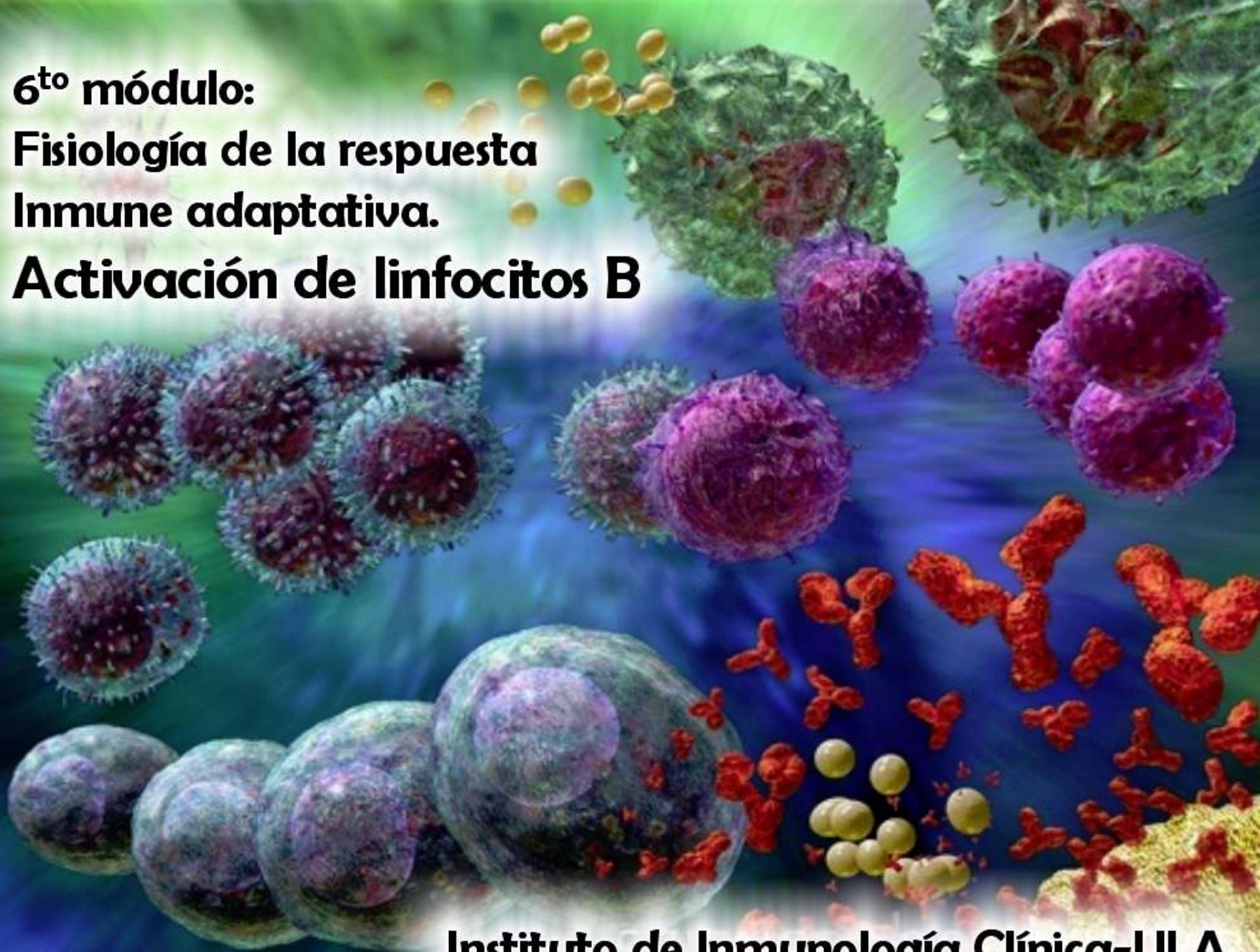


6^{to} módulo:

**Fisiología de la respuesta
Inmune adaptativa.**

Activación de linfocitos B



Instituto de Inmunología Clínica-ULA

¿De que hablaremos hoy?

