

# BEB 88

BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA

VOLUMEN 7

No. 2

JUNIO 1988

## EDITORIAL

### UNA SIMBIOSIS CIENTIFICA: BIOQUIMICA-INMUNOLOGIA

A pesar de que la inmunología tiene más de 100 años de existir tal y como la conocemos en el mundo occidental, ha sido en los últimos 25 años que se le reconoce como una ciencia independiente; anteriormente se le consideraba como una rama de ciencias tan diversas como la química, la patología o la biología, siendo la bioquímica la ciencia con la cual tenía mayor grado de identificación. Sin embargo, hasta fecha relativamente reciente se asumía que era una rama de la ciencia aún joven y en proceso de desarrollo.

La ausencia de madurez la definía el hecho de que como ciencia tenía muchas lagunas. La información que se tenía con respecto a su funcionamiento y control, a pesar de ser numerosa en cantidad y calidad originaba más preguntas que respuestas y de alguna manera no se le había dado el grado de "adulta". Afortunadamente para los inmunólogos y la inmunología, en la década de los 70 se inició una nueva etapa, cuando a partir de 1977 y hasta la fecha, se otorgan 4 premios Nobel a investigadores que trabajaban aspectos relacionados con el control y la fisiología de la respuesta inmune. Esto no quiere decir que el

trabajo de los pilares y pioneros de la inmunología como Pasteur o Metchnikoff no haya sido relevante sino más bien que a partir de esa década se aceptó que se trataba de una ciencia con personalidad, problemas, fisiología, control, respuestas e incógnitas propias.

Independientemente de su nuevo *status* como ciencia, quedaba claro que no podría seguir evolucionando de manera aislada ya que la mayoría de la fenomenología que se relacionaba con su funcionamiento estaba dada primordialmente por proteínas, la mayoría de ellas, secretadas al medio externo de las células que las generaban y por lo general con una función muy similar al de las hormonas. El hecho, luego entonces, de que las poblaciones celulares "típicas" de la inmunología como lo son los macrófagos, los linfocitos T, los linfocitos B, las células NK, las células K, los linfocitos de memoria, las células dendríticas y otras muchas más, que secretan estas proteínas, dió pie rápidamente a que se reforzaran las colaboraciones con otras ciencias con funciones mejor definidas

pasa a la pág. 29

# COMITE EDITORIAL

## ALFONSO CARABEZ TREJO

Instituto de Fisiología Celular  
Universidad Nacional Autónoma de México

## GUILLERMO CARVAJAL

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas  
Instituto Politécnico Nacional

## ALBERTO HAMABATA

Centro de Investigación y Estudios Avanzados  
Instituto Politécnico Nacional

## JESUS MANUEL LEON CAZARES

Instituto de Fisiología Celular  
Universidad Nacional Autónoma de México

## ENRIQUE PIÑA GARZA

Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México

## SERGIO SANCHEZ ESQUIVEL

Instituto de Investigaciones Biomédicas  
Universidad Nacional Autónoma de México

## COORDINADOR EDITORIAL

### YOLANDA SALDAÑA DE DELGADILLO

Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México



CONSEJO NACIONAL DE  
CIENCIA Y TECNOLOGIA

### DR. HECTOR MAYAGOITIA DOMINGUEZ

Director General

### DR. JESUS GUZMAN GARCIA

Director Adjunto de Desarrollo Científico

# INDICE

BEB 88 Vol. 7 Num. 2 Junio 1988

## EDITORIAL

UNA SIMBIOSIS CIENTIFICA:  
BIOQUIMICA-INMUNOLOGIA

Luis F. Montaña E. .... 27

## ARTICULOS

EL MACROFAGO COMO  
CELULA EFECTORA

Cecilia Parra, Ignacio Rayón, Hortencia León  
Haydeé Mendoza, Felipe Massó y

Luis Felipe Montaña ..... 30

PROCESAMIENTO Y REPRESENTACION  
DE ANTIGENOS EXOGENOS POR  
MACROFAGOS

Luis F. Montaña, Felipe Masso, Hortencia León

Luis Amaro y Edgar Zenteno ..... 41

## OTRAS COMUNICACIONES

NITROGEN SOURCE CONTROL  
OF MICROBIAL PROCESSES ..... 49

INSTRUCCIONES PARA LOS  
COLABORADORES DEL BOLETIN  
DE EDUCACION BIOQUIMICA ..... 50

BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA (BEB) es una publicación trimestral editada por su Comité Editorial. ISSN 0187/294X.  
Correspondencia: Yolanda Saldaña de Delgadillo. Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina UNAM. Apdo. Postal 70159.  
Delegación Coyoacán. 04510 México, D.F. Impresa en los Talleres de la Coordinación Sistema Universidad Abierta, UNAM,  
Medicina 57, Col. Copilco-Universidad, C.P. 04360, México, D.F. Tiraje 2,000 ejemplares.

## UNA SIMBIOSIS CIENTIFICA . . .

en cuanto a la purificación y caracterización de proteínas se refiere. Es por esto que la bioquímica y la biología molecular están tan estrechamente identificadas con la inmunología moderna.

Ya no es suficiente, cuando se habla de inmunología, el decir que tal o cual célula secreta un factor soluble capaz de inducir la proliferación de otras poblaciones celulares, o mencionar que hay factores solubles secretados por células definidas como inmunes que regulan la producción de anticuerpos; la inmunología del presente siglo exige a los que a ella se dedican que aislen, identifiquen y caractericen a las proteínas responsables de toda esta miríada de efectos biológicos así como también exige que se identifiquen y caractericen los mecanismos por medio de los cuales estos efectos biológicos se dan sobre una población celular, ya sea a través de determinar los receptores específicos si es que los hay, o bien, a través de determinar cuales son los segundos mensajeros que se generaron, o bien, determinando la afinidad de los receptores, etc.

El conocimiento que se tiene de la inmunología actualmente nos ha obligado a adentrarnos en la biología molecular para poder entender cuales son los genes y cuales son los posibles mecanismos de regulación a nivel del ADN que se alteran en ciertas enfermedades catalogadas como autoinmunes, o bien conocer la estructura de moléculas presentes en la superficie celular, como podría ser el CD3 en el caso de los linfocitos T, o el CD25 en el de los linfocitos B, o la estructura de los receptores para porciones Fc de las inmunoglobulinas presentes en la superficie de macrófagos y otras poblaciones celulares.

Hablar de inmunología, como el párrafo anterior claramente demuestra, es adentrarse en un mundo nuevo de terminología científica; desafortunadamente, como cualquier ciencia en sus inicios, el nombre y apellido que se daba a una actividad biológica era además de numerosa, divergente lo cual hacia difícil y en ocasiones tediosa, la lectura de los hallazgos. Sin embargo, como parte del

proceso de madurez que está adquiriendo, se está iniciando una interesante etapa de adecuación y homogenización de la terminología, en un intento por hacer más accesible la información a la comunidad científica y a la vez, evitar el desperdicio de esfuerzos. Asimismo, la uniformidad en los procesos técnicos y en las metodologías de laboratorio han conllevado a resultados que pueden fácilmente compararse al eliminar el yugo de las diferencias metodológicas.

Los resultados que se han logrado a partir de su reconocimiento como ciencia adulta e independiente han sido extraordinarios. Sin embargo aún hay mucho por hacer, por encontrar, por definir.

En este número del Boletín de Educación Bioquímica se presentan algunas revisiones acerca de la función del macrófago, célula esencial en el control de la respuesta inmune. Se revisan aspectos relacionados con la capacidad de esta célula para presentar el antígeno a otras poblaciones celulares relevantes en el control de la respuesta inmune; se presentan un par de revisiones de las características y funciones de algunas proteínas solubles secretadas al medio externo por los linfocitos y los macrófagos conocidas como interleucinas, las cuales son vitales en la homeostasis de la respuesta inmune. Se discuten aspectos bioquímicos básicos del macrófago y su relación con su función bacteriostática que al fin y al cabo es una función inmune en cuanto que es uno de los mecanismos de defensa más importantes contra agentes agresores externos; finalmente, se habla del papel que han tenido las lectinas, glicoproteínas obtenidas de plantas y mamíferos, en el conocimiento de la función de los macrófagos.

La intención de incluir este material en el Boletín es la de iniciar a lectores ajenos a la inmunología en el fascinante mundo de esta ciencia. A los que se dedican a esta ciencia, les ofrecemos un panorama actualizado de algunas áreas que pueden ser de su interés. A la comunidad científica, le agradecemos el interés de su crítica.

*Luis F. Montaña E.*

## EL MACROFAGO COMO CELULA EFECTORA

Cecilia Parra<sup>++</sup>, Ignacio Rayón<sup>++</sup>, Hortencia León<sup>++</sup>, Haydeé Mendoza<sup>++</sup>, Felipe Massó\* y Luis Felipe Montaña<sup>++</sup>

<sup>++</sup>Departamento de Inmunología y \*Departamento de Bioquímica, Unidad de Investigación, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (I.N.E.R.). Calzada de Tlalpan 4502, México, D.F.

Hace pocos años que a los macrófagos se les considera también como células secretoras. A través de sus secreciones y receptores los macrófagos participan en interacciones complejas con la respuesta inmune humoral y celular así como en la regulación de la misma. El nivel de secreción varía dependiendo del grado de activación del macrófago.

En ésta revisión se describen las principales características y funciones de los productos secretados por el macrófago.

### LAS SECRECIONES DEL MACROFAGO Y LA RESPUESTA INFLAMATORIA

Los productos secretados por el macrófago llevan a cabo la regulación de la respuesta inflamatoria tanto en el sentido positivo como en el negativo.

