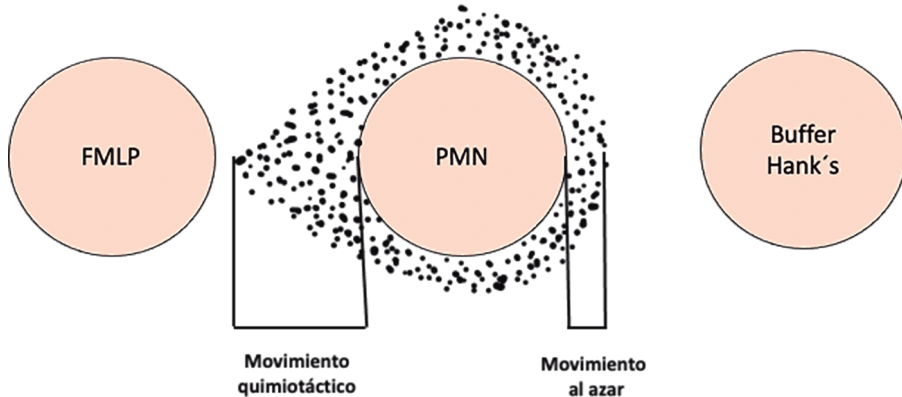
Figura 4.18. *Placa de gel de agarosa para la realización de la prueba de quimiotaxis: el agar utilizado debe estar suplementado para elaborar la prueba de quimiotaxis bajo agarosa usando PMN del paciente y una muestra control, FMLP como sustancia quimioatrayente que estimulará el movimiento quimiotáctico de los PMN y buffer Hank's como sustancia blanco*



Nota. Elaboración propia.

- Lectura: en un microscopio de luz con un objetivo de 3,2/10 y un ocular calibrado, medir la distancia recorrida desde el borde del pozo hacia el borde de migración celular. Para determinar el verdadero movimiento quimiotáctico, restar los mm del movimiento al azar (PMN hacia el buffer Hank's) del movimiento quimiotáctico (PMN hacia el FMLP). Las unidades de migración se expresan $1U=0,2 \text{ mm}$ (figura 4.19).

Figura 4.19. Lectura de la migración de los PMN bajo la agarosa con el estímulo quimiotáctico del FMLP. El verdadero movimiento quimiotáctico se obtiene restando el movimiento al azar de la movimiento quimiotáctico



Nota. Elaboración propia.

4.3.2. VALORACIÓN DE LA FAGOCITOSIS

Los PMN cumplen funciones importantes en la eliminación de patógenos infecciosos, resultado que se obtiene por la interacción con los anticuerpos, sistema de complemento y factores quimiotácticos, es decir que hay una dependencia de los PMN con otros procesos inmunitarios celulares y humorales.

Los defectos de la función fagocítica de los PMN pueden ser cualitativos y cuantitativos. En los trastornos cuantitativos, se encuentran los PMN disminuidos en número con respecto al valor de referencia (neutropenia), los cuales pueden tener la función adecuada, pero son insuficientes en cantidad. En los trastornos cualitativos, el número de PMN puede encontrarse dentro de los rangos normales, pero no pueden ejercer su acción microbicida.

Las pruebas para evaluar la fagocitosis proporcionan un método rápido y relativamente simple para evaluar esta importante función dentro de la inmunidad innata. Entre las pruebas que pueden calificar la función fagocítica de partículas o microorganismos y su posterior muerte celular, están las de observación directa al microscopio de luz, estimación de radioactividad enlazada a las células después de la ingestión de una partícula, prueba de reducción del nitro azul de tetrazolium, la prueba del asesinato intraleucocitario, análisis mediante la citometría de flujo de partículas marcadas con sustancias fluorescentes.

El estudio de la función fagocítica es útil para evaluar a los pacientes con inmunodeficiencias causadas por defectos en la fagocitosis, para el monitoreo de enfermos sometidos a quimioterapia o radioterapia, entre otras aplicaciones. Entre las causas que alteran la función fagocítica están las congénitas, pues pueden existir trastornos de la actividad de la actina de los neutrófilos, deficiencia de ATPasa en los neutrófilos; deficiencias adquiridas como las causadas por la cirrosis hepática, artritis reumatoide y lupus eritematoso sistémico, gammapatías monoclonales incluido el mieloma múltiple, neoplasias mieloproliferativas, quemaduras, infecciones graves, uremia, cetoacidosis diabética y desnutrición.

4.3.2.1. PROTOCOLO DE LA MICROTÉCNICA DE FAGOCITOSIS Y MUERTE INTRACELULAR DE CÁNDIDA

- Antígeno: realizar un pase de cultivo de *Cándida albicans* en agar Saboreaud de 16 horas de incubación. Para el día de la prueba tomar una asada del cultivo fresco, lavarla tres veces en buffer fosfato salino (PBS) y ajustar las levaduras a 2×10^6 *Candidas*/mL y mantener el tubo en incubadora hasta momento de uso
- Buffer fosfato salino (PBS): mantener en incubadora mientras se realiza la prueba para hacer los lavados con este buffer precalentado.
- Oponinas: de un pool de suero de personas sin procesos infecciosos u otras entidades en curso, tomar 100 uL y precalentar en incubadora hasta momento de uso.
- Polimorfonucleares neutrófilos (PMN): se pueden obtener de una punción del dedo o de jeringa sin anticoagulante. Al mismo tiempo de realizar la prueba del paciente, se debe realizar la de una muestra control.
- Procedimiento de la prueba fagocítica:
 - En una laminilla de 22x22 mm elaborar un aro en plastilina del 1 cm de diámetro interno del aro.
 - En el aro depositar 3 a 5 gotas de sangre sin anticoagulante
 - Colocar la laminilla en una caja de Petri con una torunda de algodón húmeda (cámara húmeda), tapar la caja e incubar 1 h a 37 °C. En este tiempo los PMN se adhieren al vidrio de la laminilla.
 - Una vez completado este tiempo, retirar el coágulo y quitar exceso de eritrocitos realizando lavados con PBS precalentado.
 - Adicionar a los PMN que se encuentran adheridos al vidrio, 200 μ L de la suspensión de *cándida* y 50 μ L del *pool* de suero, ambos

reactivos biológicos precalentados. Incubar a 37 °C por 10 minutos, tiempo en que el PMN fagocita las candidas de la suspensión.

- Realizar 3 lavados con PBS precalentado, resuspender el volumen con 200 μ L de PBS precalentado e incubar 40 min a 37 °C en cámara húmeda. En este tiempo los PMN están realizando su acción microbicida sobre la candida.
- Adicionar 50 μ L de azul de metileno al 1 % dentro del aro de plastilina e incubar 10 minutos a 37 °C.
- Lectura: retirar la plastilina e invertir la laminilla sobre un portaobjeto. Contar a 100X, 100 PMN adheridos con o sin candidas fagocitadas y candidas muertas. Las candidas vivas se observan refringentes, las candidas muertas se observan azules ya que la membrana ha sido lesionada por los compuestos enzimáticos de los gránulos de los PMN, por lo tanto el colorante puede penetrar y teñir la candida de color azul (figura 4.20). El índice de fagocitosis se refiere a cuantas candidas puede fagocitar 1 PMN y el porcentaje de muerte intracelular dice del total de las candidas fagocitadas cuantas pudo matar.
- Cálculos. Ejemplo de lectura: 100 PMN 255 candidas vivas. 150 candidas muertas

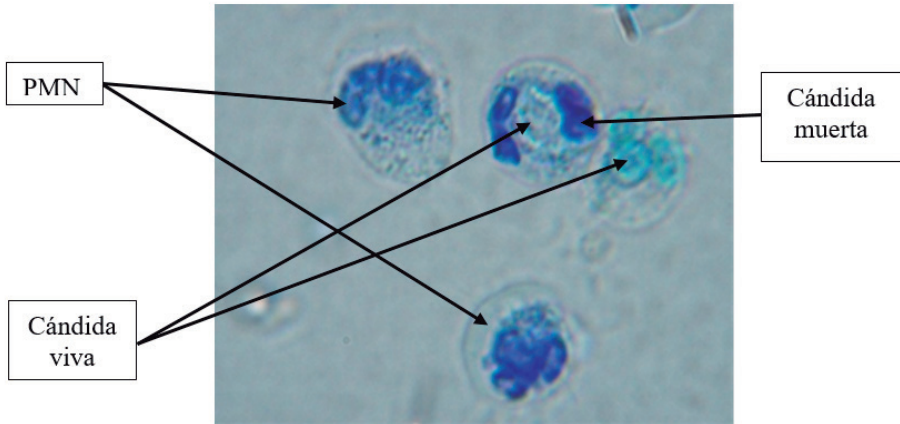
Índice de fagocitosis:

100 PMN	fagocitaron 405 candidas	X= índice de fagocitosis 4,05
1 PMN	X cuantas fagocitó	

Porcentaje de muerte intracelular

405 candidas	es el 100% de las candidas fagocitadas
150 candidas muertas	X % equivale
X= porcentaje de muerte intracelular 37,03 %	
Valor de referencia: índice 2-4 Porcentaje de muerte intracelular 30 %-45 %	

Figura 4.20. Neutrófilos que han fagocitado *Cándida*. La observación al microscopio de luz a 100X donde se encuentran los PMN adheridos que han fagocitado *Cándidas*. Las vivas se observan refringentes, las *Cándidas* muertas por la acción microbicida del PMN, lesionan la membrana de la *Cándida* y el colorante puede penetrar y se observan de color azul.



Nota. Elaboración propia

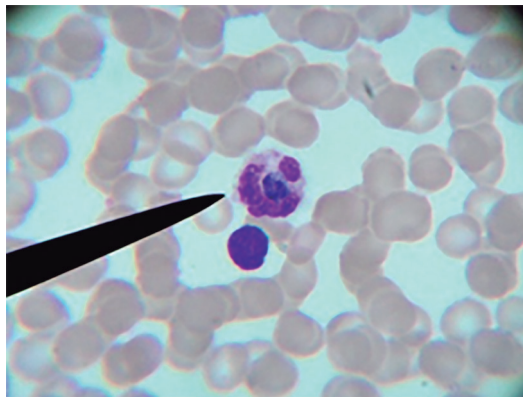
4.3.2.2. PROTOCOLO DE LA PRUEBA REDUCCIÓN DE NITRO AZUL DE TETRAZOLIUM (NBT)

Esta prueba mide la explosión respiratoria causada por la ingestión del colorante observándose un incremento de la actividad de la vía derivada de la hexosa monofosfato, incremento del consumo de oxígeno y radicales superóxidos. Por medio de esta técnica se puede analizar la integridad metabólica general de los PMN fagocitantes.

- Muestra: 1 ml de sangre heparinizada tomada en tubo plástico (ya que los PMN se adhieren al vidrio).
- Reactivo: nitro azul de tetrazolium (NBT): 0,002 mg/mL en PBS. Es un compuesto claro, amarillo y soluble en agua que al reducirse produce formazán de tinción azul oscuro. Phorbol-miristato.acetato (PMA) a una concentración de 1,6 μ M.
- Protocolo:
 - Tomar 100 μ L de la sangre heparinizada del paciente para dos tubos de plástico, uno etiquetado como *estimulado* y el otro *no estimulado*.