- La respuesta inmune humoral específica

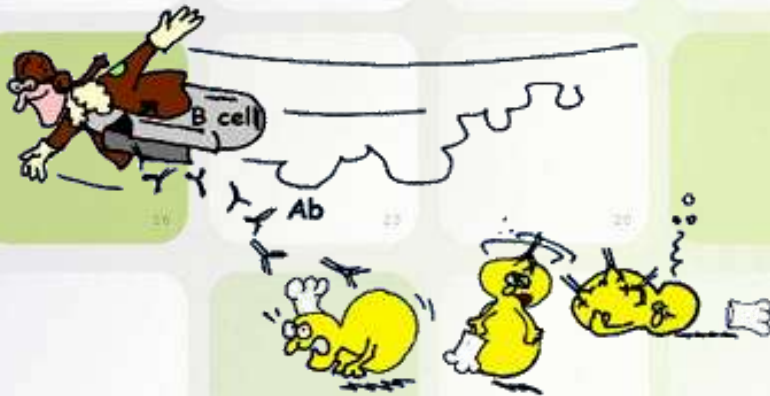
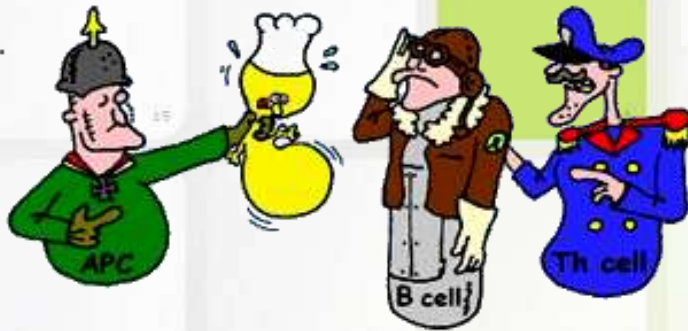
- Respuesta primaria y respuesta secundaria

- Activación del linfocito B

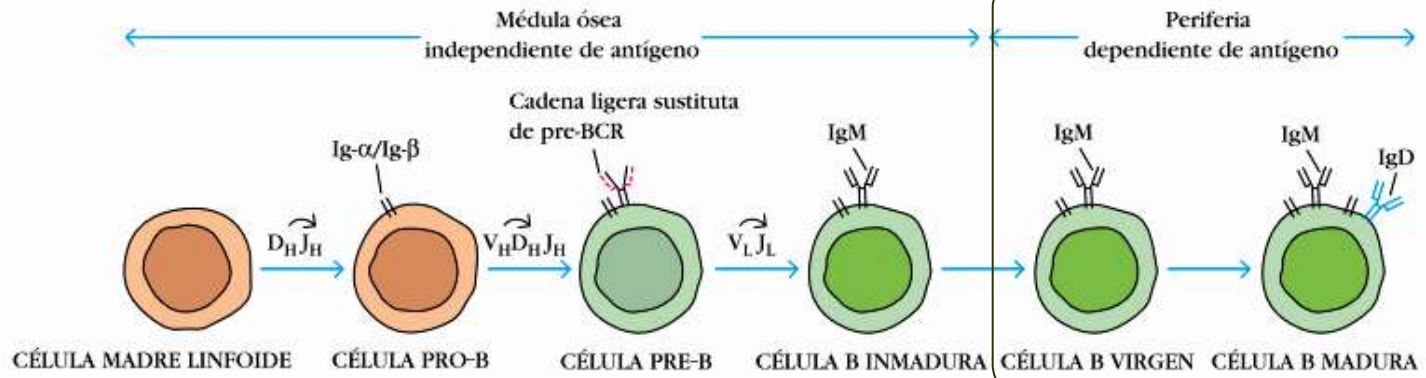
- Fases de la inducción de la respuesta humoral frente a antígenos timo-dependientes