Entre los productos de secreción del macrófago está la lisozima y las proteasas que actúan a pH neutro. Dentro de las últimas se encuentra el activador de plasminógeno que cataliza la formación de plasmina a partir del plasminógeno. La plasmina puede activar por lo menos tres cascadas enzimáticas: a) En la lisis de fibrina, la plasmina induce la formación de productos de degradación de fibrina, para los cuales el macrófago tiene receptores, que incrementan la migración del macrófago, b) la fibrina también activa a los componentes del complemento C1 y C3 y desencadena la cascada del mismo y c) finalmente la plasmina también induce a que del factor Hageman activado se formen

subunidades que incrementan la formación de kaliceína a partir de prekalicreína. El activador de plasminógeno probablemente tiene sustratos adicionales en el tejido conectivo donde puede ayudar al macrófago en su migración.

La colagenasa y la elastasa que son otras dos de las principales proteasas neutras pueden degradar componentes de las paredes vasculares, tejido perivascular y superficies articulares. La elastasa del macrófago es especialmente activa contra fibras nativas de elastina. Los productos de degradación de la colágena durante la activación del complemento son quimiotácticos para el macrófago, por lo tanto, la acción de proteasas neutras podría promover una mayor acumulación de fagocitos mononucleares en el sitio de la respuesta inflamatoria.

Los macrófagos también secretan inhibidores de plasmina de bajo y mediano peso molecular, así como a la alfa-2 macroglobulina de alto peso molecular, la cual inhibe a la plasmina y al activador de plasminógeno, a la colagenasa, a la elastasa y a la kaliceína. Cuando estas enzimas están unidas al inhibidor, el complejo resultante se une a los receptores sobre el macrófago que entonces los internaliza y los degrada. El inhibidor alfa-1 antitripsina también ha sido encontrada en los macrófagos.

A diferencia de la secreción de lisozoma, la cual es constitutiva, la secreción de proteasas neutras es inducible por lo menos de cuatro formas:

1) Los macrófagos pueden ser activados en respuesta a agentes como endotoxinas, proteínas extrañas en el suero, microbios y otras partículas ingeribles.

2) Los complejos inmunes pueden aumentar o suprimir la liberación de proteasas neutras, dependiendo si el complejo inmune es ingerido o inmovilizado sobre una superficie no ingerible.

3) Los mediadores linfocíticos atraen macrófagos al sitio de respuesta inflamatoria cuando existe un estímulo que desencadene este fenómeno, las linfocinas entonces mantienen ahí a los macrófagos e inducen la secreción desfasada de proteasas neutras regulando su síntesis mientras dure el proceso inflamatorio. Las linfocinas también promueven la secreción de prostaglandinas por parte de los macrófagos, éstas prostaglandinas actúan sinérgicamente con las endotoxinas para estimular la secreción de colagenasa del macrófago. Algunas linfocinas aumentan la liberación de alfa-2 macroglobulina, la cual no sólo inhibe a las proteasas sino que también promueve el efecto de ciertas linfocinas sobre el macrófago. La alfa-2 macroglobulina regula su propia secreción y la de otras proteasas que la inhiben.

4) La secreción de las proteasas puede ser regulada farmacológicamente, por ejemplo, los corticoesteroides y la indometacina suprimen la secreción de ciertas proteasas mientras que la colchicina y los ésteres de forbol la facilitan.

Esto significa, que las interacciones entre los macrófagos y el sistema del complemento ilustran otra relación compleja en la que participan los linfocitos, los mediadores humorales así como las secreciones del macrófago y sus receptores.

Los macrófagos sintetizan y secretan numerosos componentes del complemento (tabla I), unen complemento activado a través de dos tipos de receptores y lo degradan por medio de sus proteasas.

De sus interacciones con la superficie del macrófago, el complemento afecta el comportamiento migratorio, endocítico y secretor de dichas células. Las anafilotoxinas C3a y C5a estimulan la migración de macrófagos, pero un producto de la vía alterna del complemento conocido como Bb suprime la migración.

Los receptores del complemento también unen partículas cubiertas de complemento al macrófago, algunas veces, actúan sinérgicamente con los receptores para inmunoglobulina (receptores Fc) y promueven su ingestión.

Cuando los macrófagos son activados adquieren la capacidad de ingerir, además de unir el complemento a sus receptores. Los linfocitos T liberan una linfocina que produce éste cambio en los receptores del complemento del macrófago, además, los macrófagos que fagocitan secretan un factor que estimula a las células T a producir éste mediador. Las células T también liberan otra linfocina que incrementa la secreción del componente C2 del complemento por parte del macrófago.

Cuando el pH es bajo durante la respuesta inflamatoria, otro grupo de enzimas secretadas por el macrófago adquiere importancia. Las hidrolasas ácidas lisosomales, anteriormente reportadas como enzimas digestivas intracelulares, son secretadas activamente si es que los receptores para complemento y Fc del macrófago están inmunológicamente comprometidos, o bien, si hay alguna activación del macrófago por mediadores linfocíticos o por exposición a peptidoglicanos y polisacáridos de origen microbiano.

Las hidrolasas ácidas pueden degradar colágena, membrana basal y otros componentes del tejido conectivo; también hidrolizan complemento, inmunoglobulina y cininas; además, influyen en el estímulo para su propia liberación.

La mayoría de los estímulos que resultan en la liberación enzimática también inducen a los macrófagos a una rápida secreción de agentes

**TABLA I**  
**(Modificada de Nathan) (1)**

**PRODUCTOS SECRETADOS POR LOS FAGOCITOS MONONUCLEARES**

**ENZIMAS**

Lisozima  
 Proteasas neutras  
     Activador de plasminógeno  
     Colagenasa  
     Elastasa  
     Convertasa de angiotensina  
 Hidrolasas ácidas  
     Proteasas  
     Lipasas  
     Desoxirribonucleasas  
     Fosfatasas  
     Glicosidasas  
     Sulfatasas

**COMPONENTES DEL COMPLEMENTO**

C1  
 C4  
 LA E  
 C2  
 C3  
 C5  
 Factor B  
 Factor D  
 Properdina  
 Inactivador del C3b  
 BIH

**INHIBIDORES ENZIMATICOS**

Inhibidores de plasmina  
     2 Macroglobulina

**PROTEINAS DE TRANSPORTE**

Transferrina  
 Transcobalamina II  
 Fibronectina

**NUCLEOTIDOS Y METABOLITOS**

Timidina  
 Uracilo  
 Ac. úrico

**INTERLUCINAS**

IL-1  
 IL-6

**METABOLITOS OXIGENADOS**

Superóxido  
 Peróxido de hidrógeno  
 Radical hidróxido

**LIPIDOS BIOACTIVOS**

Metabolitos del Ac. araquidónico  
 Prostaglandina E  
 Prostaglandina F1  
 Tromboxanos  
 Leucotrienos  
 Ac. hidroxi-eicosatetranoico  
 Factores activadores de plaquetas

**FACTOR DE NECROSIS TUMORAL**

**FACTORES REGULADORES DE LA SINTESIS DE PROTEINAS POR OTRAS CELULAS**

Hepatocitos  
     Proteína sérica amiloide A  
     Haptoglobina  
 Células sinoviales  
     Colagenasa

**FACTORES QUE PROMUEVEN LA REPLICACION**

Linfocitos  
     Factores activadores de linfocitos  
 Precursores mieloides  
     Factor estimulador de colonias  
 Precursores eritroides  
 Fibroblastos  
 Células microvasculares

**FACTORES INHIBIDORES DE LA REPLICACION DE**

Linfocitos  
 Células tumorales  
 Virus (interferón)  
 Listeria monocytogenes

oxidantes tales como el superóxido, el peróxido de hidrógeno y los radicales hidroxilo; éstas sustancias pueden oxidar a los grupos tiol de las enzimas, rompen algunas uniones en las proteínas, en los lípidos y en los ácidos nucleicos; también inician las reacciones en cadena en las que los radicales libres pueden propagar algún daño como consecuencia de la respuesta inflamatoria.

Los blancos de estos oxidantes no están restringidos a las células y al tejido conectivo sino que también pueden incluir a los propios mediadores de la respuesta inflamatoria tales como el C5a y a la alfa 2 macroglobulina.

### **MEDIADORES INMUNOLOGICOS SECRETADOS POR EL MACROFAGO**

Se sabe que el proceso inflamatorio es dependiente de la liberación de factores solubles provenientes tanto de células T activadas como de macrófagos, y que a través de dichos factores se reclutan otros grupos de células en el sitio de la inflamación. Los macrófagos secretan dos tipos de interleucinas llamadas IL-1 e IL-6 (monocinas) en respuesta a diversos estímulos. Estas interleucinas a su vez tienen efectos biológicos sobre otras células por ejemplo: linfocitos, células endoteliales, células epiteliales y fibroblastos; de este modo las interleucinas secretadas por el macrófago participan en la red inmunológica (2).