- Al los dos tubos agregar 100 uL de NBT.
 - Al tubo etiquetado como *estimulado* (E) adicionar 100 uL de PMA 1,6 uM.
 - Incubar los dos tubos por 30 minutos en baño María a 37 C
 - De cada tubo se realizaron dos extendidos fijados en metanol y teñidos con giemsa
- Lectura: contar 100 PMN por microscopía óptica (100X) para observar el precipitado azul en los activados (figura 4.21). La falla en la reducción del colorante NBT es una anomalía consistente y con importancia diagnóstica para la enfermedad granulomatosa crónica, los PMN de estos pacientes no pueden dar muerte a ciertos microorganismos intracelulares ni generar H₂O₂ o el radical superóxido.
 - Valor de referencia NBT espontáneo 5 % a 10 % de PMN positivas NBT estimulado 10% a 5 0% de PMN positivos.

Figura 4.21. Reducción de azul de tetrazolium (NBT). El neutrófilo que fagocitó el colorante azul de tetrazolium, por la actividad enzimática que este posee en sus gránulos, reduce el colorante produciendo un precipitado de formazán de color azul



Nota. Elaboración propia.

4.3.2.3. QUIMIOLUMINISCENCIA PARA VALORAR LA FAGOCITOSIS

Los PMN emiten pocas cantidades de radiación electromagnética una vez han ingerido microorganismos. Esta energía se puede detectar como luz cuando en el estallido respiratorio se generan H₂O₂, radicales superóxido y oxígeno molecular. El oxígeno molecular es un elemento inestable y reactivo, se combina

con las bacterias u otro elementos intralisosómicos para formar grupos carboxilo de inestabilidad electrónica. Cuando estos grupos regresan a su estado basal, emiten energía lumínica que está directamente relacionada con la actividad microbicida de los mecanismos de muerte intracelular oxígeno-dependientes del PMN, los cuales generan quimioluminiscencia detectada con facilidad en un espectrofotómetro de centelleo en líquido.

La prueba de quimioluminiscencia (CLIA) que depende del protocolo de los *kits* comerciales, consiste en incubar un tubo de centelleo con PMN en solución salina y partículas digeribles (zimozan o látex); se puede adicionar luminol y lucigenina porque reaccionan quimioluminiscentemente con metabolitos de oxígeno reactivos para intensificar las emisiones de luz.

El luminol reacciona con el H_2O_2 y como resultado, el producto activado electrónicamente emite fotones a una longitud de onda de 425 nm; la lucigenina reacciona con el O_2^- que causa emisión de luz a 470 nm. Esta luz emitida se monitorea por medio de luminómetros de microplacas con control de la temperatura a través de las cuales se miden en cuentas por minuto (cpm) en el contador de centelleo. La lectura se debe realizar por 10 minutos con intervalos de 2 minutos durante 40 a 50 minutos.

4.3.2.4. CITOMETRÍA DE FLUJO PARA VALORAR LA FAGOCITOSIS

La citometría de flujo permite medir la capacidad fagocítica del PMN de ingerir partículas y medir los cambios bioquímicos una vez el PMN ingiere el microorganismo, ya que inicia la explosión oxidativa que produce H_2O_2 que oxida componentes intracelulares. Para medir la capacidad fagocítica se usan bacterias, levaduras o partículas inertes acopladas a un fluorocromo que permite determinar el porcentaje de células que fagocitan. Para analizar los cambios bioquímicos intracelulares una vez ha sucedido la fagocitosis, se usa 2'7' diclorofluoresceína, un colorante polar que queda atrapado en el interior de la célula, comportamiento similar tiene el colorante dihidro-rodamina. El H_2O_2 producido por el PMN oxida el colorante fluorescente que se puede detectar en un citómetro de flujo.

4.3.3. VALORACIÓN DEL PROCESO INFLAMATORIO

Es un proceso fisiológico del organismo mediante el cual el tejido vascularizado responde ante un agente infeccioso o irritante. Durante este proceso, células y mediadores trabajan conjuntamente con el propósito de detener y eliminar las causas de la agresión. Para determinar la presencia del proceso inflamatorio, a nivel inmunológico se evalúa la presencia de mediadores como las citoquinas, proteínas de fase aguda, moléculas del complemento, entre otras.

4.3.3.1. CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNA C REACTIVA (PCR)

Es una proteína de fase aguda, sintetizada en el hígado por estímulo de la Il-6, descrita como regulador de la intensidad y extensión del proceso de inflamación aguda y marcador de daño tisular. Como funciones de la PCR está la activación del complemento por vía clásica luego de la interacción de las células con los receptores Fcy, además se une a células apoptóticas, actúa en la depuración de restos nucleares, promueve la captación de LDL por los macrófagos, facilita la expresión de moléculas de adhesión y la migración del monocito/macrófago al inducir la secreción de proteína quimioatrayente para monocitos (MCP-1).

La PCR es una prueba rápida de aglutinación en látex el cual esta recubierto con anticuerpos anti-PCR que reconocen la PCR que se encuentra en el suero problema y forman aglutinación visible macroscópicamente. Se puede realizar una prueba semicuantitativa haciendo diluciones seriadas del suero problema en solución salina y poner en contacto con las partículas de látex recubiertas de anticuerpo. El título corresponde a la máxima dilución que presente aglutinación.

El valor normal de PCR en plasma sanguíneo es de 0,1 mg/dL el cual se incrementa en procesos infecciosos, inflamatorios, traumáticos y neoplásicos. Su determinación es de baja especificidad, alta disponibilidad, reproducibilidad y fiabilidad diagnóstica. Posterior a un estímulo de inflamación aguda la PCR se incrementa a 0,5 mg/dL en las primeras 6 horas y llega a su pico máximo a las 48 horas, una vez desaparece el estímulo sus niveles disminuyen rápidamente. Si el estímulo es crónico (artritis, tuberculosis o neoplasias), los niveles de PCR pueden permanecer elevados. Se determina mediante pruebas de aglutinación o turbidimetría y sus protocolos varían dependiendo de la casa comercial.

4.3.4. VALORACIÓN DEL SISTEMA DE COMPLEMENTO

4.3.4.1. CUANTIFICACIÓN DE C3 Y C4

Los niveles séricos de las proteínas de C3 y C4 son los parámetros clínicos que con mayor frecuencia se usan para el análisis de los reactantes de fase aguda de la inflamación, sin embargo, pueden ser consumidas por complejos inmunes.

La cuantificación de las moléculas C3 y C4 en suero o plasma se realiza mediante la prueba de inmunodifusión radial (IDR) y nefelometría anteriormente descritas. En la IDR, las muestras de suero (5µL) se siembran en los pozos de la placa que contiene anticuerpo contra la molécula C3 o C4. Es una reacción de punto final que requiere 2 a 4 días para la determinación de la concentración de cada una de las proteínas del complemento, la cual es directamente proporcional al diámetro del aro de precipitación. Bajos niveles de las moléculas

C3 y C4 se pueden encontrar en enfermedades autoinmunes como el LES, las crioglobulinemias y nefritis posestreptocócica. Valores de referencia C3 = 80-200 mg/dL, C4 = 15-45 mg/dL.

4.3.4.2. EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN DE LA VÍA CLÁSICA: COMPLEMENTO HEMOLÍTICO 50

Esta prueba hemolítica evalúa la funcionalidad del sistema de complemento por vía clásica. El valor se obtiene midiendo la dilución de suero que sea capaz de hemolizar eritrocitos de carnero previamente sensibilizados con Ac antieritrocito de carnero obtenido en conejo (hemolisina). La absorbancia de la hemoglobina liberada es graficada frente a crecientes cantidades de complemento (muestra) añadidas, dando una curva sigmoidal (en forma de S), en donde la región intermedia (50 % de hemólisis) tiene una relación casi lineal entre el grado de hemólisis y la cantidad de complemento presente en la muestra de suero del paciente.

Los valores se expresan en unidades 50 % hemolíticas por mL. Una unidad de CH50 se define como la cantidad de suero o dilución del suero requerida para lisar el 50 % de los eritrocitos sensibilizados. El protocolo es:

- Muestra: suero conservado a -20 °C
- Reactivos: buffer complemento. Solución de Mayer Croft o buffer veronal pH 7,2 (ver anexo). Glóbulos rojos de carnero. Anticuerpos anti-GR de carnero (hemolisina) la cual se debe titular a 2U hemolíticas (ver anexo)
- Procedimiento:
 - Lavar los GR de carnero con buffer complemento (C') 1X3 veces y suspender a 1,25 % en buffer C'.
 - A un volumen de GR de carnero 1,25 % adicionar 1 volumen de hemolisina a 2 unidades hemolíticas (UH). (Titulación de la hemolisina. Ver anexo). Dejar a temperatura ambiente por 15 min.
 - Hacer una dilución inicial del suero del paciente y de un *pool* de suero (control) a 1:30 en buffer C'.
 - Para cada paciente montar 5 tubos de prueba, un control y un estándar (100 % hemólisis), según la **tabla 4.3**.
 - Centrifugar 10 min a 2500 RPM a 4 °C
 - Leer absorbancias del sobrenadante de cada tubo en espectrofotómetro a 550 nm usando como blanco el control. Leer la absorbancia del Estándar (ST 100 % hemólisis).

Tabla 4.3. *Protocolo para realizar el CH50: las cantidades se encuentran en ml*

Tubo \ React. (ml)	1	2	3	4	5	C	St
Buffer C'	0,7	0,65	0,6	0,55	0,5	0,9	-
H ₂ O destilada	-	-	-	-	-	-	0,9
Suero 1:30	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4	-	-
GR-Hemolisina	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
Incubar A 37 °C por 30 min en agitación constante							
Buffer C'	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

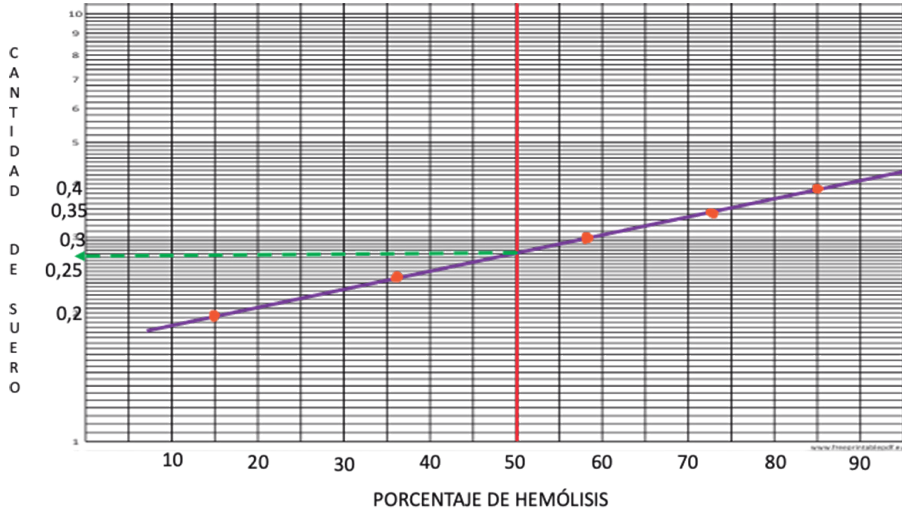
- Cálculos: para cada tubo hallar

$$\frac{\text{DO Muestra}}{\text{DO Estándar}} \times 100 = \% \text{ hemólisis}$$

DO Estándar

Graficar cada uno de los datos de cada tubo tanto del paciente como del control en papel semilogarítmico, en el eje de las ordenadas graficar la cantidad de suero usada en cada tubo vs. en el eje de las abscisas el porcentaje de hemólisis de cada tubo (**figura 4.22**).