- Respuesta frente a antígenos timo-independientes

- Generalidades sobre las inmunoglobulinas



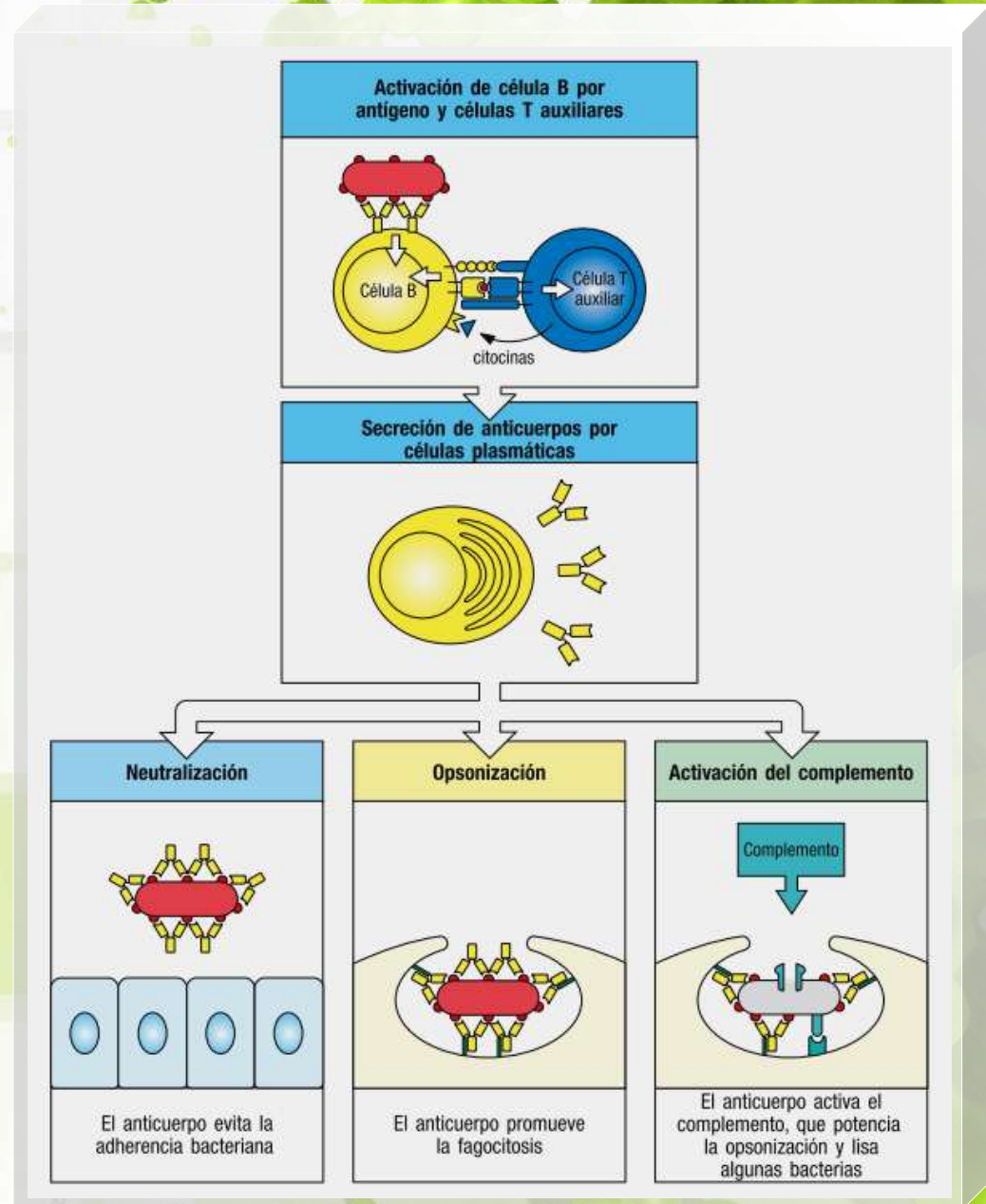
Un repaso sobre ontogenia



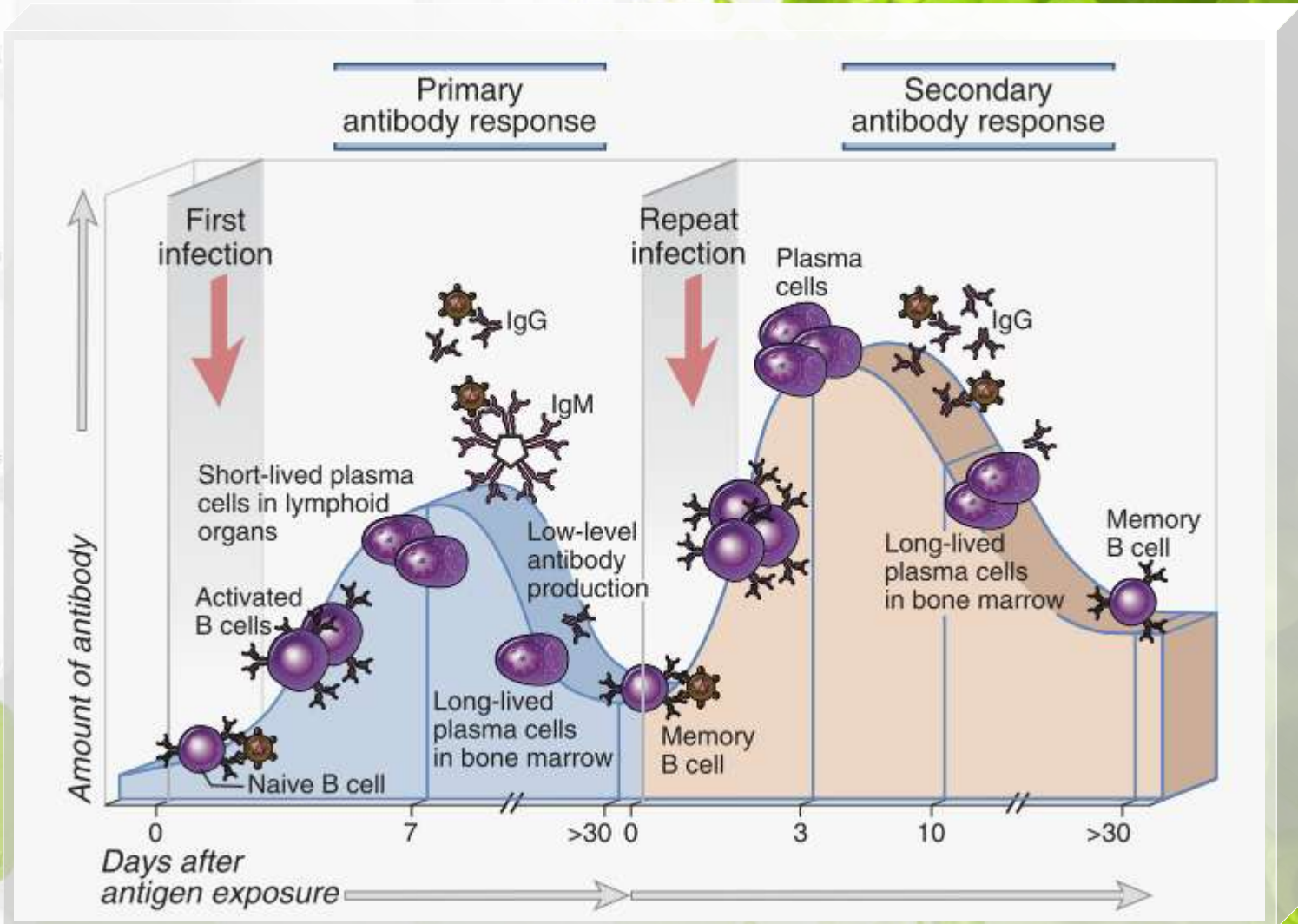
	CÉLULA MADRE LINFOIDE	CÉLULA PRO-B	CÉLULA PRE-B	CÉLULA B INMADURA	CÉLULA B VIRGEN	CÉLULA B MADURA
Genes de cadena H	Línea germinal	$D_H J_H$	$V_H D_H J_H$	→		
Genes de cadena L	Línea germinal	V_{pre-B} y $\lambda 5$ sustitutas κ y λ de línea germinal	V_{pre-B} y $\lambda 5$ sustitutas κ y λ de línea germinal	$V_L J_L$	→	
RAG-1/2	-	+	+	-	-	-
TdT	-	+	-	-	-	-
Ig de membrana						
Cadena pesada	-	-	μ	→ $\mu + \delta$		
Cadena ligera	-	Cadena ligera sustituta	Cadena ligera sustituta	κ o λ	→	
Factores de transcripción	Pu.1, Ikaros, otros	BSAP(Pax-5)	Sox-4	EBF	E2A	Oct-2
Marcadores de superficie	c-Kit	CD45R, CD19, HSA(CD24), Ig- α /Ig- β	IL-7R	CD43	CD25	mIgM
						mIgD