### **INTERLEUCINA-1**

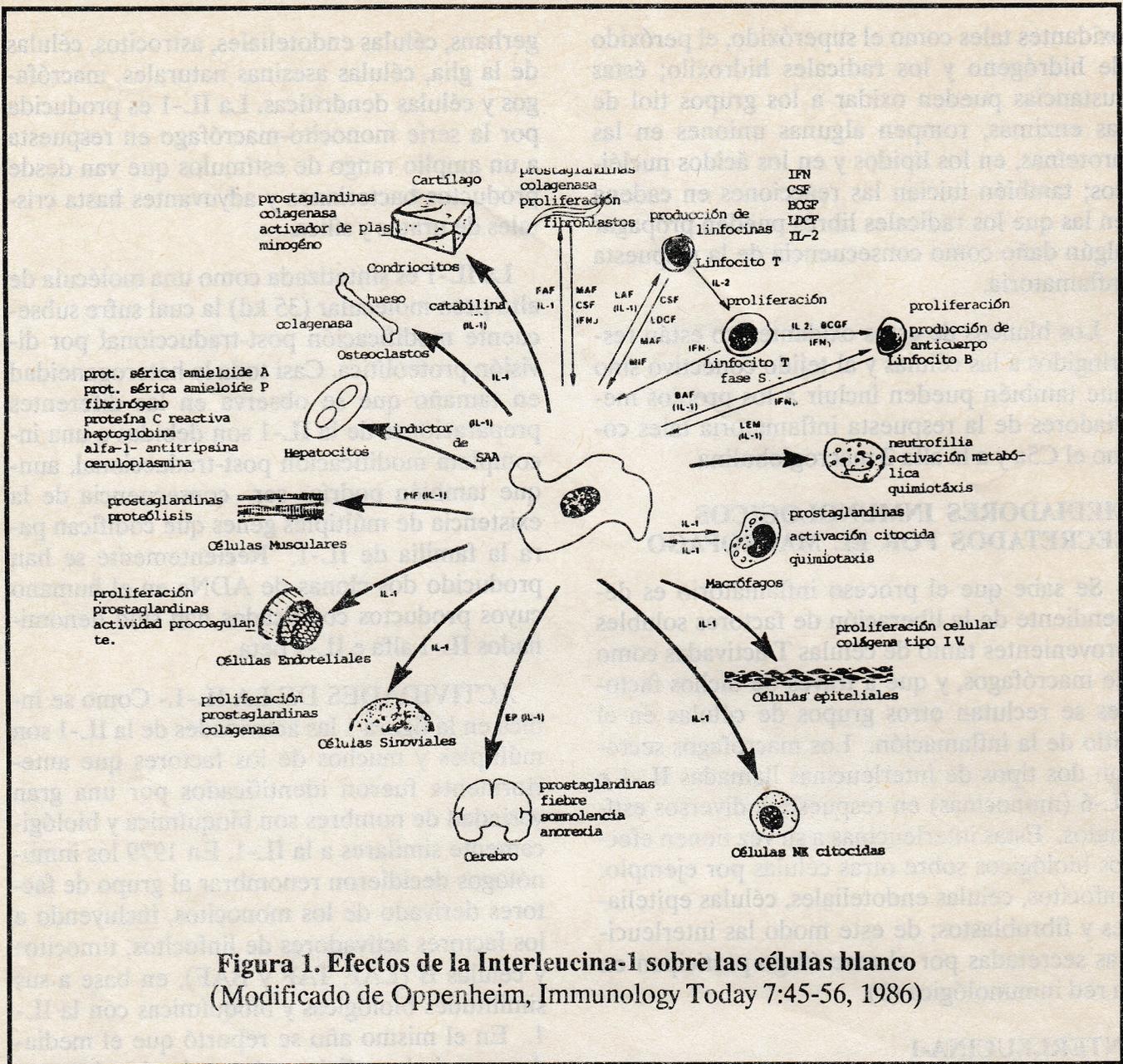
En 1972 Gery y colaboradores describieron un polipéptido de 15 kd que originalmente se pensó, era producido solamente por células de la serie monocito-macrófago, a dicho factor que promueva la proliferación de timocitos murinos se le conoce actualmente como interleucina-1 (IL-1).

La IL-1 constituye una familia de moléculas relacionadas que pueden ser producidas por una gran variedad de tipos celulares entre los que se puede mencionar a las células de Lan-

gerhans, células endoteliales, astrocitos, células de la glia, células asesinas naturales, macrófagos y células dendríticas. La IL-1 es producida por la serie monocito-macrófago en respuesta a un amplio rango de estímulos que van desde productos bacterianos y adyuvantes hasta cristales de uratos y sílica.

La IL-1 es sintetizada como una molécula de alto peso molecular (35 kd) la cual sufre subsecuente modificación post-traducciona por división proteolítica. Casi toda la heterogeneidad en tamaño que se observa en las diferentes preparaciones de la IL-1 son debidas a una incompleta modificación post-traducciona, aunque también podría ser consecuencia de la existencia de múltiples genes que codifican para la familia de IL-1. Recientemente se han producido dos clones de ADNc en el humano cuyos productos codificados han sido denominados IL-1 alfa e IL-1 beta.

**ACTIVIDADES DE LA IL-1.-** Como se indica en la figura 1 las actividades de la IL-1 son múltiples y muchos de los factores que anteriormente fueron identificados por una gran variedad de nombres son bioquímica y biológicamente similares a la IL-1. En 1979 los inmunólogos decidieron renombrar al grupo de factores derivado de los monocitos, incluyendo a los factores activadores de linfocitos, timocitos y células B (LAF, TAF y BAF), en base a sus similitudes biológicas y bioquímicas con la IL-1. En el mismo año se reportó que el mediador que induce fiebre, denominado pirógeno endógeno (EP), también es similar a la IL-1. El pirógeno endógeno también estimula a los granulocitos para liberar lactoferrina de sus gránulos específicos, la lactoferrina se une a los receptores sobre los fagocitos mononucleares donde puede secuestrar hierro; este efecto quizás podría contribuir a la hiposideremia característica de la reacción inflamatoria; la lactoferrina también bloquea la capacidad de algunos fagocitos mononucleares para secretar al factor estimulador de colonias, así, la acción *in vivo* de la IL-1, la lactoferrina y el factor estimula-



**Figura 1. Efectos de la Interleucina-1 sobre las células blanco**  
 (Modificado de Oppenheim, Immunology Today 7:45-56, 1986)

dor de colonias previene una excesiva leucocitosis en la respuesta inflamatoria.

Se ha descrito otro mediador pirogénico llamado mediador endógeno de leucocitos (LEM). La administración *in vivo* del LEM ó IL-1 induce a los neutrófilos a abandonar la médula ósea e induce a los hepatocitos a producir una batería de proteínas de fase aguda en lugar de la albúmina y la prealbúmina que se producen normalmente; por lo cual se ha esta-

blecido que el LEM tiene las mismas propiedades bioquímicas que la IL-1.

Recientemente se observó que la catabolina, un factor que promueve la degradación de la matriz del cartilago, también exhibe la actividad comitogénica de timocitos igual que la IL-1.

El factor de inducción de proteólisis (PIF) el cual tiene un peso molecular de 4 200, estimula a las células musculares para producir prosta-

glandinas las cuales a su vez inducen proteólisis, liberación de aminoácidos y debilitamiento muscular; dicha proteína corresponde a un fragmento de IL-1 capaz de producir fiebre, actividad comitogénica de timocitos y también respuesta de fase aguda. Además de sus efectos pirogénicos la IL-1 tiene otros efectos sobre el sistema nervioso central influyendo en los estados de somnolencia y anorexia.

Estudios *in vitro* revelan que la IL-1 puede ser un factor quimiotáctico para que los polimorfonucleares metabolicen más rápidamente a la glucosa, reduzcan al nitroazul de tetrazolio *in vitro* y liberen sus enzimas lisosomales. Las células endoteliales son estimuladas para proliferar en presencia de IL-1 y producir tromboxanos para hacerse más adhesivas y para tener una mayor actividad procoagulante. La IL-1 también facilita la producción de colágena tipo

IV por parte de las células epidérmicas, induce la liberación de osteoblastos y estimula a los osteoclastos a reabsorber hueso.

Aunque se ha reportado que los macrófagos son atraídos quimiotácticamente por la IL-1, para producir prostaglandinas en respuesta a IL-1 y para exhibir un estado más prolongado de actividad tumoricida, la prostaglandina liberada por el macrófago también regula el efecto del factor estimulador de colonias sobre las células progenitoras incrementando así la liberación de prostaglandinas que provienen del macrófago.

La IL-1 puede tener efectos citóxicos directos para ciertas células blanco tumorales; como se muestra en la figura 2 la IL-1 ejerce sus efectos antitumorales a través de varios mecanismos.