Figura 4.22. Gráfica para CH50 en papel semilogarítmico se grafican los valores hallados de cada tubo del suero del paciente vs el porcentaje de hemólisis. Se requiere hallar la cantidad de suero capaz de hemolizar el 50% para la determinación de las unidades hemolíticas



El punto donde la recta resultante de los datos corta con el 50 % de hemólisis, se lleva a la cantidad de suero (eje Y) que se requiere para hemolizar el 50 % de GR de carnero. La hemólisis debe encontrarse entre 20 % a 80 %. En caso de tener valores superiores o inferiores a la dilución de suero establecida (1:30) se debe hacer una dilución mayor o menor del suero problema.

$$\text{Título} = \frac{\text{Factor de dilución del suero.}}{\text{ml de suero hallados en el 50 \% de hemólisis}} = X \text{ Unidades Hemolíticas}$$

Ejemplo según la gráfica:

$$\text{Título} = 30/0,27 = 111,1 \text{ UH}$$

$$\text{Valor de referencia} = 75-150 \text{ UH}$$

- Interpretación: la reducción del complemento sérico puede deberse a un defecto genético, a compromiso dérmico extenso, a enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso sistémico, síndromes nefríticos, enfermedad por complejos inmunes o a la disminución en la síntesis de las proteínas del sistema de complemento. La alteración más frecuente es el incremento en la concentración de componentes del sistema como respuesta a la inflamación como reactantes de fase aguda.

4.3.5. VALORACIÓN DE LAS CITOQUINAS

La cuantificación de la concentración plasmática de las citoquinas y sus receptores presenta dificultades relacionadas con su corta vida media, presencia de factores bloqueadores e inhibidores naturales y las dificultades derivadas de la técnica de medición que generalmente son citometría de flujo, western blot o ELISA. Las citoquinas que con mayor frecuencia se cuantifican son la IL-1, IL-2, IL-6, IFN γ , TNF e IL-10 generalmente mediante *kits* de ELISA los cuales tienen sus propios protocolos.

Existen ensayos multiparamétricos por citometría de flujo, la cual está basada en inmunoensayos que usan perlas conjugadas con Acs específicos frente a diversos analitos lo que permite la cuantificación simultánea de un alto número de proteínas (hasta 30 proteínas) en una única muestra de suero, plasma, sobrenadante de cultivos celulares o lisados celulares, mediante la técnica de citometría de flujo. Como ventajas sobre la ELISA y Western blot para la determinación de citoquinas es la reducción significativa del volumen de muestra (25-50 μ L), el tiempo de procesamiento es corto (2 a 5 horas) y es de mayor sensibilidad.

4.4 PRUEBAS INMUNOLÓGICAS PARA DETERMINAR LA FUNCION DE LA INMUNIDAD ADAPTATIVA

4.4.1. VALORACIÓN DE LOS ANTICUERPOS

4.4.1.1. PRUEBAS DE CUANTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS

Los Acs se pueden cuantificar mediante la técnica de IDR anteriormente descrita la cual es una técnica de punto final en la que la concentración de Acs es proporcional al anillo de precipitación.

La nefelometría, técnica más sensible que la IDR cuantifica complejos Ag-Ac, se basa en la dispersión de luz que atraviesa un medio transparente en que hay una suspensión de partículas sólidas (complejos Ag-Ac) que dispersa la luz en todas direcciones y, como consecuencia, se observa turbidez. La intensidad de la luz depende del número de partículas suspendidas, su tamaño, su forma, los índices refractivos de la partícula y del medio dispersante y la longitud de onda de la radiación dispersada. La fuente emisora es un láser de 670 nm y la detección de dispersión se realiza a 90° respecto a la emisión. El sistema monitorea la dispersión en la reacción Ag-Ac, y finalmente realiza el cálculo matemático de la velocidad de cambio de la señal de dispersión.

La concentración de Acs varía según la edad y el contexto clínico. En los primeros tres meses el valor de IgG esta incrementado debido a la IgG materna que traspasó en el último trimestre y que se encuentra en la circulación del bebé (**tabla 4.4**)

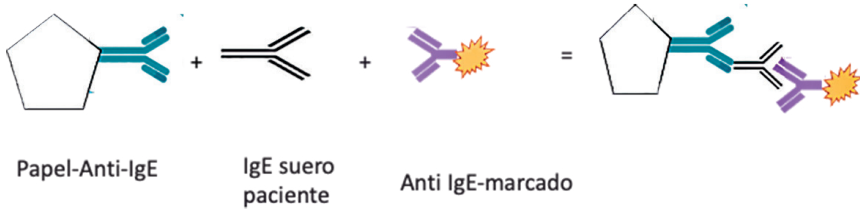
Tabla 4.4. Rangos normales de inmunoglobulinas según la edad

Edad	IgG (mg/dL)	IgM (mg/dL)	IgA (mg/dL)
Recién nacido a término	610-1540	1-4	6-30
3 meses	170-560	5-50	30-100
6 meses	200-670	8-70	30-100
1 año	330-1160	10-100	40-170
2-6 años	400-1100	10-160	50-180
7-12 años	600-1230	30-200	50-200
Adultos	700-1600	70-400	40-230

Nota. Modificada de Seoane *et al.* (2019).

Para la cuantificación de la inmunoglobulina E las técnicas inmunométricas permiten la detección de anticuerpos que estén a bajas concentraciones en suero de paciente. La técnica PRIST (*Paper Disk Radio Immunosorbent Test*) es usada para determinar IgE en suero, que normalmente se encuentra en bajas concentraciones excepto en pacientes alérgicos donde la concentración de IgE se incrementa. En esta prueba se usa un disco de papel el cual tiene adsorbido Acs anti-IgE (anticuerpo de captura), al cual se le adiciona el suero del paciente para permitir la unión anti-IgE-IgE, posteriormente por un lavado se elimina el exceso de Ac que no se unió a la fase sólida. Este complejo se evidencia mediante un conjugado anti-IgE marcada con isotopo radioactivo (radioinmunoanálisis), una enzima (ELISA) o luminol (quimioluminiscencia). Luego de la incubación y lavado para eliminar el exceso de conjugado, se realiza la lectura del inmunoensayo en el papel (**figura 4.23**). Los rangos séricos normales varían entre 3 y 423 UI/ml.

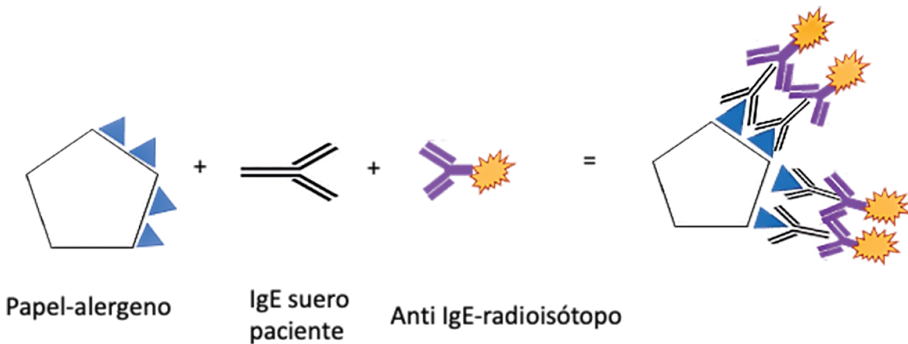
Figura 4.23. Cuantificación de IgE mediante inmunoensayo (PRIST) marcado con enzima, con radioisótopo o con luminol



Nota. Elaboración propia

La técnica RAST (*Disk Radio Allergosorbent Test*) permite la determinación de IgE específica para un alérgeno. El antígeno está absorbido en el disco de papel que se incuba con el suero del paciente y el complejo alérgeno-Ac se evidencia por medio de un conjugado (anti-IgE marcado con radioisótopo, con enzima o con luminol), luego de la incubación y lavado para eliminar exceso de conjugado, se procede a la lectura acorde con el reactivo marcador (**figura 4.24**).

Figura 4.24. Determinación de IgE específica para un alérgeno (RAST) causante de procesos alérgicos



Nota. Elaboración propia.

4.4.1.2. PRUEBAS QUE ANALIZAN LA DINÁMICA DE LOS ANTICUERPOS

En la respuesta inmunológica específica humoral, el resultado final de la activación de los linfocitos B es la producción de Acs efectoras. Se espera que los anticuerpos reconozcan antígenos frente a los que previamente se ha estado en contacto (difteria, tétano, polio) o frente a Ags que por ser tan frecuentes

y por el contacto que tiene el sistema inmune de manera temprana con estos Ags, se produzcan Acs como contra la *E. coli*, la cándida o contra los Ags de grupo sanguíneo. Estas pruebas apoyan el diagnóstico de inmunodeficiencias al encontrar títulos disminuidos en pacientes con infecciones a repetición.

4.4.1.2.1. Anticuerpos anti *E.coli* (Hemaglutinación pasiva)

En individuos inmunocompetentes hay presencia de estos anticuerpos ya que se está expuesto contra este antígeno desde el nacimiento. La deficiencia de estos anticuerpos puede sugerir un estado de inmunodeficiencia humoral. Se puede realizar estudios de la producción básica de anticuerpos como las hemaglutininas contra antígenos como la de *Escherichia coli*.

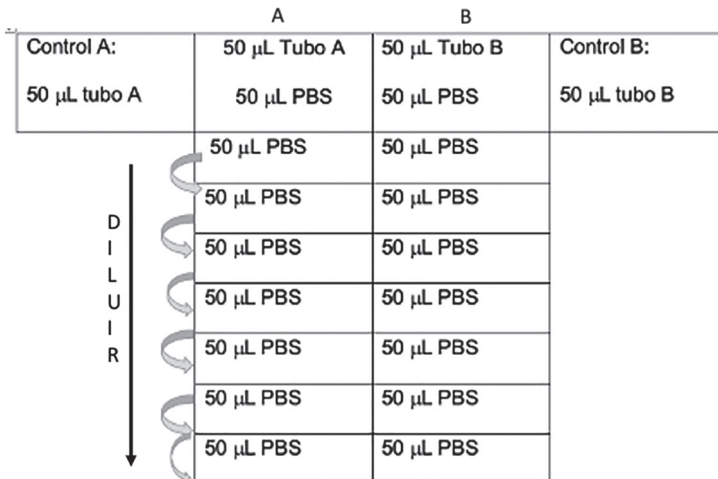
En la hemaglutinación pasiva el antígeno de la *E.coli* se absorbe sobre la membrana de los glóbulos rojos (O positivo) los cuales quedan sensibilizados con el antígeno el cual va a ser reconocido por el Ac específico para aglutinar los glóbulos rojos. De estos Acs se puede determinar IgG e IgM anti *E.coli*. Para determinar IgG se usa un agente reductor como el mercaptoetanol, el cual destruye las uniones de puentes disulfuro que unen las cadenas polipeptídicas de las moléculas de la IgM. Protocolo:

- Muestra: suero
- Reactivos: suero de conejo, glóbulos rojos O positivo, PBS, suero de conejo, solución de mercaptoetanol, pool de suero fresco.
- Antígeno: preparar antígeno de *E.coli* (ver anexo).
- Sensibilización de GR: lavar los glóbulos rojos O positivo tres veces con PBS, mezclar 100 μL del botón de hematíes lavados con 5 ml de Ag de *E.coli* (ver anexo), incubar 60 min a 37 °C, centrifugar 5 min a 2500 RPM, descartar el sobrenadante y lavar la mezcla anterior tres veces con suero de conejo al 1 % en PBS.
- Procedimiento:
 - Inactivar suero del paciente, *pool* de suero, suero de conejo en baño María a 56 °C por 30 minutos.
 - Tomar dos tubos por muestra según el siguiente cuadro:

Reactivo	Tubo A	Tubo B
Muestra	200 μL	200 μL
PBS	200 μL	-
Solución de 2- β mercaptoetanol	-	200 μL
Incubar a 37 °C por 30 min		

- Tomar 10 mL de PBS y agregarle 100 μ L de glóbulos rojos O positivo lavados tres veces en PBS (GR no sensibilizados).
- Tomar 10 mL de PBS y agregarle 100 μ L de GR O positivo sensibilizados con antígeno de *E. coli*.
- En una fila de placa microtituladora de pozos fondo en U adicionar 50 μ L de PBS para la fila A (Acs totales) y 50 μ L de PBS para la fila B (IgG anti *E. coli*).