Células B y anticuerpos como mediadores de la respuesta humoral

- ❖ Las señales provenientes del antígeno unido y de la célula T auxiliar inducen a la célula B para que prolifere y se diferencie en células plasmáticas que secretan anticuerpos específicos
- ❖ Estos anticuerpos protegen al hospedador contra infecciones de tres modos principales: neutralizando, opsonizando y activando el complemento



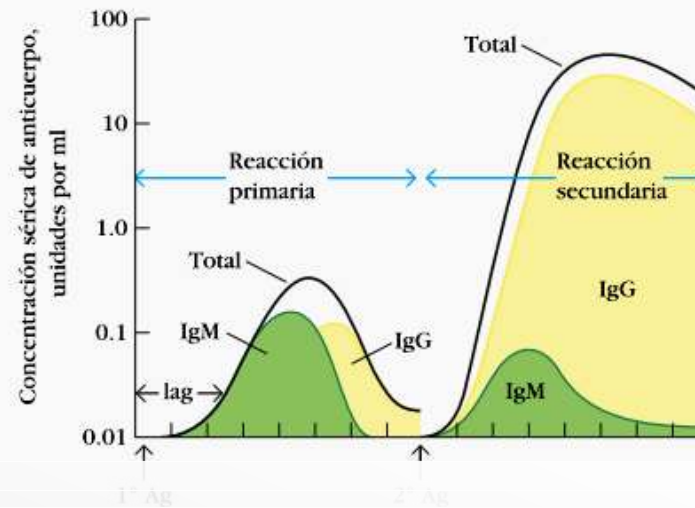
Tipos de respuestas humorales



❖ Este fenómeno es la piedra angular de la vacunación



Tipos de respuestas humorales



CUADRO 11-4

Comparación de las reacciones de anticuerpos primaria y secundaria

Propiedad	Reacción primaria	Reacción secundaria
Célula B que reacciona	Célula B virgen	Célula B de memoria
Período de atraso después de administrar antígeno	Por lo general 4-7 días	Por lo general 1-3 días
Tiempo para la reacción máxima	7-10 días	3-5 días
Magnitud de la reacción máxima de anticuerpo	Varía según sea el antígeno	Por lo regular 100 a 1 000 veces más alta que la reacción primaria
Isotipo producido	Predomina IgM pronto en la reacción	Predomina IgG
Antígenos	Dependiente e independiente del timo	Dependiente del timo
Afinidad de anticuerpo	Más baja	Más alta