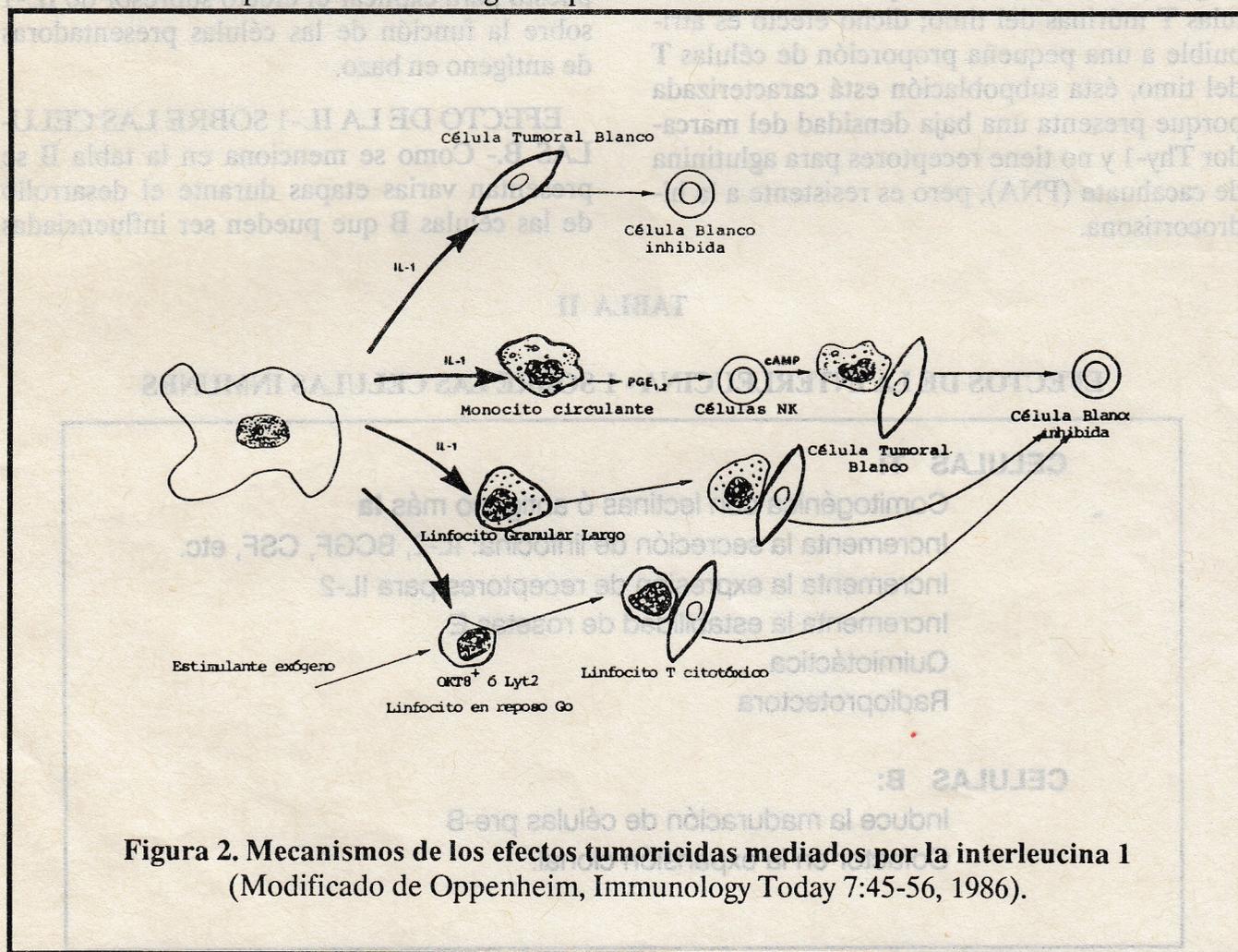


Figura 2. Mecanismos de los efectos tumoricidas mediados por la interleucina 1 (Modificado de Oppenheim, Immunology Today 7:45-56, 1986).

1). Aumentando la producción de linfocinas tales como la IL-2 y el interferón los cuales presentan actividades antitumorales.

2). Facilitando las actividades de linfocitos T citotóxicos, células asesinas naturales y las actividades citocidas de monocitos.

3). Promoviendo las actividades de linfocitos T citotóxicos y células asesinas naturales por la actividad sinérgica con la IL-2 y el interferón.

4). Inhibiendo directamente el crecimiento de algunas células tumorales.

**EFFECTO DE LA IL-1 SOBRE LAS CELULAS T.-** En la tabla II se resumen los efectos principales que la IL-1 ejerce sobre las células T. En presencia de concanavalina A o fitohe-maglutina, la IL-1 afecta la proliferación de células T mürinas del timo; dicho efecto es atribuible a una pequeña proporción de células T del timo, ésta subpoblación está caracterizada porque presenta una baja densidad del marcador Thy-1 y no tiene receptores para aglutinina de cacahuete (PNA), pero es resistente a la hidrocortisona.

La IL-1 induce cambios en la viscosidad de membrana e incrementa la estabilidad de rosetas T, quimiotáxis y radioprotección *in vitro*. La producción de otras linfocinas de células T, además de la IL-2, incrementa la exposición continua de IL-1, incluyendo al factor de crecimiento para células B (BCGF), al interferón gama (IFN) y al factor estimulador de colonias (CSF).

La IL-1 también produce efectos indirectos sobre las células T, por ejemplo, eleva la temperatura, promueve la proliferación de células T y la generación de células T cooperadoras. La IL-1 induce la producción de prostaglandina E2 de diferentes tipos celulares y sus productos inhiben la proliferación de células T así como también la expresión del antígeno Ia en los macrófagos; este mecanismo ha sido propuesto para explicar el efecto supresor de IL-1 sobre la función de las células presentadoras de antígeno en bazo.

**EFFECTO DE LA IL-1 SOBRE LAS CELULAS B.-** Como se menciona en la tabla II se presentan varias etapas durante el desarrollo de las células B que pueden ser influenciadas

**TABLA II**

**EFFECTOS DE LA INTERLEUCINA - 1 SOBRE LAS CELULAS INMUNES**

**CELULAS T:**

- Comitogénica con lectinas ó antígeno más Ia
- Incrementa la secreción de linfocina: IL-2, BCGF, CSF, etc.
- Incrementa la expresión de receptores para IL-2
- Incrementa la estabilidad de rosetas E
- Quimiotáctica
- Radioprotectora

**CELULAS B:**

- Induce la maduración de células pre-B
- Cofactor en la expansión clonal.

por la IL-1. Hay un efecto temprano sobre la maduración de las células pre-B y un efecto tardío sobre la proliferación de las células B maduras siguiendo la activación por mitógenos. La respuesta de maduración observada por estas células consiste en la síntesis de la cadena ligera kappa y posteriormente la expresión en membrana de moléculas de IgG. La IL-1 también ha sido asociada en la promoción de expansión clonal de células B después de la estimulación antigénica.

### **INTERLEUCINA-6**

La molécula que actualmente se conoce como factor de diferenciación de células B (BSF-2) e interleucina-6 es una proteína de 26 kd producida también por los monocitos activados. Es distinta de la IL-1 y de otros factores de crecimiento derivados de los monocitos.

El interferón Beta-2 ó IL-6 es una glicoproteína constituida por 184 aminoácidos y fué originalmente identificada en fibroblastos estimulados con poli I-C para producir interferón beta. Posteriormente se concluyó que otros factores identificados en base a sus actividades biológicas son en realidad la misma sustancia. Estos factores incluyen a la proteína de 26 kd, al BSF-2, al factor de crecimiento para el hibridoma/plasmacitoma, y al factor estimulador de hepatocitos.

Además hay evidencias de que el IFN beta-2/BSF-2/IL-6 puede ser producido por una gran variedad de tipos celulares ya sea de manera constitutiva o por estimulación.

El IFN-B2/BSF-2/IL-6 parece tener varias funciones biológicas incluyendo la actividad antiviral, es además un inhibidor del crecimiento de fibroblastos humanos, un factor de crecimiento para ciertos hibridomas de ratón-rata y plasmacitomas de ratón, un factor de diferenciación para células B humanas y un inductor de proteínas de fase aguda en hepatocitos. El efecto estimulador del IFN-B2/BSF-2/IL-6 para las células de la línea B es observa-

do solo cuando la célula blanco es cultivada a bajas densidades celulares, ésto se debe a que los factores producidos por las células B inmortalizadas con el virus Epstein-Barr (EBV) generan estimulación autócrina de crecimiento. Si las células inmortalizadas con EBV son cultivadas a altas densidades, hay altas concentraciones de los factores producidos por las células B y el crecimiento celular no puede facilitarse más; sin embargo, cuando son cultivadas a bajas densidades, el crecimiento celular se hace más dependiente de factores exógenos incluyendo al IFN-B2/BSF-2.

No se sabe aún si este factor de crecimiento es específico para la línea de células B, o si es selectivo para células B infectadas con el EBV; o bien, si es parte de una red inmunológica de interacciones entre citocinas. Lo que si se sabe es que la IL-6 es un potente factor de crecimiento para las células B humanas infectadas con el EBV y que por lo tanto debe jugar un papel importante como mediador de la respuesta inmune en humanos.

Recientemente Tosato y colaboradores (3) han reportado la purificación de IL-6 a partir de un medio de cultivo de monocitos periféricos humanos estimulados con LPS y PHA.

### **INTERFERON**

Los macrófagos activados también secretan interferon beta. Los interferones fueron identificados originalmente como una familia de glicoproteínas que interfieren en la replicación viral aunque también tienen otros muchos efectos incluyendo su papel como mediadores de la inflamación. Los interferones han sido subdivididos en los tipos 1 y 2; los del tipo 1 corresponden a los llamados alfa y beta, se producen luego de la infección viral de leucocitos, fibroblastos y macrófagos, en cambio los interferones de tipo 2 conocidos como interferones gamma se producen por estimulación mitogénica de linfocitos T. De la misma manera se reconocen dos tipos de receptores para la familia de los interferones, uno de dichos recepto-

res es reconocido por interferones alfa y beta; el otro receptor solamente es reconocido por el interferon gamma (4).

Los inductores de interferón incluyen además de los virus a algunas bacterias como *B. abortus*, *H. influenzae* y a otras, también a las rickettsias, micoplasmas y algunos productos bacterianos como el LPS. El interferón beta induce receptores Fc gamma sobre los linfocitos humanos, pero reduce a los receptores Fc.

Los interferones alfa, beta y gamma junto con la IL-2 incrementan la función de las células asesinas naturales.

Los interferones alfa y beta tienen aproximadamente un 30% de homología entre sus aminoácidos.

#### FACTOR ESTIMULADOR DE COLONIAS

El factor estimulador de colonias fué originalmente descrito como un promotor de la proliferación y diferenciación de células hematopoyéticas.

Ciertas células que son componentes del sistema reticuloendotelial son la principal fuente de los factores estimuladores de colonias; los macrófagos también producen y secretan factor estimulador de colonias (CSF) cuando son estimulados por lipopolisacáridos (LPS) (6).

Los factores estimuladores de colonias son un grupo de glicoproteínas que como ya se ha mencionado regulan la proliferación y diferenciación de las células mieloides progenitoras en granulocitos maduros y macrófagos. Estos hallazgos sugieren que dichas glicoproteínas juegan un papel importante en la regulación de la hematopoyesis *in vivo*.