Figura 4.25. Anticuerpos anti *E.coli*. protocolo de hemaglutinación pasiva para determinar el título de anticuerpos anti *E.coli*



- A los pozos de las filas A y B adicionar 100 μ L de GR sensibilizados.
 - A los pozos control A y control B adicionar 100 μ L de GR no sensibilizados.
 - Mezclar (**figura 4.25**).
 - Incubar la placa 3 horas a 37 °C en cámara húmeda, realizar la lectura. Se puede leer al día siguiente dejando la placa a 4 °C.
- Interpretación: el título corresponde al último pozo que presenta hemoaglutinación. Los controles deben tener un botón compacto. Se informa Acs totales (fila A): hemoaglutinación hasta la última dilución que presente aglutinación. IgG (ilaf B): hemoaglutinación hasta la última dilución que presente aglutinación. Ejemplo: Acs totales 1:256. IgG 1:64.

4.4.1.2.2. *Anticuerpos anti cóndida (aglutinación)*

Otro tipo de anticuerpos que se puede determinar para la función de los anticuerpos y que aporta en el diagnóstico de inmunodeficiencias humorales es el estudio de la producción básica de anticuerpos contra la *Cándida albicans*, antígeno que se está en contacto desde el nacimiento.

La detección de Acs anticándida se realiza mediante la técnica de aglutinación directa simple, donde la reacción es provocada por Acs IgG específicos con dos o más receptores, que se producen por contacto temprano y de alta frecuencia de presentación de este tipo de Ag, dichos Acs reconocen las levaduras de cóndidas en suspensión y producen aglutinación. Protocolo:

- Muestra: suero del paciente preservado a -20°C .
- Antígeno: de un cultivo de cóndida en Agar Saboureaud de 18 h de incubación se toma una asada de la cepa y se emulsiona en solución salina (SS), hervir por 30 min y ajustar la cóndida en 5×10^6 /ml en cámara de Newbawer. Distribuir en alícuotas de 3 ml y conservar a -20°C .
- Procedimiento:
 - Realizar las diluciones según el siguiente cuadro (**figura 4.26**)

Figura 4.26. *Anticuerpos anticándida. Protocolo para determinar título de anticuerpos anticándida*

Dilución	1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	C(-)
Suero (ml)	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Soluc.Salina (ml)	0,8	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Diluir	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	-
										desechar
Ag Cóndida (ml)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3

- Incubar a 37°C por dos horas
- Llevar a 4°C por 15 h
- Leer al microscopio de luz (40X) iniciando desde la máxima dilución.
- Interpretación: el título corresponde al último tubo que presente aglutinación de más del 50 % de cóndidas en cada campo. El aumento de cuatro veces de los títulos de IgG indica infección activa. En pacientes inmunodeficientes se presentan títulos disminuidos de IgG anticándida.

4.4.1.2.3. Isohemaglutininas

Esta prueba se realiza para demostrar en el suero la presencia de Acs naturales tipo IgM del sistema ABO mediante el método de aglutinación directa simple. En el procedimiento se ponen en contacto diluciones seriadas del suero problema con glóbulos rojos conocidos A y B. La presencia de Acs anti A y anti B se evidencia por una marcada aglutinación. En pacientes inmunodeficientes se observa títulos disminuidos.

- Antígeno: tomar una muestra de glóbulos rojos (GR) A, lavar tres veces en SS (adicionar SS, centrifugar a 1800 RPM por 5 min y eliminar sobrenadante) y suspender el botón de GR al 2 % en SS. Realizar el mismo lavado y suspensión a los GR B.
- Reactivos: solución salina 0,85 %, glóbulos rojos A y B
- Protocolo
 - Tomar glóbulos rojos A y lavarlos tres veces con SS. Proceder de igual forma con los glóbulos rojos B.
 - Diluir los glóbulos rojos al 2 %.
 - Preparar 10 tubos para cada paciente según el siguiente cuadro (figura 4.27).

Figura 4.27. Isohemaglutininas. Protocolo para determinar IgM antiggrupo sanguíneo

Dilución	1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	C(-)
Suero (ml)	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Soluc.Salina (ml)	0,8	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Diluir	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	-
										desechar
Ag Cándida (ml)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3

- Mezclar y dejar en reposo 15 min. Centrifugar a 2.000 RPM por 5 min
- Agitar cada tubo y observar la aglutinación macroscópica. El título corresponde al último tubo que presenta aglutinación.

4.4.2. VALORACIÓN DE LOS LINFOCITOS T Y B

4.4.2.1. MÉTODOS DE SEPARACIÓN DE POBLACIONES LINFOCITARIAS

Para poder analizar las funciones celulares se requiere aislar una población pura de un determinado tipo de células, usar técnicas para contar el número de células obtenidas y para determinar su viabilidad, es decir, comprobar su viabilidad.

Las técnicas de separación se basan en las diferencias existentes entre los distintos tipos celulares como por ejemplo, el tamaño, la densidad de las células, la afinidad de anticuerpos hacia determinados epítomos de la superficie celular, la dispersión de luz y la emisión de fluorescencia.

Cuando se separan las células por gradientes de densidad, el medio que se usa para formar el gradiente de densidad debe ser muy soluble en agua para poder abarcar un amplio rango de densidades, ser inerte, no tóxico y no ejercer mucha presión osmótica en disolución. Ejemplos de este tipo de medios son la sacarosa, el cloruro de cesio, metrizamida y polímeros de elevado peso molecular como los dextranos, el Ficoll o el Percoll, etc.

4.4.2.1.2. Separación por gradiente de Ficoll

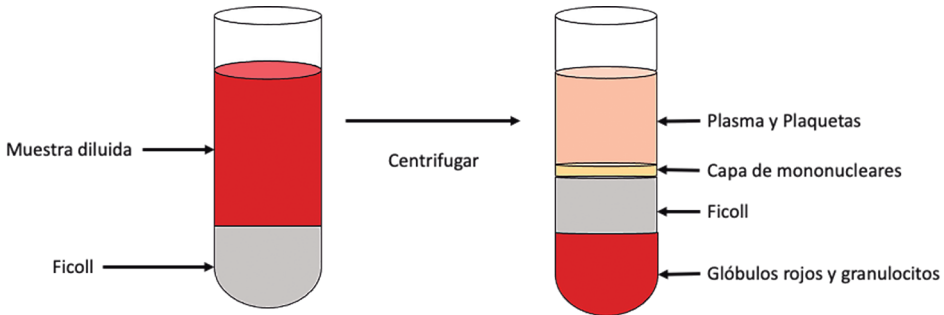
Para poder cuantificar y analizar la función de los linfocitos T y B se requiere la separación y purificación de cada célula teniendo en cuenta su tamaño, densidad y presencia de determinados marcadores en la superficie celular. La propiedad de mayor uso para la separación celular es en función de la densidad y es el principio usado con la técnica de Ficoll que separa células mononucleares del resto de las poblaciones sanguíneas.

El Ficoll es un polisacárido hidrofílico de densidad 1,077 g/mL que al entrar en contacto con sangre total y después de una centrifugación, se separan las poblaciones sanguíneas acorde a su densidad. Protocolo:

- Muestra: sangre total anticoagulada (heparina).
- Reactivos: Ficoll, buffer fosfato salino (PBS).
- Procedimiento
 - Diluir la muestra 1:2 en PBS y mezclar.
 - Adicionar 2 ml de Ficoll en un tubo de centrífuga.
 - Adicionar 4 mL de la muestra diluida con pipeta, con cuidado por los bordes del tubo para no romper el gradiente.

- Centrifugar a 2000 RPM por 20 minutos a temperatura ambiente (**figura 4.28**).
- Con una pipeta tomar la capa de mononucleares y lavar tres veces con PBS. Resuspender en 1 ml de medio RPMI con suero bovino fetal.
- Al microscopio realizar un recuento de viabilidad con azul tripán, donde las células vivas se observan refringentes y las células muertas se observan azules.

Figura 4.28. Separación de mononucleares mediante el gradiente de Ficoll. La muestra de sangre diluida (2 partes) sobre el Ficoll (1 parte) se centrifuga para obtener la interfase inferior donde están los glóbulos rojos y los PMN, luego está la interfase de Ficoll y sobre esta se encuentra la capa de mononucleares y en la parte superior se encuentra el plasma y las plaquetas.



Nota. Elaboración propia.

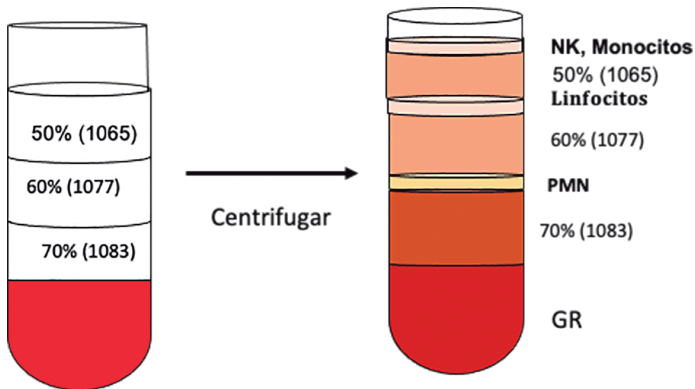
4.4.2.1.3. Separación por gradientes de Percoll

La viscosidad de Percoll depende de la fuerza iónica que es menor en solución salina fisiológica que en agua o en sacarosa 0,25 M. Esta propiedad le permite producir gradientes en NaCl 0,15 M los cuales posteriormente se centrifugan. El Percoll es una solución coloidal al 23 % (p/p) en agua que tiene una densidad de 1,130/gm 0,005 g/L, se pueden conseguir gradientes que varían entre 1,0 y 1,3 g/mL por centrifugación, tiene un pH de aproximadamente 9,0 aunque puede ser usado con pH de 5,5 y 10 y tiene una osmolalidad muy baja, lo cual permite una distribución de partículas en gradientes de densidad. Protocolo:

- Muestra: sangre total heparinizada.
- Reactivos: preparar los gradientes de Percoll al 50% (1.065 g/mL), 60 % (1.077 g/mL) y 70% (1.083) usando como diluyente buffer de Hanks o PBS, y homogenizar con vórtex cada solución.