❖ Este fenómeno es la piedra angular de la vacunación

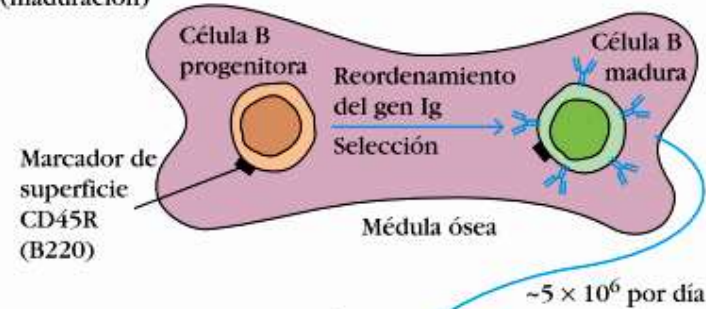


Compartimentación de la respuesta

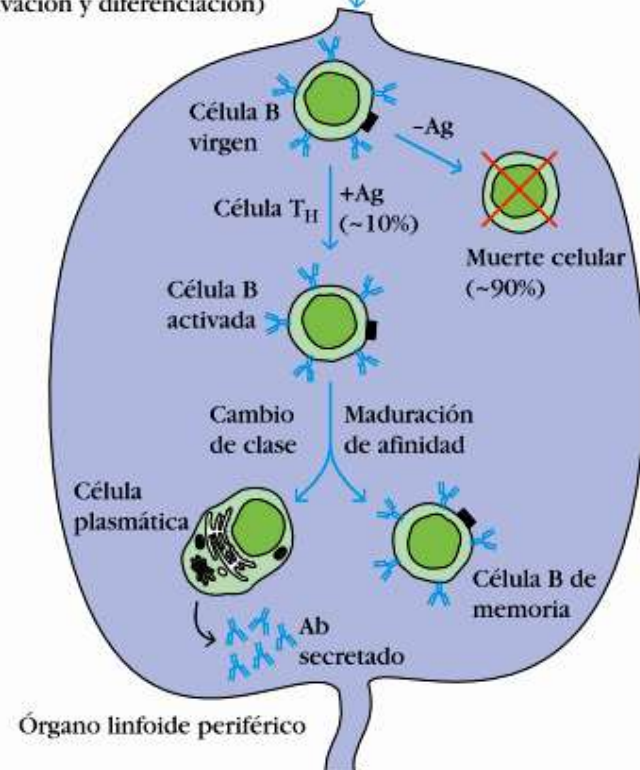
- ❖ Una vez que las células B abandonan la médula ósea, ocurren activación, proliferación y diferenciación en la periferia y se requiere antígeno
- ❖ La activación impulsada por antígeno y la selección clonal de células B vírgenes conducen a la generación de células plasmáticas y células B de memoria
- ❖ Cuando no existe activación inducida por antígeno, las células B vírgenes periféricas tienen vida corta y mueren en el transcurso de unas cuantas semanas por apoptosis



FASE INDEPENDIENTE DE ANTÍGENO (maduración)