Los CSFs han sido caracterizados mediante ensayos *in vitro* incorporando a los mediadores en los cultivos de células de médula ósea y caracterizando después el tipo y el número de colonias formadas. Se han identificado 4 subclases diferentes de CSFs murinos: el factor es-

timulador de colonias de macrófagos M-CSF, el factor estimulador de colonias para granulocitos y macrófagos GM-CSF, el factor estimulador de colonias para granulocitos G-CSF y el factor estimulador de colonias multipotencial también conocido como IL-3 ó CSF-multi. Las diferentes clases de CSFs pueden ser obtenidas de diversos órganos, extractos de tejidos y algunas líneas celulares.

Además de su función como factores de crecimiento, los CSFs también modulan la actividad funcional de los leucocitos y fagocitos maduros; el GM-CSF recombinante humano induce actividad tumoricida en monocitos humanos y estimula a los neutrófilos y eosinófilos a producir lisis tumoral por un mecanismo dependiente de anticuerpo además de que este GM-CSF es idéntico al factor inhibidor de la migración de neutrófilos, el cual es un potente activador de neutrófilos.

Varios reportes sugieren que el M-CSF produce varios cambios sobre los macrófagos del tejido murino, por ejemplo, provoca un marcado incremento en el tamaño de la célula, desestabiliza a la membrana y afecta la síntesis de proteínas y de ADN. El M-CSF incrementa la liberación de productos secretados por el macrófago tales como la IL-1, el activador de plasminógeno, los productos de reducción en presencia de oxígeno (ión superóxido  $O_2^-$ ; peróxido de hidrógeno  $H_2O_2$ ) e induce a los macrófagos a inhibir la proliferación pero no la lisis de células tumorales (5).

Otros efectos moduladores del CSF sobre los macrófagos maduros son los que incrementan la difusión, síntesis de proteínas y ARN en monocapas de macrófagos, neutrófilos y eosinófilos; facilitan su actividad antimicrobiana y la toxicidad dependiente de anticuerpos. El CSF incrementa la secreción de interferón y prostaglandina E. El efecto estimulador del M-CSF que afecta la morfología de los macrófagos llevó a Magee y colaboradores a estudiar su efecto sobre los marcadores que juegan un pa-

pel crítico en la fagocitosis y en la presentación de antígeno, de los resultados se concluyó que el M-CSF facilita la expresión de receptores para Fc pero no la expresión del antígeno Ia (7).

Durante la reacción inflamatoria los niveles de M-CSF se incrementan significativamente, ésto indica que el M-CSF es importante para el mantenimiento de la actividad basal del macrófago y durante la respuesta inmune inflamatoria es responsable, en parte, de las funciones facilitadoras del macrófago.

### FACTOR DE NECROSIS TUMORAL

Fué reportado por primera vez por Carswell en 1970, su nombre deriva de la necrosis hemorrágica que se observa en ciertos tumores transplantables del ratón después de la administración sistémica de un factor derivado del macrófago.

El factor citotóxico que se describió inicialmente como factor de necrosis tumoral (TNF) se encontró en el suero de animales inyectados con LPS y BCG, posteriormente se demostró que es producido por los macrófagos y monocitos, y que es citostático y citotóxico para varias líneas de células tumorales. El TNF también puede matar algunos tumores *in vivo*. Recientemente se han encontrado evidencias que demuestran que la actividad del TNF no está restringida a las células transformadas, sino que también las células normales pueden ser afectadas de distinta manera por el TNF; esta citocina puede ser un mediador importante en la destrucción del tejido y también puede representar el mecanismo por el cual se lleva a cabo la citotoxicidad que no está mediada por anticuerpos (8,11).

Varios tipos de células pueden ser afectados por el TNF, incluyendo a los fibroblastos, a las células B estimuladas con LPS, a las líneas de tumores linfoides y a algunas clonas de células T. Se ha demostrado que el TNF exhibe especificidad y que la susceptibilidad observada en

ciertas líneas tumorales probablemente está asociada a la presencia de receptores sobre dichas células.

La producción de TNF se facilita por la acción de IL-2 recombinante por un mecanismo de probable transcripción genética. Por otro lado, aunque el interferón gamma recombinante no facilita de manera directa la producción de TNF si lo hace por acción sinérgica (9).

La presencia de receptores para TNF en una gran variedad de células no transformadas y las interacciones sinérgicas entre el TNF, la IL-2 y el IFN gamma sugiere que estas moléculas juegan un papel importante en la regulación de las interacciones celulares y quizás en la patología autoinmune (10).

El TNF aislado del suero de conejos es una glicoproteína con un peso molecular de 39-55 kd y un punto isoeléctrico de 5.1 a 5.2; el TNF purificado a partir del suero de ratón tiene un peso molecular bajo de 50-60 kd y un peso molecular alto de 100-225 kd con un punto isoelectrico de 4.8.

### PEPTIDO ESTIMULADOR DE NEUTROFILOS

Recientemente cuatro grupos de investigadores identificaron, secuenciaron y clonaron un péptido estimulador de neutrófilos que se produce al estimular a los monocitos humanos con LPS. Este péptido estimulador de neutrófilos está formado por 72 aminoácidos y originalmente se le denominó como factor quimiotáctico de neutrófilos derivado de monocitos (MDNCF), factor activador de neutrófilos (NAF), péptido activador de neutrófilos derivado de monocitos (MONAP), péptido activador de neutrófilos derivado de linfocitos (LYNAP) y péptido quimiotáctico de granulocitos.

Walz describió que tanto el NAF nativo como el recombinante son igualmente efectivos en causar la elevación intracelular de calcio, y la liberación de elastasa, Schroder observó que

el MONAP es un potente agente quimiotáctico para neutrófilos humanos *in vitro*. Matsushima reportó que las altas concentraciones de MDNCF induce quimiotaxis de linfocitos T *in vitro*, mientras que las dosis bajas del mismo factor cuando son inyectadas intradérmicamente en ratas inducen la infiltración enriquecida de células T y que se requiere de un dosis 100 veces mayor para inducir un infiltrado rico en neutrófilos.

Matsushima recientemente caracterizó el receptor para el MDNCF sobre los neutrófilos humanos con la línea celular HL-60 y en las

células T humanas. Los neutrófilos humanos poseen alrededor de 20 000 receptores de alta afinidad para el MDNCF.

La producción del NAF por monocitos humanos es estimulada también por la interleucina-1 beta (IL-1B), el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), la interleucina-3 (IL-3) y por el factor estimulador de colonias para monocitos y granulocitos (GM-CSF).

Se agradece el apoyo recibido por el Programa Universitario de Investigación en Salud, UNAM durante la elaboración de este trabajo.

## BIBLIOGRAFIA

1. Nathan, F.C.; Murray, W.H. y Cohn, A.Z. (1980) *Current concepts: The macrophage as an effector cell*. The New England Journal of Medicine. 303: 622-626.
2. Oppenheim, J.J.; Kovacs, E.J.; Matsushima, K. y Durum, S.K. (1986) *There is more than one interleukin 1*. Immunology Today 7: 45-56.
3. Tosato, G.; Seamon, K.B.; Goldman, N.D.; Sehgal, P.B.; May, L.T.; Washington, G.C.; Jones, K.D. y Pike, S.E. (1988) *Monocyte-derived human B cell growth factor identified as interferon-B2 (BSF-2, IL-6)*. Science 239: 502-504.
4. Male, D.; Champion, B. y Cooke, A. (1987) *Lymphokines* En *Advanced Immunology*. Male, D.K. ed. Gower Medical Publishing, London-New York. Vol. I p.p. 11. 5-15.7
5. Wing E.J.; Ampel, N.M.; Waheed, A. y Shadduck, R.K. (1985) *Macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) enhances the capacity of murine macrophage to secreted oxygen reduction products*. The Journal of Immunology 135: 2052-2056.
6. Bickel, M.; Amstad, P.; Tsuda, H.; Sulis, C.; Asofsky, R.; Mergenhagen, S.E. y Pluznik, D.H. (1987) *Induction of granulocyte-macrophage colony stimulating factor by lipopolisaccharide and anti-immunoglobulin M-stimulated murine B cell lines*. The Journal of Immunology 139: 2984-2988.
7. Magee, D.M.; Wing, E.J.; Ampel, N.M.; Waheed, A. y Shadduck, R.K. (1987) *Macrophage colony-stimulating factor enhances the expression of Fc receptors on murine peritoneal macrophages*. Immunology. 62: 373-378.
8. Kull, F.C. y Cuatrecasas, P. (1984) *Necrosin. Purification and properties of a cytotoxin derived from a murine macrophage-like cell line*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 81: 7932-7936.
9. Wang, M.A.; Creasey, A.A.; Ladner, M.B.; Lin, L.S.; Strickler, J.; Arsdell, J.N.V.; Yamamoto, R. y Mark D.F. (1985) *Molecular cloning of the complementary DNA for human tumor necrosis factor*. Science 228: 149-154.
10. Hoffman, M.K.; Oettgen, H.F.; Old, L.J.; Mittler, R.S. y Hammerling, U. (1978) *Induction and immunological properties of tumor necrosis factor*. Journal of Reticuloendothelial Society. 23: 307-319.
11. Darzynkiewicz, Z.; Williamson, B.; Carswell, E.A. y Old, L.J. (1984) *Cell-cycle specific effects of tumor necrosis factor*. Cancer Research. 44: 83-90.
12. Westwick, S.W.L. and Camp, R.D. (1989) *Novel neutrophil-stimulating peptides*. Immunology Today 10: 146-147.