- Procedimiento
 - Depositar en un tubo cónico la muestra y posteriormente 1,5 mL de Percoll 70 %, luego 1,5 mL de Percoll 60 % y finalmente 1,5 mL de Percoll 30%. Cada solución de Percoll debe ser depositada cuidadosamente por los bordes de las paredes del tubo con una ligera inclinación.
 - Centrifugar a 2200 rpm x 10 minutos. Después de la centrifugación se observa un anillo de color amarillo y turbio entre las interfases del Percoll de 50 % y 60 %; del cual se obtiene cuidadosamente con una micropipeta dicho anillo donde teóricamente se hallan los linfocitos (**figura 4.29**).
 - Este pequeño volumen del anillo se deposita en un tubo cónico para ser lavado una o dos veces con buffer de Hank o PBS para mantener más viables a los linfocitos además de crear un ambiente de presión osmótica isotónica.

Figura 4.29. Separación de mononucleares mediante el gradiente de Percoll. La muestra de sangre total es colocada en el fondo del tubo y posteriormente se adiciona cada gradiente de Percoll por el borde del tubo. Al centrifugar se observan las diversas interfases de separación celular separadas por cada gradiente de Percoll



Nota. Elaboración propia.

4.4.2.1.4. Cell sorting

Esta metodología tiene el mismo principio de la citometría de flujo con la que se pueden clasificar hasta cuatro poblaciones celulares diferentes de una misma muestra; las células que se desea separar pasan por una corriente de fluido a

través de una celda de flujo las cuales son detectadas por un láser y la corriente se rompe en gotas en un punto de ruptura fijo. Si una célula de interés pasa a través del rayo láser, es identificada y cuando la gota alcanza el punto de ruptura, se aplica una carga eléctrica a la corriente (positiva o negativa). A medida que la gota abandona la corriente, pasa a una placas de desviación que, por acción de un alto voltaje, atrae la gota a las placas, dependiendo de la carga que se les proporcionó. Las gotas descargadas pasan a los desechos y las gotas desviadas se recogen en tubos colectores.

4.4.2.1.5. *Formatos de separación celular basada en afinidad*

Los principios de la purificación por afinidad se han aplicado de diferentes maneras para la captura de células, según los fluidos de origen y el rendimiento requerido. Los ligandos de unión celular se han inmovilizado sobre sustratos sólidos (métodos similares a cromatográfico) o portadores de polímeros (método pseudo/no cromatográfico), así como partículas magnéticas (MACS) y marcadores fluorescentes (FACS), que permiten la separación mediante un campo electromagnético.

4.4.2.2. *CUANTIFICACIÓN DE LINFOCITOS T Y B*

4.4.2.2.1. *Citometría de flujo*

Para el análisis de suspensiones celulares mediante la citometría de flujo, se requiere realizar preparaciones previas a la citometría. Se deben unir fluorocromos convenientes a las células de manera diferencial para que con cada color o combinaciones de color se pueda caracterizar cada población celular. Esta caracterización se logra mediante la determinación de receptores de membrana celular denominados CD (*Cluster differentiation* o grupo de diferenciación), marcadores como el HLA, Inmunoglobulinas de membrana, entre otros. Entre los marcadores más reconocidos y utilizados para el reconocimiento de poblaciones celulares está el CD3 para linfocitos T, CD4 para LTh, monocitos o macrófagos, CD8 para LTc, CD19 y CD20 para LB, CD33 para células progenitoras mieloides y monocitos.

Para la identificación celular se requiere de Acs monoclonales específicos para los diferentes receptores los cuales deben estar marcados con fluorocromos para posteriormente ponerlos en contacto con la suspensión celular. Como ejemplo, para la determinación de linfocitos T se pone en contacto la suspensión celular con el Ac monoclonal anti CD3 marcado con FITC y se incuba en oscuridad para que al colocarlo en el citómetro el análisis de señales verdes corresponde a los linfocitos T ya que son las células que expresan en su membrana el receptor CD3.

Con la citometría de flujo se pueden analizar receptores marcadores de poblaciones celulares en muestras líquidas como de sangre periférica y médula ósea previa eliminación de los glóbulos rojos, inmunoglobulinas presentes en la superficie celular o en el citoplasma, marcadores citoplasmáticos, valoración de ciclo celular, fenotipaje de leucemias y linfomas, proporción adecuada de poblaciones celulares como en el caso del VIH (LTh vs LTr), entre otros. Los valores de referencia para LT es 45 % a 65 %, LB 8 % a 12%. Relación Th vs. Tr mínimo 1:1, óptimo 2:1.

4.4.2.2.2. *Rosetas de carnero para la cuantificación de linfocitos T*

La prueba *in vitro* de formación de rosetas de carnero ha sido utilizada para la cuantificación de esta subpoblación celular y se basa en la capacidad que tienen los glóbulos rojos de carnero para adherirse al receptor CD2 que se encuentra en la membrana de los linfocito T formando una flor que se observa al microscopio de luz. Protocolo:

- Muestra: linfocitos totales obtenidos por separación de Ficoll a una concentración de 2×10^6 linfocitos/mL.
- Reactivos: glóbulos rojos de carnero lavados tres veces en solución salina y resuspendidos al 1 %.
- Procedimiento:
 - Colocar volúmenes iguales de linfocitos y GR al 1 % en un tubo, centrifugar 5 minutos a 1800 RPM e incubar 30 minutos a 37 °C.
 - Tomar con una pipeta del fondo del tubo una gota y colocarla en un portaobjetos cubierto con laminilla.
 - Leer al microscopio. Se considera una roseta al linfocito que tenga adheridos cuatro o más eritrocitos de carnero (**figura 4.29**).

4.4.2.3. *EVALUACIÓN DE LA FUNCIONALIDAD DE LT Y LB*

La funcionalidad de los linfocitos T se puede evaluar mediante cultivo celular con mitógenos (concanavalina A o fitohemaglutinina) para observar la proliferación de los linfocitos T, en donde hay síntesis del ADN que se puede determinar mediante la adición de nucleótidos marcados con timidina tritiada. La lectura se realiza por técnicas de autorradiografía comparativa donde se observa la incorporación de la timidina en la muestra vs. la que se encuentra en la muestra del control sano.

Por otra parte, como resultado de la activación de los linfocitos T, se producen citoquinas, protocolo que se realiza en un cultivo celular de linfocitos T que al ser activados con un mitógeno o un antígeno específico va a liberar al medio de cultivo las citoquinas derivadas de la activación del linfocito T. Estas citoquinas se pueden cuantificar por medio de la prueba de ELISA.

La funcionalidad de los linfocitos B igualmente se realiza mediante cultivos para observar la proliferación marcando las células hijas con carboxy-fluorescein-succinimidyl-ester o con timidina tritiana o bromodesoxiuridina.

Además, la evaluación de la funcionalidad de los linfocitos B se observa con la producción de anticuerpos IgG, IgM e IgA producidos por el paciente o la cuantificación de IgG del sobrenadante de cultivos de linfocitos B estimulados.

REFERENCIAS

- ABBAS, A., LICHTMAN, A., POBER, J. (2018). *Inmunología Celular y Molecular*. Editorial Elsevier. 9ª ed. Madrid España. ISBN 84-8174-710-6
- ARBELAEZ, C. (2009). *Fundamentos de genética e inmunología para bancos de sangre y medicina transfusional*. Med y Lab.15(1,2).
- BLANCO, E., PÉREZ, M., ARRIBA, S., van DONGEN, J., ORFAO, A. et. al. (2018). Age-associated distribution of normal B- cell and plasma cell subsets in peripheral blood. *Translat Clin Immunol*. 141(6):2208-2219. Doi 10.1016/j.jaci.2018.02.017
- DE LA GUARDIA, O., LAM, R., ARCE, A., JUNCO, Y. (2017). Determinación del componente C4 del sistema de complemento usando mini-nefelómetro. *Rev Cub Hematol, Inmunol y Hemoter*. 33(3):111-113.
- DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA, PARASITOLOGÍA E INMUNOLOGÍA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES. (2020). *Guía de Técnicas Inmunológicas*. Revisado septiembre 14-2023. <https://www.fmed.uba.ar/sites/default/files/2020-01/GUIA%20DE%20TECNICAS%20INMUNOLOGICAS%202020.pdf>
- ENS, K., VOIGT, J., FECHNER, K., ROHWÄDER, E. (2015). EUROPattern suite technology for computer aided immunofluorescent microscopy in autoantibody diagnostics. *Lupus*, 24: 526-529. Doi 10.1177/0961203314559635
- GAN, SD., PATEL, KR. (2013). Enzyme immunoassay and enzyme immunosorbent assay. *J Invest Dermatol*. 133(9):e12. doi: 10.1038/jid.2013.287.
- GONZÁLEZ, A., CORAL, A., OTERO, M., MUÑIZ, R., REGUEIRO, J. (2018). *Inmunogenética*. Editorial Síntesis. 1ª ed. España.

- GONZALEZ, L., MOLINA J. (2010). Evaluación de la inflamación en el laboratorio. *Rev Colomb Reumatol.* 7(1):35-47 http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-81232010000100004&lng=en.
- HORNBECK, P. (2017). Double-immunodiffusion Assay for detecting Specific Antibodies (Ouchterlony). *Curr Protoc Immunol.* 2;116:2.3.1-2.3.4. doi: 10.1002/cpim.18.
- IM, K., MARENINOV, S., DIAZ, MFP., YONG, WH. (2019). An introduction to performing Immunofluorescence Staining. *Methods Mol Biol.* 1897:299-311. doi: 10.1007/978-1-4939-8935-5_26.
- JUAREZ, D., MUNGUÍA, P., MENDOZA, C., ETCHEGARAY, I, et.al. (2021) Genetic component of autoimmune rheumatological diseases. *Reumatol Clin.* 22:S2173 doi:10.1016/j.reumae.2021.080.001
- KINDT, T., GOLDSBY, R., OSBORNE, B. (2007) *Inmunología de Kuby.* Mc Graw Hill Interamericana Editores. Sexta ed. México. ISBN 978-970-10-6454-2
- LIFSCHITZ, V. (2019). Respuesta inmune ante infecciones. Facultad de Medicina- Microbiología e Inmunología.- Universidad Nacional del Nordeste. Argentina.
- LOMONTE, B. (2020). *Manual de Métodos Inmunológicos.* Universidad de Costa Rica. 5ª ed. <https://www.researchgate.net/publication/346571436>
- MUJTABA, MG., BALIBAN, T., BHAGU, J., HERRERA, M. (2021). A Laboratory exercise simulsting antibody and antigens reactions of Ouchterlony double immunodiffusion assay using inorganic salts. *J Microbiol Biol Educ.* 22(2):e00103-21. doi: 10.1128/jmbe.00103-21. eCollection 2021
- MEDICENTRO ANDYA REY Ltda. *Guía Práctica de Laboratorio Clínico.* 1 ed. Colombia 2000. ISBN 958-96645-0-4
- MONTES, N. (2018). *Técnicas de inmunodiagnóstico.* Editorial Síntesis. España. ISBN 9788491711452
- MONTOYA, C., LÓPEZ, A., VELILLA, P., RUGELES, C., PATIÑO, P., GARCÍA, D. (2003). Evaluación de la función de los granulocitos en el Síndrome de hiperinmunoglobulina E con infecciones recurrentes. *Biomédica.* 23:60-76. DOI <https://doi.org/10.7705/biomedica.v23i1.1198>
- MURPHY, K., WEAVER, C. (2017). *Inmunología de Janeway.* 9ª. Ed. Editorial Manual Moderno, Colombia. ISBN 978-607-448-767-1
- Odell ID, Cook D. Immunofluorescence techniques. *J Invest Dermatol.* 2013 Jan;133(1):e4. doi: 10.1038/jid.2012.455
- PARHAM P. *El Sistema Inmune.* Editorial Manuel Moderno. 4ª ed. México. 2014.