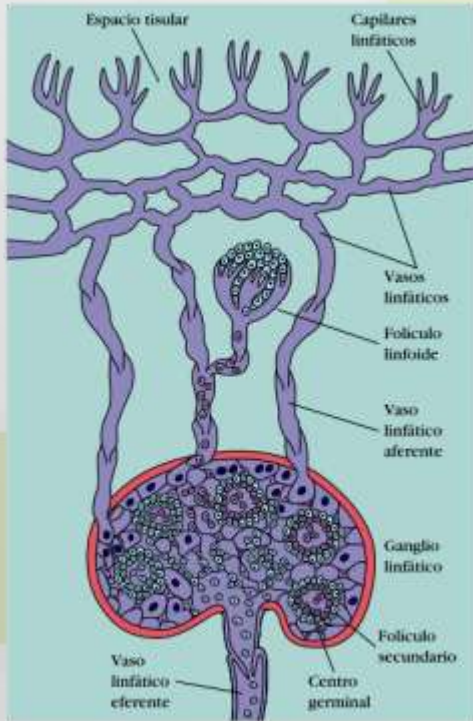
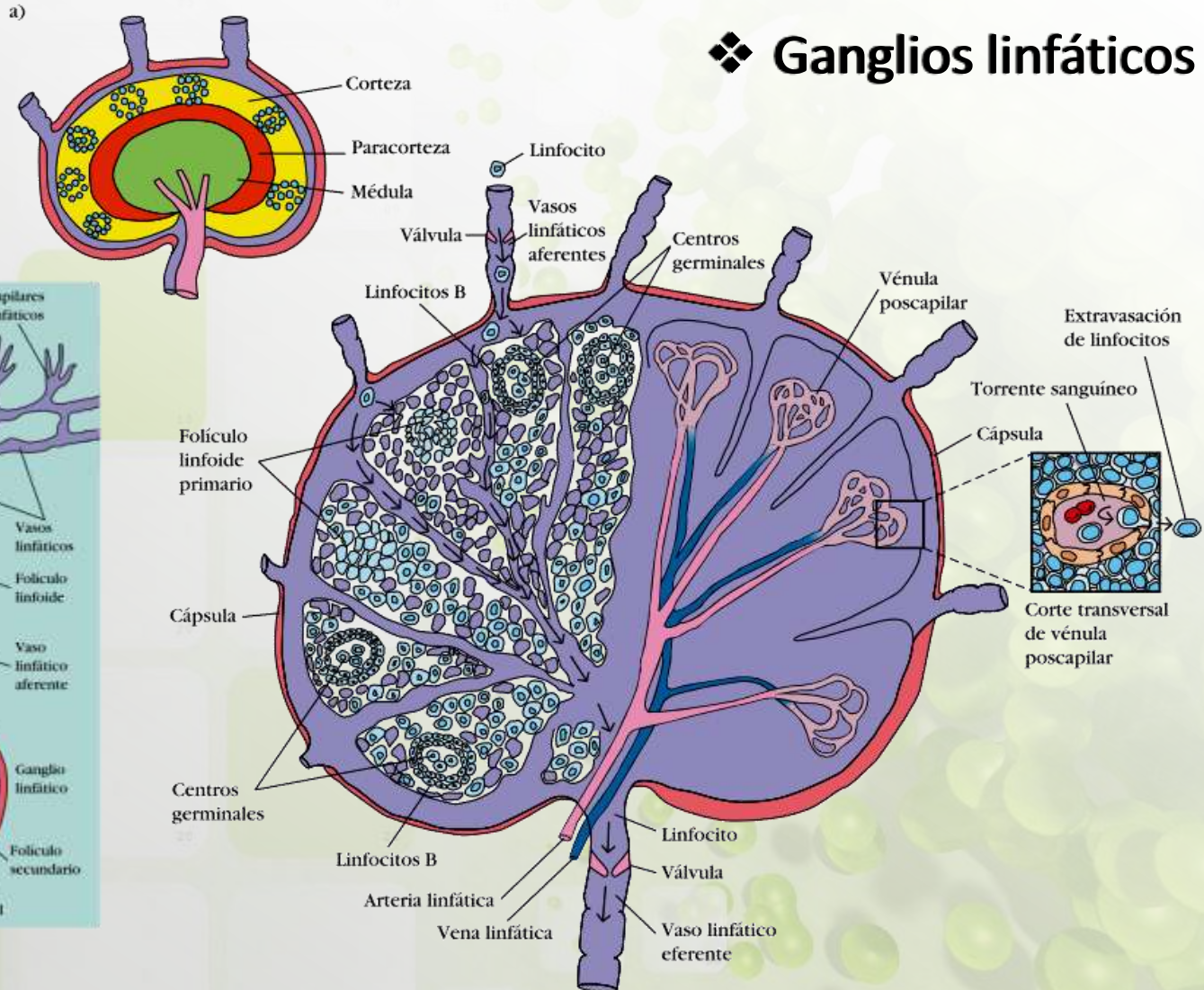


FASE DEPENDIENTE DE ANTÍGENO (activación y diferenciación)