# PROCESAMIENTO Y PRESENTACION DE ANTIGENOS EXOGENOS POR MACROFAGOS

Luis F. Montaña<sup>++</sup>, Felipe Masso<sup>\*</sup>, Hortencia León<sup>++</sup>, Luis Amaro<sup>\*\*</sup> y Edgar Zenteno<sup>\*\*</sup>

<sup>++</sup> Laboratorio de Inmunología y <sup>\*</sup>Departamento de Bioquímica, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, Calz. de Tlalpan 4502, México 14080.

<sup>\*\*</sup> Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, U.N.A.M., México.

En el transcurso de la evolución de los seres vivos el sistema inmune ha sufrido transformaciones importantes secundarias a las presiones ejercidas por el medio ambiente.

Este proceso de desarrollo ha conformado un sistema que tiene que realizar diversas tareas para la detección y eliminación de agentes y sustancias nocivas, las cuales se pueden agrupar en seis grandes áreas: encuentro, reconocimiento, activación, despliegue, discriminación y regulación (1).

La presentación antigénica es una actividad que se incluye dentro del área de el reconocimiento y la efectúa un grupo heterogéneo de células mononucleares del sistema fagocítico, las cuales se encargan de capturar agentes y sustancias extrañas. A este grupo de células se les designa como células presentadoras de antígeno (CPA) o células accesorias (2, 3).

Las CPA se dedican a degradar parcialmente al antígeno y a llevar los fragmentos a los sitios en donde se efectúa el encuentro con células capaces de interactuar con dichos fragmentos y producir una respuesta inmune contra el antígeno (4).

## ¿QUE ES UN ANTIGENO?

Los antígenos son moléculas capaces de inducir una respuesta inmune específica de tipo

humoral (anticuerpos), o celular, o de ambas. Esta definición es operacional ya que no poseen una composición química específica o característica que los distinga de sustancias análogas que no son antigénicas (5).

La antigenicidad de una molécula depende de múltiples factores entre los que se encuentran: la distancia filogenética entre el huésped y el antígeno, el funcionamiento de la red idiótípica, el modo de presentación del antígeno a las células linfoides, la capacidad del antígeno para estimular a los linfocitos B y T -tanto cooperadores como supresores-, la dependencia del antígeno a las células T (antígenos Timo dependientes como los eritrocitos de carnero, proteínas, conjugados hapteno/proteína vs antígenos Timo independientes como los carbohidratos, lipopolisacáridos, polinucleótidos), la composición química del antígeno, la vía de inmunización, la dosis del antígeno, las interacciones celulares y las características genéticas del huésped (1,3,5,6).

Las moléculas no tienen que ser forzosa-mente exógenas ya que hay moléculas endógenas que también son antigénicas y sujetas a procesamiento, aunque este último se da por vías diferentes a las que vamos a mencionar en esta revisión que se ocupa del procesamiento de moléculas exógenas.

Abreviaturas utilizadas: CPA = célula presentadora de antígeno. CD = cluster de diferenciación. CDR = región determinadora de complementariedad.

La complejidad del antígeno en lo referente a su tamaño y a su composición química, determina su capacidad para inducir una respuesta inmune. La forma de la molécula no parece ser tan importante como la flexibilidad de la misma (la antigenicidad de la mioglobina se la confieren los residuos de la molécula que se encuentran formando alfa-hélice) (6).

Otra característica que poseen los antígenos es la especificidad; la cual se define como la habilidad de la molécula para interactuar con el sitio activo de los anticuerpos o con los linfocitos. Esta característica está dada por la cantidad de estructuras potencialmente antigénicas que tiene una molécula, las cuáles se conocen como epítopes o determinantes antigénicos (7). Los epítopes pueden ser secuenciales (secuencias lineales cortas de aminoácidos) o conformacionales (residuos distantes que se ponen en contacto por doblamiento). El estudio experimental de la presentación de los primeros no ha tenido mayores dificultades, mientras que para los segundos se ha tenido que recurrir a la síntesis de secuencias de residuos que mimetizan la habilidad del epítope para unirse a un anticuerpo específico (mimetopes), pero que tienen una pobre relación con la secuencia de residuos que indujo la formación del anticuerpo (8).

Algunos epítopes presentes en una molécula interactúan con linfocitos B mientras que otros lo hacen con linfocitos T, esto hace que la respuesta inmune humoral contra una molécula antigénica se dé para epítopes B-afines mientras que la respuesta inmune celular se dé para epítopes T-afines, de la misma molécula (2,9-11). Un ejemplo es el glucagón cuyos residuos 1-17 son reconocidos por linfocitos B mientras que los residuos 18-29 son reconocidos por linfocitos T. No todos los epítopes presentes en una molécula generan respuesta inmune, aquellos que invariablemente lo hacen se les conoce como "inmunodominantes" (se unen más eficientemente a las moléculas del complejo ma-

yor de histocompatibilidad presentes en la superficie de las CPA); las razones por las cuales es posible que se comporten como tal incluyen: propiedades estructurales intrínsecas, genes de respuesta inmune del huésped, reactividad de células T y/o B, no tolerancia a estructuras similares de componentes propios (1).

### **¿QUE ES UNA CELULA PRESENTADORA DE ANTIGENO?**

Como ya se mencionó en el inicio de esta revisión hay numerosas poblaciones celulares capaces de hacer presentaciones de antígeno. Para poder ejemplificar el proceso de presentación antigénica nos referiremos solamente de los fagocitos mononucleares o macrófagos que son células encargadas de presentar antígeno a linfocitos T cooperadores (estos últimos solamente reconocen antígeno presentado por células poseedoras de moléculas clase II del complejo mayor de histocompatibilidad, conocidas como **Ia** en los ratones y **Dr** en los humanos) (6,10,12).

Antes de seguir debemos mencionar que otras poblaciones celulares poseedoras de moléculas clase II incluyen a los linfocitos B presentadores de antígeno y a las células interdigitantes entre las que destacan las células de Langerhans y las dendríticas (1,3,10,11,13).

La presentación de antígeno a linfocitos T supresores/citotóxicos la efectúan células que poseen moléculas clase I del complejo mayor de histocompatibilidad, conocidas como **ABC** en el humano y **H-2** en los ratones (7).

Los fagocitos mononucleares tienen capacidad endofagocítica elevada y contienen numerosos lisosomas y vesículas. Estas células capturan numerosas sustancias particuladas (fagocitosis) y moléculas solubles (pinocitosis). Los antígenos exógenos son capturados por las CPA y penetran, por lo general, al interior de la célula a través de pinocitosis (otras vías de entrada incluyen: unión a receptores específicos de superficie incluyendo FcR, C3B y recepto-

res hormonales, así como unión al receptor de propósitos generales el cual es un receptor para manosa capaz de internalizar  $2 \times 10^6$  moléculas/hora). Es interesante hacer notar que no todos los antígenos presentados por células Ia<sup>+</sup> deben ser endocitados para poder ser presentados. Una vez que la molécula se fija a la superficie del macrófago es introducida al interior de la célula a través de vesículas que son invaginaciones de la membrana y que se conocen como vesículas endosomales. Estas vesículas se dirigen hacia la zona perinuclear donde se fusionan con lisosomas primarios para formar los fagolisosomas e iniciar así el proceso de digestión intracelular de su contenido. Las vesículas endosomales además de funcionar como comportamiento de transporte, contienen cathepsina D que es una proteasa ácida anclada en la membrana celular y proteasas para cisteína; los lisosomas primarios también contienen proteasas ácidas. Las proteasas presentes en el fagolisosoma se activan gracias al pH ácido de este compartimiento (6,7,15).

La fagocitosis y digestión de una proteína es rápida, sin embargo un 20% de la proteína se degrada más lentamente y en forma parcial, lo que hace que se considere a esta fracción como la que será presentada en la superficie de las CPA.

Otros eventos asociados al procesamiento de un antígeno incluyen la posible sulfatación de residuos de tirosina que permite al fragmento protéico lograr una orientación adecuada en la membrana celular y la posible O-glicosilación de los determinantes antigénicos dentro de la célula presentadora de antígeno para protegerlos de la proteólisis intracelular.

Para que un macrófago sea capaz de presentar antígeno debe encontrarse en la etapa de enlistado (hay tres etapas: responsivo, enlistado y activado. La tabla I muestra las funciones y los marcadores de los macrófagos en cada una de estas etapas). El enlistamiento del macrófago se da por estimulación de esta célula

**TABLA I.**  
**FUNCIONES Y MARCADORES FENOTIPICOS DE LOS MACROFAGOS EN DIFERENTES ESTADIOS DE RESPUESTA.**

ESTADIO	FUNCION	MARCADORES
RESPONSIVO	Quimiotaxis Fagocitosis Proliferación + + + +	I-A negativo LFA-1 negativo anión superóxido + TRF +
ENLISTADO	Unir células tumorales Proliferación + Presentación antigénica + + +	I-A + LFA-1 + anión superóxido + + + TFR negativo
ACTIVADO	Tumoricida Presentación antigénica +	I-A + LFA-1 + anión superóxido + + + TFR negativo PC + TNF +

Abreviaturas utilizadas: I-A = molécula clase II del complejo histocompatibilidad; LFA = 1 = Antígeno asociado a la función de linfocitos #1; TFR = receptor de transferrina; PC = proteasa citolítica; TNF = factor de necrosis tumoral.

con interferón gamma. La molécula clase II de los macrófagos presentadores de antígeno debe ser I-A ó I-E, los que tienen I-J no son capaces de presentar antígeno (3,6,9,16).

Un requisito esencial para que un macrófago sea capaz de procesar y presentar antígeno es que dicha célula sea capaz de expresar la cadena constante de la molécula clase II.