- PATIÑO, L., VELAZQUEZ, R. (2022). Fundamentos de citometría de flujo. *Mens Bioquim.* 46:67-77. Memorias XLIX Taller de actualización Bioquímica, Facultad de Medicina UNAM. México. ISSN 0188-137X
- PETERSON, K., BARBEL, P. (2016). Cuidado de los niños con síndrome de Hiper IgE. *Nursing.* 33(2):54-55. Doi 10.1016/j.nursi.2016.04.017.
- PETRI, B. (2018). Neutrophil chemotaxis. *Cell Tissues Res.* 371(3):425-436. Doi 10.1007/s00441-017-2776-8.
- ROJAS W, ANAYA JM, ARISTIZABAL B, CANO LE, GOMEZ LM, LOPERA D. (2017) *Inmunología.* Editorial Corporación para Investigaciones Biológicas. 18ava ed. Colombia. ISBN 958907615-7
- SÁNCHEZ, L., ESPINOSA, A., DIOSDADO, F. (2022). Citometría de flujo, un universo de posibilidades en el ámbito veterinario. Revisión. *Rev Mex Cienc Pecu.* 13(3):763-786. Doi 10.22319/rmcp.v13i3.5985.
- SEOANE, M., DE ARRIBA, S. (2019). Diagnóstico y manejo de las inmunodeficiencias primarias en niños. 2:415-35
- TAPIA, L. (2015). Laboratorio en virología en la práctica clínica. *Rev Med Clin Las Condes.* 26(6): 744-752. Doi 10.1016/j.rmclc.2015.11.003
- ZAMBRANO S. *Inmunología Básica y Clínica.* Editorial McGraw Hill, Mexico 2018. ISBN 970-10-5513-6

ANEXO

SISTEMA LUMINEX

El sistema Luminex es un analizador flexible basado en los principios de citometría de flujo, donde combinan fluidos, óptica y procesamiento de señales digitales avanzadas con tecnología de microesferas para ofrecer capacidades de ensayo multiplex. La capacidad de realizar de 80 a 100 analitos diferentes de carácter proteico o ácidos nucleicos en un solo volumen de reacción y usar perlas magnéticas o cuentas de poliestireno liso, hace de esta metodología una opción eficiente para los laboratorios que necesitan una mayor flexibilidad.

Las perlas se leen individualmente en las plataformas contenidas en los instrumentos que analizan con principios de citometría de flujo fluorescente. Luminex ofrece un mayor rendimiento de muestra con un tiempo de lectura de placa de 96 pocillos de solo 45 minutos. El sistema Luminex es la combinación de tres tecnologías principales. La primera son las microesferas, una familia de microesferas de poliestireno del tamaño de micras teñidas con fluorescencia, que actúan como el identificador y la superficie sólida para construir el ensayo. El segundo es un instrumento basado en citometría de flujo, que integra componentes clave de detección como láseres, óptica, fluidos y procesadores de señales digitales de alta velocidad. El tercer componente es el *software* que está diseñado para la adquisición de datos basada en protocolo con el análisis de regresión de datos robusta.

Por otra parte, los inmunoensayos multiplex basados en perlas para la cuantificación de proteínas basados en los principios de ELISA tipo sándwich, permite su uso con suero, plasma, lisados de células y tejidos, sobrenadante de cultivo celular provenientes de humanos, ratones, ratas, primates no humanos, porcinos y caninos.

En los ensayos que utilizan esta tecnología para medir 80 analitos de proteínas diferentes por pocillo, los anticuerpos de captura están unidos a perlas Luminex que se encuentran teñidas internamente. La conjugación de un anticuerpo específico con una perla distinta permite el análisis de múltiples analitos en un solo pocillo (ejemplo: citoquinas). Las muestras se mezclan con los juegos de cuentas; los analitos de interés dentro de la muestra están unidos

por los anticuerpos de captura, se añaden anticuerpos de detección marcados fluorescentemente (ficoeritrina) específicos de los analitos de interés formando un sándwich antígeno-anticuerpo. Este ensayo se lee en un equipo Luminex donde un láser determina la magnitud del analito unido.

TITULACIÓN DE LA HEMOLISINA PARA REALIZAR LA PRUEBA CH50

El título de la hemolisina para esta prueba debe ser de 2 unidades hemolíticas (UH). Para esto, se usa un *pool* de sueros de personas sanas (fuente de complemento), eritrocitos rojos de carnero lavados y suspendidos a 1,25 %, hemolisina (Ac IgG 7S anti-GR de carnero) a titular y que sea capaz de hemolizar el 100 % de GR carnero sensibilizados usando una fuente de complemento diluida al 30 %. Protocolo:

- Descomplementar la hemolisina a baño María a 56 °C por 30 minutos.
- Lavar GR de carnero con buffer complemento tres veces (o hasta que el sobrenadante no evidencie hemólisis) y suspender a 1,25 % en buffer complemento.
- Realizar diluciones del pool de suero en placa microtituladora de pozo fondo en U (Tomar la placa en sentido horizontal).
 - Placa 1. Diluir el suero (S°) a 1:7,5 con buffer complemento. En los 12 primeros pozos de la placa de la fila 1, colocar 100 uL de la dilución del suero, en los demás pozos de la placa colocar 50 uL de buffer complemento. A partir de la primera fila, mezclar y pasar 50 ul de esa dilución a la fila 2, mezclar y pasar 50 uL a la fila 3 hasta completar la placa. En la fila G descartar los últimos 50 uL de la mezcla. En la fila H se colocarán los controles de la prueba.

- A la placa 1 adicionar el volumen de cada pozo respectivo de la placa 2, es decir 50 uL del pozo 1A de la placa 2 al pozo 1A de la placa 1, 50 uL del pozo 1B de la placa 2 al pozo 1B de la placa 1 y así sucesivamente. Quedaría así:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A	S° 1:7,5 H - G R 1:2	S ° 1:7,5 H-GR 1:4	S° 1:7,5 H-GR 1:8	S° 1:7,5 H-GR 1:16	S° 1:7,5 H-GR 1:32	S° 1:7,5 H - G R 1:64	S° 1:7,5 H - G R 1:128	S° 1:7,5 H-GR 1:256	S ° 1:7,5 H - G R 1:512	S° 1:7,5 H - G R 1:1024	S° 1:7,5 H - G R 1:2048
B	S° 1:15 H - G R 1:2	S° 1:15 H-GR 1:4	S° 1:15 H-GR 1:8	S° 1:15 H-GR 1:16	S° 1:15 H-GR 1:32	S° 1:15 H - G R 1:64	S° 1:15 H - G R 1:128	S° 1:15 H-GR 1:256	S° 1:15 H-GR 1:512	S° 1:15 H - G R 1:1024	S° 1:15 H - G R 1:20148
C	S° 1:30 H - G R 1:2	S° 1:30 H-GR 1:4	S° 1:30 H-GR 1:8	S° 1:30 H-GR 1:16	S° 1:30 H-GR 1:32	S° 1:30 H - G R 1:64	S° 1:30 H - G R 1:128	S° 1:30 H-GR 1:256	S° 1:30 H-GR 1:512	S° 1:30 H - G R 1:1024	S° 1:30 H - G R 1:20148
D	S° 1:60 H - G R 1:2	S° 1:60 H-GR 1:4	S° 1:60 H-GR 1:8	S° 1:60 H-GR 1:16	S° 1:60 H-GR 1:32	S° 1:60 H - G R 1:64	S° 1:60 H - G R 1:128	S° 1:60 H-GR 1:256	S° 1:60 H-GR 1:512	S° 1:60 H - G R 1:1024	S° 1:60 H - G R 1:20148
F	S° 1:320 H - G R 1:2	S ° S ° 1:320 H-GR	S ° S ° 1:320 H-GR	S ° S ° 1:320 H-GR	S ° S ° 1:320 H-GR	S° 1:320 H - G R 1:64	S° 1:320 H - G R 1:128	S ° S ° 1:320 H-GR	S ° S ° 1:320 H-GR	S° 1:320 H - G R 1:1024	S° 1:320 H - G R 1:20148
G	S° 1:640 H - G R 1:2	S ° S ° 1:640 H-GR	S ° S ° 1:640 H-GR	S ° S ° 1:640 H-GR	S ° S ° 1:640 H-GR	S° 1:640 H - G R 1:64	S° 1:640 H - G R 1:128	S ° S ° 1:640 H-GR	S ° S ° 1:640 H-GR	S° 1:640 H - G R 1:1024	S° 1:640 H - G R 1:20148
H					C GR	CH	C S ° 1:7,5	C S ° 1:15	C S ° 1:30	C S ° 1:60	

- Controles de la prueba:
 - Control de GR: 50 uL de GR carnero 1,25 % + 50 uL de buffer complemento (GR no sensibilizados).
 - Control de suero: 50 uL de suero diluido 1:7,5 1:15 1:30 1.60 + 50 uL de BC' + 50 uL de GR de carnero no sensibilizados.
 - Control de hemolisina: hemolisina descomplementada 1:2 50 uL + 50 uL de BC' + 50 uL de GR no sensibilizados.
- Incubar la placa preparada en el item f e incubar a 37 °C en cámara húmeda por 1 ½ hora.
- Conservar a 4 °C por 18 h y leer por hemólisis.
- Interpretación: el título de hemolisina corresponde a la mayor dilución que ocasiona el 100 % de hemólisis en la fila del suero diluido 1:30. Esto corresponde a 1 unidad hemolítica (UH). Para la prueba de CH50 se deben

usar 2 UH, es decir que se debe usar la dilución anterior. Ejemplo: título obtenido 1:512 = 1 UH

Dilución anterior 1:256 = 2 UH

La dilución de trabajo de la hemolisina en esta titulación debe ser 1:256 para obtener 2 UH que es lo que se requiere para la prueba CH50

Preparación del antígeno de *Escherichia coli* para la prueba de anticuerpos contra *E. coli* (dinámica de anticuerpos)

Preparar en condiciones de esterilidad

- Cultivar 6 cepas de *E. coli* en agar nutritivo durante 24 h a 37 °C.
- Emulsionar las cepas en solución salina (SS) estéril y dividirla en tubos de centrífuga de 15 ml estériles.
- Centrifugar 15 min a 2500 RPM, descartar el sobrenadante.
- Suspender el sedimento en SS estéril, ajustándolo a 1.200 millones /mL. Corresponde al tubo n.º4 del nefelómetro de McFarland o a una D.O. de 0,4 a 650 nm.
- Hervir la suspensión por dos horas en baño María. Centrifugar 30 min a 3500 RPM.
- Recoger el sobrenadante, distribuir en alícuotas de 5 ml y conservar a -20 °C.