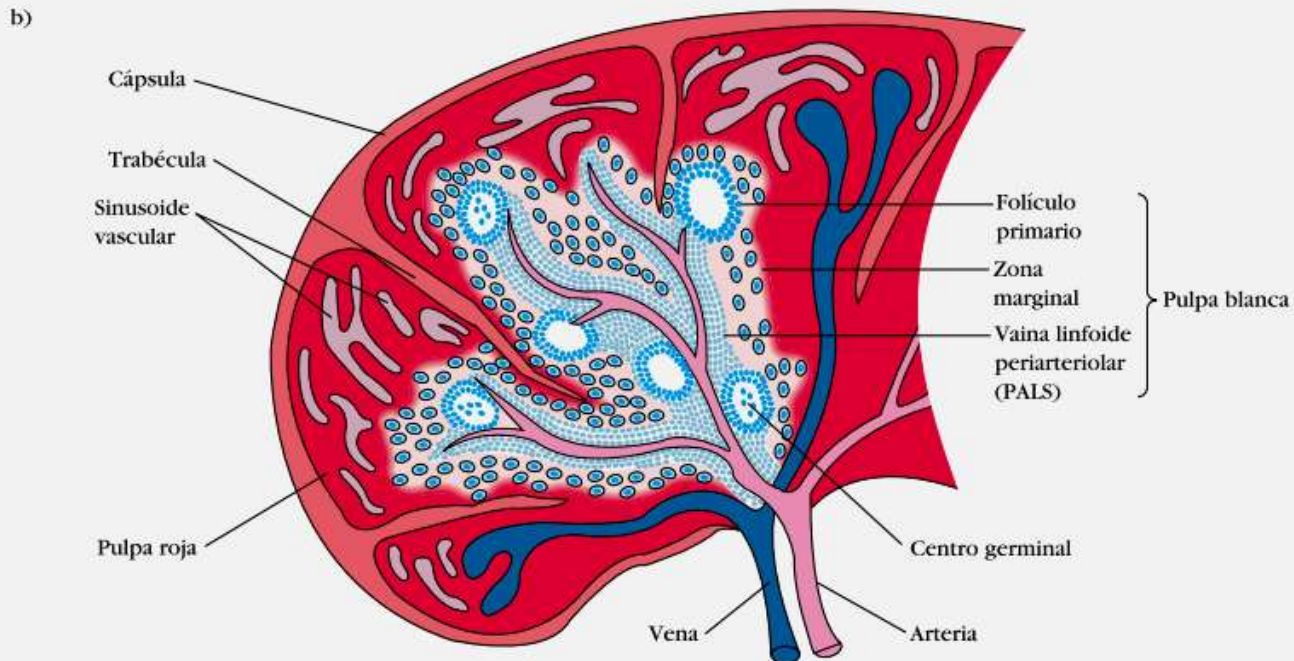
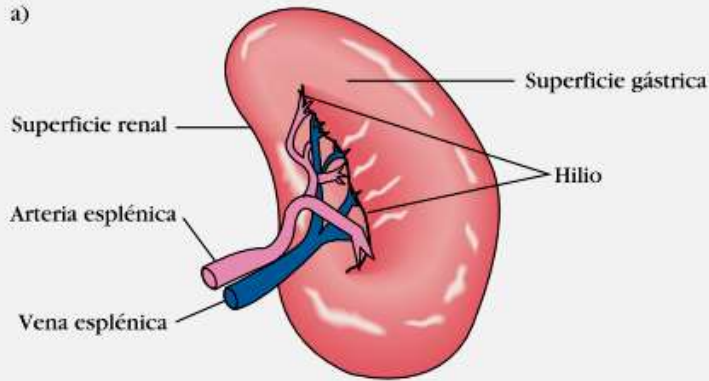
¡La periferia! ¿Cuál periferia?

❖ Ganglios linfáticos



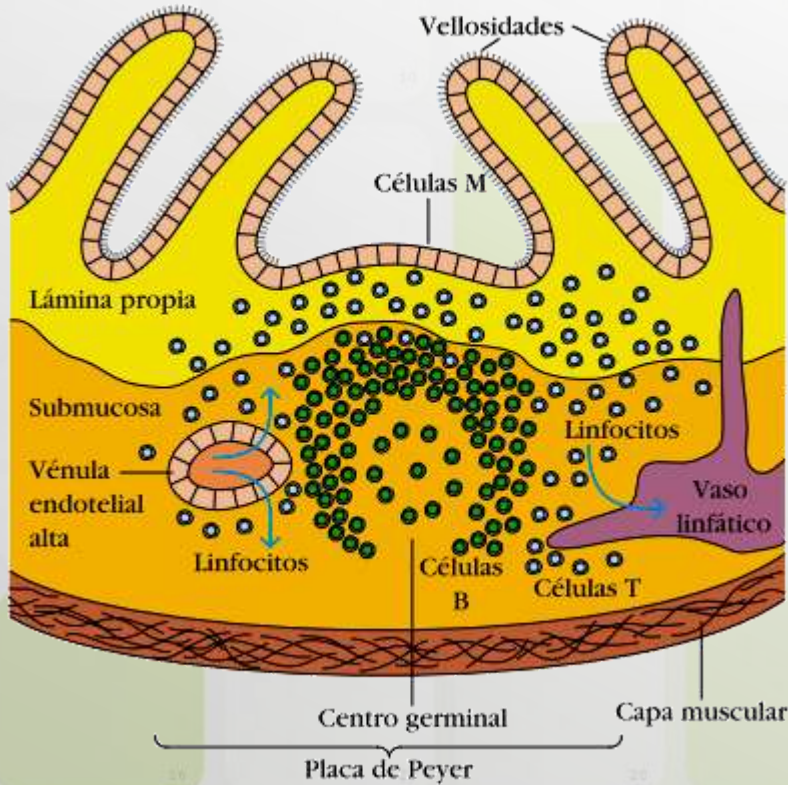
¡La periferia! ¿Cuál periferia?