Las asociación del fragmento antigénico procesado con la molécula clase II, tiene tres finalidades. La primera es que favorece la orientación del determinante inmunogénico; la segunda es proteger al fragmento antigénico de la acción de la proteinasa de serina de la membrana que es capaz de degradar totalmente al antígeno. Esta ya bien demostrado que la proteína que no se une a la molécula clase II es degradada totalmente por proteinasas. Finalmente, la tercera función es la de estabilizar al determinante antigénico durante suficiente tiempo para que los linfocitos T reconozcan el epítope. Debido a que la constante de disociación de un péptido con una molécula clase II es baja ( $10^{-5}$  a  $10^{-6}$ ) y lenta (30 horas), el fragmento antigénico está presente y estable en la superficie de la CPA durante 24 horas para que pueda ser reconocido por los linfocitos (1,7,8,12,15).

La protección del antígeno a la acción degradadora de enzimas de membrana no es solamente función de la molécula clase II del complejo mayor de histocompatibilidad. Se sabe de la presencia en la superficie celular de estructuras específicas que retienen al antígeno (SARS) cuya función también es evitar la destrucción del determinante antigénico (17).

### ¿QUE ES EL PROCESAMIENTO Y PRESENTACION DE UN ANTIGENO?

El procesamiento de un antígeno por parte de una célula presentadora de antígeno consiste en la captura e internalización de una molécula a compartimientos intracelulares donde dicha molécula es sujeta a degradación enzimática por parte de enzimas acídicas para generar fracciones altamente inmunogénicas las cuáles muchas veces coinciden con regiones anfipáticas de la molécula, o sea, regiones donde hay una mezcla de residuos hidrofílicos e hidrofóbicos (3).

La presentación de un antígeno consiste en la expresión en la superficie de la célula presentadora de antígeno de las fracciones inmunogénicas (epítopes) de la molécula antigénica junto con moléculas clase II del complejo mayor de histocompatibilidad, de tal manera que la célula eferente sea capaz de reconocer dicho complejo para así iniciar una respuesta inmune. La formación del complejo Ag/molécula clase II ocurre dentro de la CPA y es transportado a la superficie de la CPA por un sistema de reciclamiento endosomal, aunque hay posibilidades de que dependiendo del antígeno, haya circunstancias en las que la formación del complejo se efectúe en la superficie de la célula (3,6,8,11,18,19).

La porción del antígeno que va a ser reconocida por la célula aferente se conoce como EPITOPE, la porción del antígeno que se une a la molécula clase II del complejo mayor de histocompatibilidad se conoce como AGREGOTOPE, la porción de la molécula clase II que se une al agregotopope se conoce como DESTETOPE y la porción de la molécula clase II que va a ser reconocida por la célula aferente se denomina HISTOTOPE (figura 1), (3).

La porción del antígeno que va a ser reconocida por la célula aferente se conoce como EPITOPE, la porción del antígeno que se une a la molécula clase II del complejo mayor de histocompatibilidad se conoce como AGREGOTOPE, la porción de la molécula clase II que se une al agregotopope se conoce como DESTETOPE y la porción de la molécula clase II que va a ser reconocida por la célula aferente se denomina HISTOTOPE (figura 1), (3).

### ¿QUE RECONOCE EL LINFOCITO EN LA CELULA PRESENTADORA DE ANTIGENO?

Las células respondedoras deben ser capaces de reconocer al antígeno modificado y a la molécula clase II del complejo mayor de histocompatibilidad, en la superficie de la CPA para que se pueda iniciar la respuesta inmune (10). Las células que tienen este tipo de restricción incluyen a los linfocitos T cooperadores, linfocitos B y algunos linfocitos T supresores/citotóxicos (cuya función es destruir a la CPA con



restricción por moléculas clase II e inhibir la generación de una respuesta de linfocitos T cooperadores terminando así la respuesta inmune generada contra el determinante antigénico, o lisar de manera altamente específica linfocitos B antígeno-específicos). Este reconocimiento lo efectúa el linfocito T a través de una estructura de superficie que se conoce como el receptor del linfocito T (T-cell receptor) (1,3,5,8,20,21).

La unidad básica de este receptor está formada por dos proteínas de 45 kd de peso unidas por un puente disulfuro que se consideran miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas. Estas proteínas poseen dos dominios uno de ellos variable y el otro constante. La región variable de cada una de ellas posee tres regiones determinadoras de complementaridad (CDR's conocidas como regiones hipervariables en las inmunoglobulinas). El CDR-1 y CDR-2 de cada una de ellas es la encargada de reconocer al histotopo del complejo Ag/molécula clase II presente en la superficie de la CPA, y se conoce como RESTITOPE, la tercera región de complementaridad o CDR-3 es la encargada de reconocer al epítipo del complejo presente en la CPA y se conoce como PARATOPE (fig. 2) (3,5,16,22,23).

Una vez que el receptor de los linfocitos T reconoce y liga al epítipo y al histotopo, se forma un complejo el cual debe estabilizarse para poder iniciar proceso de fosforilación en el linfocito T (8). La molécula encargada de estabilizar el complejo se conoce como CD4 en el caso de los linfocitos T cooperadores. Esta molécula tiene un peso de 60 kd y es también miembro de la superfamilia de inmunoglobulinas, se encuentra físicamente cerca al receptor de linfocitos T y posee una débil afinidad por las moléculas clase II del complejo mayor de histocompatibilidad (23).

La fosforilación del linfocito T una vez estabilizado el complejo receptor/antígeno-molécula clase II se debe a la activación de la cade-

na gamma de otra molécula conocida como CD3 (la cuál está presente en todos los linfocitos T maduros), la cuál posee también otras dos subunidades, la delta y la epsilon (fig. 2). La cadena gamma posee muchos sitios activos de fosforilación los cuales se activan generando segundas señales esenciales para el proceso de proliferación celular.

### **¿CUAL ES LA FUNCION DE LAS CELULAS PRESENTADORAS DE ANTIGENO?**

En términos de respuesta inmune estas células sirven primordialmente para dos funciones, la primera que es desdoblar la molécula antigénica para que la expresión de los epítopes y agregótopes sea óptima y reconocible para los linfocitos T; la segunda es la de iniciar la producción de señales a las células que conforman el sistema inmune para que la respuesta sea eficiente y adecuada, recordando que la conformación genética del huésped también juega un papel importante en el tipo de respuesta que se va a generar.

Es importante mencionar que hay una población de linfocitos T supresores capaz de ligar antígeno sin necesidad de reconocer moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad. Esto es importante porque quiere decir que no todos los antígenos ni todos los linfocitos T requieren de la función de CPA.

### **CONCLUSIONES**

En resumen, las células presentadoras de antígeno son las encargadas de procesar proteínas antigénicas en compartimentos intracelulares de tal forma que los determinantes antigénicos inmunodominantes de la proteína sean expuestos en la superficie de estas células en forma de complejo con moléculas clase II del complejo mayor de histocompatibilidad, para poder ser reconocidos por un complejo presente en la superficie de los linfocitos T e iniciar una respuesta inmune efectiva. Así mismo, el procesamiento de la proteína antigénica con-

lleva la estimulación de la célula presentadora con la consecuente liberación al medio externo de factores solubles protéicos que también ayudan a la inducción de la respuesta inmune.

Los autores agradecen al Programa Universitario de Investigación en Salud el apoyo recibido durante la elaboración de este manuscrito.

## BIBLIOGRAFIA

1. Male, D., Champion, B. y Cooke, A. (1987) *Advanced Immunology*. Editores: Male, D., Champion, B. y Cooke, A. Lippincott Company. Philadelphia.
2. Frohman, M. y Cowing, C. (1985) *Presentation of antigen by B cells: functional dependence on radiation dose, interleukins, cellular activation, and differential glycosylation*. J. Immunol. 134: 2269-2275.
3. Roitt, I.M. Brostoff, J. y Male, D.K. (1989) *Immunology*. Editores Roitt, I.M., Brostoff, J. y Male D.K. The C.V. Mosby Company, St. Louis.
4. Nairn, R., Spengler, M.L., Hoffman, M.D., Solvay, M.J. y Thomas, D.W. (1984) *Macrophage processing of peptide antigens: identification of an antigenic complex*. J. Immunol. 133: 3225-3229.
5. Nagy, Z.A., Lehmann, P.V., Falcioni, F., Muller, S. y Adorini, L. (1989) *Why peptides? Their possible role in the evolution of MHC-restricted T-cell recognition*. Immunology Today 10: 132-138.
6. Lernmark, A., Graham, R., Leslie, Q. y Werdelin, O. (1987). *Mechanisms of clearance and processing of protein molecules*. Immunology Today 8: 353-356.
7. Gerlier, D. y Roubourdin-Combe, C. (1989) *Antigen processing from cell biology to molecular interactions* Immunology Today 10: 3-5.
8. Allen, P.M. (1987) *Antigen processing at the molecular level*. Immunology Today 8: 270-273.
9. Moriya, N., Sanjoh, K., Yokoyama, S. y Hayashi, T. (1987) *Mechanisms of HLA-DR antigen expression in phytohemagglutinin-activated T cells in man. Requirement of T cell recognition of self HLA-DR antigen expressed on the surface of monocytes*. J. Immunol. 139: 3281-3286.
10. Schwartz, R.M. (1985) *T lymphocyte recognition of antigen in association with gene products of the major histocompatibility complex*. Annu. Rev. Immunol. 3: 237-264.
11. Kappler, J., White, J., Wegmann, D., Mustain, E. y Marrack, P. (1982) *Antigen presentation by Ia B cell hybridomas to H-2 restricted T cell hybridomas*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79, 3604-3608.
12. Babbit, B.P., Allen, P.M., Matsueda, G., Haber, E. y Unanue, E.R. (1985) *Binding of immunogenic peptides to Ia histocompatibility molecules*. Nature 317: 359-361.
13. Le, J. y Vilcek, J. (1987) *Accessory function of human fibroblasts in mitogen-stimulated interferon gamma production by T lymphocytes. Inhibition by interleukin 1 and tumor necrosis factor*. J. Immunol. 139: 3330-3337.
14. Lanzavecchia, A. (1989) *Is suppression a function of class II-restricted cytotoxic T cells?*. Immunology Today 10: 157-159.
15. Zuckerman, S.H. y Douglas, S.D. (1979) *Dynamics of the macrophage plasma membrane*. Ann. Rev. Microbiol. 33: 267-307.
16. Hamilton, T.A. y Adams, D.O. (1987) *Molecular mechanisms of signal transduction in macrophages*. Immunology Today 8: 151-158.
17. Betancourt, S.V., Solvay, M.J., Irani, D.N., Thomas D.W. y Nairn, R. (1987) *Heterogeneity in cellular antigen retention structures*. J. Immunol. 139: 3725-3729.
18. Weiss, A., Dazin, P.F., Shields, R., Man-Fu, S. y Lanier, L.L. (1987) *Functional competency of T cell antigen receptors in human thymus*. J. Immunol. 139: 3245-3250.
19. Erlanger, B.F. (1989) *Some thoughts on the structural basis of internal imagery*. Immunology Today 10: 151-152.
20. Claverie, J.M., Prochnicka-Chalufour, A. y Bougueleret L. (1989) *Implications of a Fab-like structure for the T-cell receptor*. Immunology today 10: 10-14.
21. Golding, H., McCluskey, J., Munitz, T.I., Germain, R.N., Margulies, D.H. y Singer, A. (1985) *T-cell restriction of a chimaeric class II/class I MHC molecule and the role of L3T4*. Nature 317: 425-427.
22. Amzel, L.M. y Poljak, R.J. (1979) *Three-dimensional structure of immunoglobulins*. Ann. Rev. Biochem. 48: 961-997.
23. Williams, A.F. (1987) *A year in the life of the immunoglobulin superfamily*. Immunology Today 8: 298-303.