NEFELÓMETRO DE MCFARLAND PARA LA PREPARACIÓN DEL AG DE
E.COLI

TUBO	H ₂ SO ₄ 1% (ml)	BaCl ₂ 1% (ml)	Suspensión bacteriana (millones)
1	9,9	0,1	300
2	9,8	0,2	600
3	9,7	0,3	900
4	9,6	0,4	1200
5	9,5	0,5	1500
6	9,4	0,6	1800
7	9,3	0,7	2100
8	9,2	0,8	2400
9	9,1	0,9	2700
10	9,0	1,0	3000

Reactivos

- Buffer complemento (solución de Mayer Croft) 5X. (Prueba CH50)
 - Cloruro de sodio 42,5 g
 - Cloruro de magnesio 0,84 g
 - Ácido barbitúrico (veronal) 2,875 g
 - Barbital sódico (veronal sódico) 1,0 g
 - Cloruro de calcio 0,14 g
- Disolver los reactivos 1 y 2 en 400 ml de agua destilada; disolver los reactivos 4 y 5 en 250 ml de agua destilada caliente, disolver el reactivo 5 en 20 ml de agua destilada. Mezclar las tres soluciones y completar a 1 litro con agua destilada. Llevar al autoclave por 20 min y conservar a 4 °C.
- Para uso: diluir 1:5 en agua destilada y chequear el pH 7,2.
- **Buffer fosfato**
 - **Solución 1**
 - Fosfato disódico Na_2HPO_4 0,15 M 21,3 g.
 - Completar a 1 litro con agua destilada y desionizada.
 - **Solución 2**
 - Fosfato monopotásico KH_2PO_4 0,15 M 20,4 g.
 - Completar a 1 litro con agua destilada y desionizada.
 - Para uso:
 - Solución 1 761 ml
 - Solución 2 239 ml
 - Ajustar a pH 7,2
- **Solución salina bufferada (PBS)**
 - Buffer fosfato 1000 ml
 - SS 1000 ml
 - Subir pH con fosfato disódico ó bajarlo con fosfato monopotásico

GLOSARIO

Adyuvante: sustancia que se usa para potencializar y reforzar la respuesta inmunitaria ante un estímulo antigénico como el de una vacuna.

Afinidad: es el resultado neto de las fuerzas de atracción y repulsión entre un epítipo individual de un antígeno y su correspondiente sitio de unión en el anticuerpo. A mayor afinidad mayor interacción y con más fuerzas de atracción Ag-Ac.

Aglutinación: combinación de anticuerpos solubles con antígenos particulados, tales como eritrocitos o bacterias, en un medio acuoso que contenga electrolitos, con la consiguiente formación de un agregado visible, microscópica o macroscópicamente.

Agretopo: es el sitio de un antígeno procesado que se une a la molécula del Complejo Mayor de Histocompatibilidad.

Alelo: es una de dos o más versiones de una secuencia de ADN (una base única o un segmento de bases) en una ubicación genómica determinada.

Alergeno: molécula que es capaz de producir alergia en un individuo con predisposición genética a ser alérgico

Alergia: reacción del sistema inmunitario hacia una sustancia extraña que causa inflamación del tejido afectado

Aloantígeno: antígeno que es compartido entre individuos de una misma especie genéticamente diferente.

Amígdala: órgano linfoide secundario que tienen células reticulares y fibras que albergan linfocitos, macrófagos, granulocitos, mastocitos y donde se da la respuesta inmune contra antígenos que ingresan por la vía nasal y oral.

Anafolotoxina: péptidos de proteínas que se originan de la activación del sistema de complemento que circulan en el plasma amplificando la respuesta inmune

Anafilaxis: reacción alérgica e inflamatoria grave que puede ocurrir en segundos o minutos en contra del alergen y puede poner en riesgo la vida del individuo.

Anticuerpo: proteína (inmunoglobulina) producida por las células plasmáticas, de alta especificidad contra el antígeno que estimulo su producción.

Anticuerpo monoclonal: anticuerpo producido por un solo clon de células del linaje de los linfocitos B que ha sido unido a una célula tumoral de mieloma, que da como resultado un hibridoma inmortal capaz de producir anticuerpos de una sola especificidad contra el antígeno.

Anticuerpo policlonal: mezcla de anticuerpos producidos por una variedad de clones de linfocitos B que reconocen diferentes epítomos del mismo antígeno.

Antigenicidad: capacidad de una molécula o sustancia de funcionar como antígeno para despertar una respuesta inmune.

Antígeno: cualquier sustancia extraña que, dependiendo de sus características físicas y químicas, es capaz de despertar la respuesta inmune en un organismo.

Antígeno timoindependiente: antígenos que despiertan la respuesta inmune sin requerir de la acción de los linfocitos T.

Antígeno timodependiente: antígenos que despiertan respuesta inmune dependiendo de las citoquinas que producen los linfocitos T.

Antisuero: suero con altas concentraciones de anticuerpos contra un antígeno determinado.

Apéndice: saco bien definido de tejido linfoide ubicado en el intestino.

Apoptosis: cambios morfológicos relacionados con la muerte celular programada de células envejecidas, dañadas o que han cumplido su función inmunológica, que incluyen fragmentación nuclear, formación de vesículas y formación de cuerpos apoptóticos que son fagocitados.

Autocrino: producción de moléculas químicas que afectan o estimulan a la misma célula que las produjo.

Autoinmunidad: enfermedad que se produce cuando el sistema inmune reconoce lo propio como extraño y ataca los tejidos sanos del organismo.

Autoanticuerpo: anticuerpo dirigido contra proteínas de las células propias del organismo.

Autoantígeno: molécula propia del organismo que es reconocida por la respuesta inmune del individuo debido a la ruptura de los mecanismos de tolerancia frente a lo propio.

Avidez: es la suma de todas las afinidades de un complejo Ag-Ac. Depende de la afinidad del Ac hacia el epítipo del antígeno, de la valencia del Ag y del Ac y la disposición estructural de la interacción.

Bacteremia: bacterias que se encuentran en circulación sanguínea.

Bisagra: parte del anticuerpo que se encuentra entre las dos cadenas pesadas constantes de un anticuerpo y le confiere movilidad a la región que reconoce el antígeno (Fab) y que facilita la unión Ag-Ac.

Bolsa de Fabricio: órgano especializado de las aves necesario para el desarrollo y maduración de los linfocitos B.

Cadena invariable: componente del CMH Clase II que la estabiliza antes de que se una al péptido antigénico.

Cadena J: polipéptido que une las cadenas pesadas de cinco moléculas de IgM para formar un pentámero o 2 moléculas de IgA para formar un dímero.

Cadena pesada: polipéptido más grande de un anticuerpo que consta de un dominio variable y tres o cuatro dominios constantes. Hay cinco tipos de regiones constantes dentro de la cadena pesada que determina el tipo de anticuerpo que se va a sintetizar (isotipo): α (IgA), ϵ (IgE), γ (IgG), μ (IgM), δ (IgD).

Cadena ligera: polipéptido de las inmunoglobulinas que se unen a los polipéptidos de la cadena pesada para formar un heterodímero del anticuerpo. Hay dos tipos κ y λ .

Caspasa: proteasa que participa en la cascada de señalización intracelular que conduce a la apoptosis de diferentes tipos celulares.

Célula de Kupffer: macrófagos específicos de hígado.

Célula de Langerhans: representante de las células dendríticas en la epidermis y otros epitelios estratificados con la función de ser células presentadoras de antígeno.

Células Langerhans: son células gigantes formadas por macrófagos activados, que contienen varios núcleos, se encuentran en los granulomas y están presentes en reacciones de hipersensibilidad retardada.

Célula de mieloma: son células plasmáticas tumorales utilizadas en el laboratorio para fusionarlas con linfocitos B normales con el fin de formar un híbrido inmortal productor de anticuerpos.

Célula presentadora de antígeno: cualquier célula que pueda procesar y presentar péptidos antigénicos relacionados con el CMH Clase. Entre estas están los macrófagos, las células dendríticas y los linfocitos B.

Célula doble negativa: subgrupo de células T en desarrollo (timocito) que no expresan CD4, CD8 ni receptor de la célula T (TCR).

Célula doble positiva: subgrupo de células T en desarrollo (timocito) que expresa CD4, CD8 y TCR.

Células M: enterocitos especializados en la captación de antígenos luminales, carecen de recubrimiento de glicocálix y en su superficie luminal presentan pliegues en lugar de los microvellosidades característicos del resto de enterocitos.

Citotóxica: que tiene la capacidad de destruir células.

Citoquina: proteína de bajo peso molecular producida por diversos tipos celulares y que tienen la función de activar o regular la respuesta inmune.

Clon: célula que proviene de un sola célula progenitora.

Complejo ataque membrana: complejo del sistema de complemento compuesto por las fracciones C5- C9 cuya función es producir la lisis de la célula que activó este sistema.

Complejo inmune: complejo molecular que está conformado por anticuerpo-antígeno y en algunos casos moléculas de complemento.

Complejo Mayor de Histocompatibilidad: complejo de proteínas que se expresan en la superficie celular, son las responsables de la presentación de antígenos, del rechazo a trasplantes, del reconocimiento de lo propio y la diferenciación de individuos entre especies y dentro de la misma especie.

Complemento: proteínas en circulación plasmática que tienen la función de reconocer antígenos para producir su lisis y amplificar la respuesta inmune frente al patógeno.

Componente secretor: fragmento que se une al dímero de la IgA en las mucosas, es proporcionado por las células epiteliales y cumple la función de protección de la proteólisis enzimática del dímero por las enzimas de la mucosa.

Conjugado: sustancia compuesta por un anticuerpos monoclonal ligado químicamente a una enzima o cromógeno que tiene como fin evidenciar complejos antígeno-anticuerpo

Defensinas: péptidos antimicrobianos naturales que se encuentran en los gránulos de los polimorfonucleares que ayudan a la eliminación del patógeno fagocitado.

Determinante antigénico: también llamado epítopo y es el sitio de un antígeno que es reconocido por un anticuerpo o forma el complejo TCR-péptido-CMH.

Diapédesis. Paso de una célula de circulación a tejido atravesando el endotelio vascular.

Dominio: estructura globular unida por puentes disulfuro que se encuentra en las cadenas pesadas y livianas del anticuerpo y son los que cumplen las funciones biológicas del mismo.

Efecto poszona: en una reacción Ag-Ac si hay exceso de Ag, no permite que se dé la reacción de precipitación dando falsos negativos.

Efecto prozona: descenso de la reacción Ag-Ac por exceso de Ag o de Ac.

Electroforesis: técnica de laboratorio para separar moléculas de ADN, ARN o proteínas en función de su tamaño y carga eléctrica.

ELISA: inmunoensayo enzimático que cuantifica anticuerpos o antígenos encontrados en la muestra mediante el uso de un anticuerpo ligado a una enzima que, en presencia del sustrato, produce color.

Endocitosis: distintos tipos de transporte activo que introducen partículas en una célula, encerrándolas en vesículas de membrana plasmática, la cual se invagina para formar una vesícula intracelular que contiene el material ingerido.

Endocrino: moléculas reguladoras (hormonas, citoquinas) que van de la célula productora a la célula blanco activándola o inhibiéndola.

Endógeno: antígeno o microorganismo que se origina o requiere estar dentro de la célula.

Epítopo: porción del antígeno que es reconocido por el anticuerpo y es el que se une al complejo CMH de la célula presentadora de antígeno para presentarlo al TCR del linfocito T.

Equivalencia: medida de la proporción entre anticuerpo y antígeno que produce el precipitado máximo en líquidos y geles.

Estreptavidina: proteína pequeña producida por el *Streptomyces avidinii* que tiene afinidad con la vitamina biotina. Se usa en pruebas inmunológicas para detectar anticuerpos que fueron marcados con biotina.

Exocitosis: proceso mediante el cual las células liberan moléculas (citoquinas, enzimas, productos de degradación) que se encuentran en vesículas las cuales se fusionan con la membrana plasmática para su excreción.

Exógeno: antígeno o microorganismo que no requiere estar dentro de una célula para su replicación.

Factor Estimulante de Colonias: citoquina que apoya el crecimiento, diferenciación y maduración de células hematopoyéticas.

Factor quimiotáctico: molécula que induce movimiento dirigido de una célula hacia su objetivo.

Factor reumatoideo: autoanticuerpo de tipo IgM presente en el suero de personas con artritis reumatoide.

Fagocito: célula que está presente en circulación sanguínea o en tejidos que tiene la propiedad de migrar, reconocer, ingerir y destruir microorganismos.

Fagolisosoma: vacuola donde se encuentra el microorganismo fagocitado y al cual se le han unido a la membrana los gránulos del fagocito con el fin de liberar sistemas de digestión que contribuirán con la muerte intracelular del germen.

Fagosoma: vacuola citoplasmática que contiene el material fagocitado por la célula.

Fluoresceína: sustancia colorante hidrosoluble de color amarillo que produce un color fluorescente verde intenso en soluciones alcalinas y cuando se expone a la luz, la fluorescencia absorbe ciertas longitudes de onda y emite luz fluorescente de longitud de onda larga.

Fluorocromo: actúan como fuentes de luz de un color determinado que se emplea para marcar anticuerpos u otras moléculas y crea contraste en zonas determinadas de los especímenes.

Gammaglobulinas: grupo de inmunoglobulinas séricas de mayor movilidad electroforética que otras proteínas del suero.

Gozne: parte del anticuerpo que se encuentra entre las dos cadenas pesadas constantes de un anticuerpo y le confiere movilidad a la región que reconoce el antígeno (Fab) para facilitar la unión Ag-Ac.

Granulocito: célula hematopoyética que contiene gránulos, entre estos están los polimorfonucleares neutrófilo, eosinófilo y basófilo.

Granuloma: masa o nódulo que se origina por una inflamación crónica que contiene macrófagos activados, LTh y células gigantes compuestas por macrófagos.

Granzima: enzimas que se encuentran en el LTc que inician la apoptosis de la célula blanco.

Haplotipo: forma como se heredan los genes del complejo mayor de histocompatibilidad, en paquete.

Hapteno: molécula que por sí sola no desencadena respuesta inmune, requiere de un transportador.

Hemaglutinina: molécula que se encuentra sobre la membrana de los glóbulos rojos que es capaz de aglomerarlos.

Hemólisis: destrucción de los glóbulos rojos y liberación de la hemoglobina.

Hibridoma: híbrido formado por la unión de un mieloma (célula tumoral de LB) y un linfocito B normal, es inmortal y capaz de sintetizar anticuerpos. Es usado para producir anticuerpos monoclonales.

Hipersensibilidad: respuesta exagerada del sistema inmunitario a una sustancia o medicamento.

Histiocito: célula del sistema inmune que incluye al macrófago y las células dendríticas.

Idiotipo: región del anticuerpo que reconoce el antígeno y se encuentra en la región variable de las cadenas pesadas y livianas.

Inmunización: proceso para producir un estado de inmunidad en un sujeto mediante la administración del antígeno.

Inmunoglobulina: anticuerpo compuesto de cadenas pesadas y livianas formando cinco tipos de Igs: IgG, IgA, IgM, IgE e IgD.

Integrina: molécula de adhesión celular que permite la comunicación entre las dos células.

Intrón: secuencia no codificadora dentro de un gen que se transcribe en el transcrito principal, pero se elimina durante el procesamiento y no se traduce en el RNAm.

Isotipo: fracción de un anticuerpo que se encuentra en la región constante de la cadena pesada. Y es la que determina el tipo de anticuerpo que se va a sintetizar. Hay 5 tipos: α (IgA), ϵ (IgE), γ (IgG), μ IgM), δ (IgD).

Leucocito: glóbulo blanco que incluye los linfocitos, granulocitos, plaquetas, monocitos y macrófagos.

Linfocina: citoquina producida por los linfocitos.

Linfopoyesis: maduración en médula de linfocitos.

Lisozima: enzima presente en las secreciones de las mucosas y en los gránulos de los granulocitos que digiere la membrana de los microorganismos.

Marginación: acumulación de leucocitos en la pared de los vasos sanguíneos como resultado de la estimulación quimiotáctica y de la inflamación.

Megacariocito: célula de médula ósea progenitora de las plaquetas.

Molécula de adhesión celular: moléculas que permiten la adhesión y comunicación entre dos células. Entre ellas están las selectinas, integrinas, cadherinas, superfamilia de las inmunoglobulinas y sialomucinas.

Monoclonal: derivado de una sola célula.

Opsonina: moléculas que rodean un antígeno para facilitar la fagocitosis. Entre ellas están los anticuerpos y moléculas del sistema de complemento.

Opsonización: etapa de la fagocitosis en la que el antígeno es marcado con las opsoninas para facilitarle al fagocito la ingestión del microorganismo.

Óxido nítrico: mecanismo oxígeno independiente que tienen los fagocitos para contribuir en la digestión del microorganismo fagocitado.

Paracrino: molécula que es liberada por una célula y realiza su efecto sobre células cercanas.

Parátopo: sitio de unión del anticuerpo al antígeno localizado en la región variable de la cadena pesada y liviana que sirve para la unión específica de un determinante antigénico (epítipo).

Patógeno: microorganismo que causa enfermedad.

Péptido: molécula formada por la unión de varios aminoácidos mediante enlaces peptídicos.

Perforina: proteína citolítica producida por los linfocitos T citotóxicos que en presencia del calcio se polimeriza para formar poros transmembranales en la célula blanco.

Pirógeno: molécula que induce fiebre.

Policlonal: proveniente de más de un clon de células.

Proteosoma: es un complejo multiproteico conservado cuya función principal es la degradación enzimática de proteínas intracitoplasmáticas extrañas.

Proteína de fase aguda: grupos de proteínas producidas por el hígado cuya concentración sérica aumenta en estados de inflamación aguda.

Proteína de choque térmico: proteínas que se incrementa su concentración en respuesta al calor o estrés de las células.

Quimioatrayente: sustancia que induce movimiento dirigido en las células.

Quimiotaxis: movimiento celular dirigido a un objetivo.

Reactividad cruzada: capacidad de un anticuerpo particular o receptor de célula T para reaccionar con dos o más antígenos.

Receptor de célula B (BCR): complejo receptor del linfocito B que comprende un monómero de IgM y dos moléculas accesorias CD79a y CD79b que tiene como función reconocer moléculas extrañas y traducir las señales en el linfocito B para la posterior producción de anticuerpos.

Receptor de célula T (TCR): complejo receptor del linfocito T que comprende el TCR, CD3 y CD4 o CD8 para la traducción del señales en el linfocito T.

Receptor Fc: receptor que está en la membrana de algunas células y es específico para la porción Fc de las inmunoglobulinas.

Receptor Toll: receptor de membrana de células de la inmunidad innata que activa la síntesis de citoquinas proinflamatorias.

Región constante: parte de las cadenas pesada y liviana de una anticuerpo que no varía y no reconoce el antígeno.

Región hipervariable: son tres segmentos que se encuentran en la región variable de un anticuerpo y del TCR que presenta mayor variabilidad y le brinda especificidad contra el antígeno.

Región variable: porción amino-terminal de las inmunoglobulinas y el TCR que varía en su secuencia de aminoácidos y le da especificidad a la molécula.

Respuesta Th1: los linfocitos T *helper* que al hacer mitosis se diferencian en linfocitos T productores de citoquinas que favorece la inflamación y la respuesta inmune mediada por células.

Respuesta Th2: los linfocitos T *helper* que al hacer mitosis se diferencian en linfocitos T productores de citoquinas que activan LB, favorece la producción de anticuerpos y la activación de eosinófilos y basófilos.

Restricción CMH: característica de los linfocitos T que solo reconocen péptidos adheridos al CMH.

Riesgo relativo: probabilidad de un individuo con una característica determinada de que adquiera una enfermedad comparada con un grupo de población que carece de tal característica.

Selección clonal: esta teoría postula que cada antígeno estimulará al linfocito o grupo de linfocitos que poseen en su membrana receptores capaces de reconocer y unirse específicamente a él y que como consecuencia se producirá su proliferación y diferenciación en células con las mismas características de reconocimiento que los linfocitos originales.

Seroconversión: demostración de la presencia de anticuerpos específicos para un antígeno concreto en el suero de un individuo, previamente negativo para dicha especificidad antigénica.

Seudópodo: prolongación de la membrana de células móviles y fagocíticas que les sirve para desplazarse y capturar microorganismos.

Sinérgico: acción combinada de dos citoquinas diferentes es mayor a la suma de sus acciones aisladas.

Superantígeno: antígenos que provocan la estimulación exagerada del sistema inmune produciendo parálisis inmunológica o reacciones autoinmunes.

Título: medida de la fuerza relativa de un antisuero, el título es el recíproco de la última dilución de un antisuero capaz de mediar algún efecto mesurable, como precipitación, aglutinación, inmunofluorescencia.

Tolerancia: ausencia de reacción inmunitaria a moléculas particulares específicamente a antígenos propios.

Toxoide: toxina modificada para eliminar su acción tóxica pero que aún despierta respuesta inmune.

Vacuna: preparación de material antigénico empleada para inducir inmunidad contra patógenos.

Variolización: procedimiento mediante el cual se inoculó pus originario de pacientes con viruela con el fin de atenuar el proceso de la enfermedad y lograr la inmunización de la población, este procedimiento se realizó antes de la vacunación introducida por Edward Jenner.

Vida media: tiempo que tarda en decaer la mitad del valor original de alguna cantidad de célula o proteína.

Virulencia: grado de la capacidad de un microorganismo para producir una enfermedad.

Western blot: técnica usada para detectar una proteína en una mezcla donde primero se separan las proteínas por electroforesis y luego son transferidas a un papel de nitrocelulosa para posteriormente, mediante un ensayo de ELISA, determinar la presencia proteína de interés.

Zona de equivalencia: punto o región de un gel en el que la proporción entre un antígeno y un anticuerpo es óptima para la producción de un precipitado Ag-Ac.

Esta obra
se terminó de imprimir
el 20 de septiembre de 2025,
en los talleres gráficos de
GRUPO EDITORIAL IBÁÑEZ,
Cra. 69 Bis No. 36-20 Sur
Tels.: 2300731 - 2386035
Bogotá D.C. - Colombia

Este libro sobre la inmunología, escrito de manera magistral, describe cómo esta ciencia estudia las defensas de un organismo vivo cuando se enfrenta a un agente agresor. La presente obra es un compendio del proceso de protección que realiza el ser humano. El recorrido parte de su contexto histórico y sigue por cada uno de los componentes orgánicos, celulares y proteicos necesarios para la comprensión del funcionamiento del sistema inmune innato y adaptativo. Además, cuenta con la descripción de los fundamentos de diversas pruebas de laboratorio aplicadas a los análisis inmunológicos.

Este libro está diseñado para quienes se encuentran realizando estudios en cualquier área de la salud, pues cada temática se presenta de manera sencilla y clara, alcanzando conocimientos que permean la profundización sobre la acción del sistema inmune en diversas áreas como la microbiología, la bacteriología, la medicina, entre otras disciplinas.

ISBN: 978-958-5198-39-5