# NITROGEN SOURCE CONTROL OF MICROBIAL PROCESSES

Editado por Sergio Sánchez Esquivel. Departamento de Biotecnología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, U.N.A.M. CRC Press, Inc: Boca Ratón, Florida. 1988 (202 páginas) ISBN 0-8493-6223-7.

En las palabras de su editor el propósito del libro es proporcionar una presentación a profundidad del estado del arte en el conocimiento relacionado con el control mostrado por la fuente de nitrógeno en algunos procesos fisiológicos de los sistemas microbianos. El libro, muy bien presentado, está integrado por 9 capítulos firmados por 15 investigadores, la mayoría de ellos con un bien ganado prestigio internacional y es un orgullo para el BEB que el editor del libro sea uno de los editores de nuestro Boletín.

El libro está organizado en dos partes, los primeros 4 capítulos, así como el último, contienen información general sobre la distribución del nitrógeno, su asimilación, regulación, fijación y genética. Los otros 4 capítulos contienen ejemplos biológicos específicos, estudiados en actinomicetos y hongos, relativos al control que ejerce la fuente de nitrógeno en el metabolismo de determinados compuestos nitrogenados. El primer capítulo y el último ofrecen una actualizada visión panorámica sobre el metabolismo del nitrógeno y sobre la regulación de la fijación del nitrógeno. Desde mi punto de vista son los dos capítulos que podrían ser de interés para un profesor de bioquímica general.

El metabolismo del nitrógeno en las Enterobacteriaceas y en los hongos, preferentemente en la *Neurospora crassa*, son los temas de los capítulos 2, 3 y 4. Particularmente el capítulo 3

escrito por Jaime Mora (Centro de Investigación sobre Fijación del Nitrógeno de la Universidad Autónoma de México) contiene numerosos datos de experimentos realizados en el laboratorio del autor. Estos 3 capítulos están escritos para el experto en el campo y a mí me hubiera gustado encontrar un resumen que ayudara a ubicar al no experto y le diera relevancia relativa a la abundante información contenida en un campo tan amplio.

Como anoté, los otros 4 capítulos, del 5 al 8, se refieren a ejemplos concretos, a aspectos puntuales: el 5 relacionado con la síntesis de antibióticos en actinomicetos, el 6 con la regulación de la síntesis de penicilina y cefalosporina por compuestos nitrogenados (escrito por Sergio Sánchez-Esquivel y colaboradores), el capítulo 7 trata la producción de micotoxinas y el 8 la formación de alcaloides. Estos capítulos tienen un marcado contenido biotecnológico, son de lectura indispensable para quienes trabajan en el tema, pero su lectura es de interés muy secundario para los profesores generales de la materia. En conclusión, un libro útil para una biblioteca general, pero no para la biblioteca particular de un profesor de bioquímica. Una felicitación para los investigadores que lo hicieron.

Comentado por:

Enrique Piña Garza

Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM.

# INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DEL BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA

El BEB es una revista dedicada a la divulgación de temas interesantes y relevantes en el campo de la bioquímica y en áreas afines. Está dirigido a profesores y estudiantes no especializados, por lo que se sugiere que la presentación de los trabajos se ajuste a sus lectores y sea simple, explícita y didáctica. Serán bienvenidas las contribuciones en forma de artículos de revisión y otras comunicaciones. Solicitamos a los autores se ajusten a los siguientes lineamientos para facilitar la labor editorial:

## I. ARTICULOS DE REVISION

- 1) El artículo deberá enviarse capturado en cualquiera de los procesadores de texto "Word" o "Wordstar", sin ningún formato, con el texto cargado a la izquierda y con una extensión máxima de 18 mil caracteres, en un disco flexible de 5 1/4 pulgadas de 365 KB. El disco deberá ir acompañado de dos impresiones del artículo en el que deberán marcarse en color las palabras o líneas que deben ir en cursivas o negritas, así como todas aquellas anotaciones que desee. En el caso de no tener acceso a estos procesadores de texto, el manuscrito podrá enviarse a máquina, no debe exceder de 12 cuartillas escritas a doble espacio (27 renglones por cuartilla y 70 golpes por renglón).
- 2) Deberá incluir un resumen de mas o menos 10 renglones del trabajo que se esta presentando; enseguida escribir de 3 a 6 palabras clave para ser usadas como código en el catálogo internacional.
- 3) Se aceptarán como máximo 6 figuras o tablas. Las cuales se entregarán por separado en papel albanene con tinta o como fotografía brillantes a blanco y negro. La limitación en el número de figuras, tablas y referencias obliga a los autores a que seleccionen aquellas realmente importantes e informativas. Numere las figuras con números arábigos y las tablas con números romanos. Adicione las leyendas y pies de figura en una hoja aparte. Considere que las figuras y tablas serán reducidas de tamaño, aproximadamente a 1/2 ó 1/4 de la hoja carta, las letras y números más pequeños no deben ser menores a los 2 mm.
- 4) Sugerimos un máximo de 10 referencias tanto específicas como lecturas recomendadas, numeradas en el texto en forma progresiva conforme vayan apareciendo. Cada referencia debe contener: nombre(s) del autor(es), año entre parentesis, título del artículo, nombre de la revista, volumen a cursiva y el número de la primera y ultima páginas.

Ejemplos:

a) Larkins, B.A., Pearlmutter, N.L. y Hurkman, W.J. (1979). The machanism of zein synthesis and deposition in protein bodies of maize endosperm. En *The Plant Seed. Development, Preservation, and Germination*, Editores: Rubenstein, I., Phillips, R.L., Green, C.E. y Genenbach, B.G. Academic Press. New York. pp. 49-55

b) Miller, C.O. (1982). Cytokinin Modification of Mitochondrial Fuction. *Plant Physiol*, 69. 1274-1277.

- 5) Evite hasta donde sea posible los pies de páginas. Las abreviaturas poco comunes utilizadas en el texto deberán enlistarse en la primera página.

## II. OTRAS COMUNICACIONES

- 1) El tema de las otras comunicaciones puede ser muy variado; desde resúmenes de artículos interesantes, relevante o significativos, información de tipo general, bolsa de trabajo, etc.
- 2) El contenido deberá ser desarrollado en forma resumida y de una manera explícita.
- 3) El artículo deberá enviarse capturado en cualquiera de los procesadores de texto "Word" o "Wordstar", sin ningún formato, con el texto cargado a la izquierda y con una extensión máxima de 6 mil caracteres, en un disco flexible de 5 1/4 pulgadas de 365 KB. El disco deberá ir acompañado de dos impresiones del artículo en el que deberán marcarse en color las palabras o líneas que deben ir en cursivas o negritas, así como todas aquellas anotaciones que desee. En el caso de no tener acceso a estos procesadores de texto, el manuscrito podrá enviarse a máquina, debe ser de una a cuatro cuartillas de longitud, escrita a doble espacio (27 renglones por cuartilla y 70 golpes por línea).
- 4) Se aceptarán un máximo de dos referencias incluidas entre parentesis en el texto. En casos en que se juzgue necesario se podrá incluir una figura o tabla.

Los manuscritos serán leídos por dos revisores, uno de ellos familiarizado con el tema y el otro ajeno al mismo. Las correcciones y sugerencias se comunicarán al primer autor.

Envíe el diskette y las dos copias de los manuscritos a la Dra. Yolanda Saldaña de Delgadillo. Boletín de Educación Bioquímica, Apdo. Postal 70-381. Delegación Coyoacán, 04510 México, D.F. o al Dr. Alberto Hamabata, Departamento de Bioquímica, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Apdo. Postal 14-740, 07000 México, D.F., o bien a través del corresponsal del BEB en su localidad.