❖ Bazo

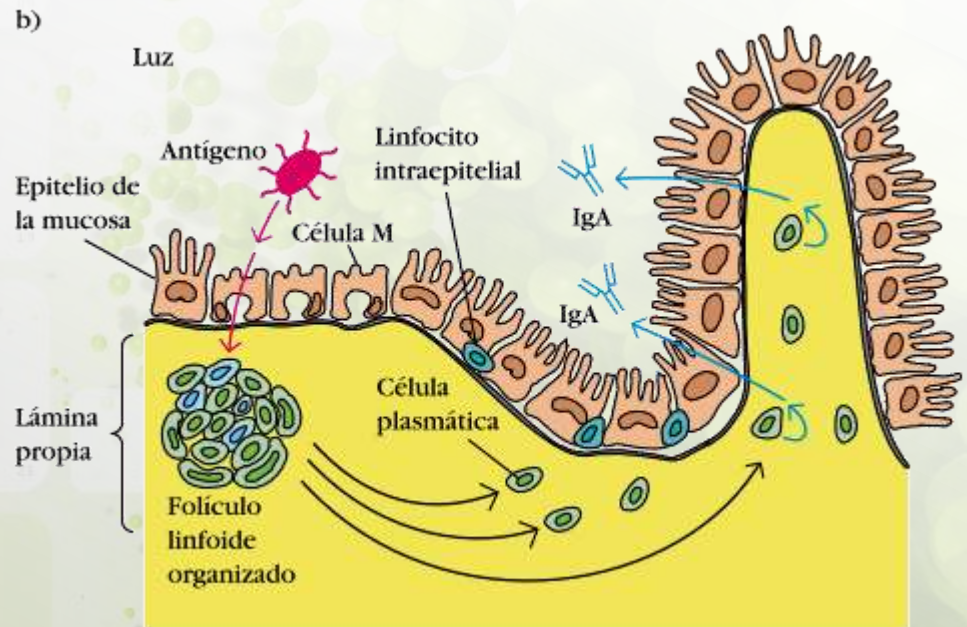


01
02
03
04
05
06
07
08
09
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40

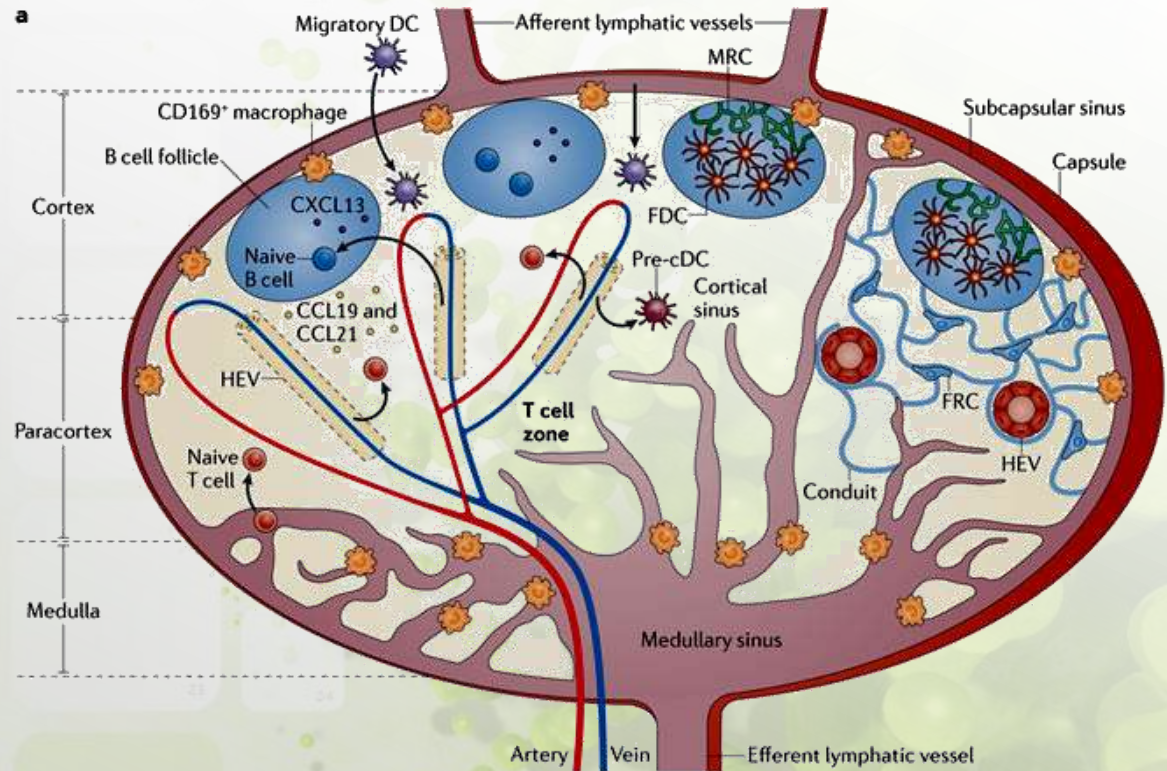
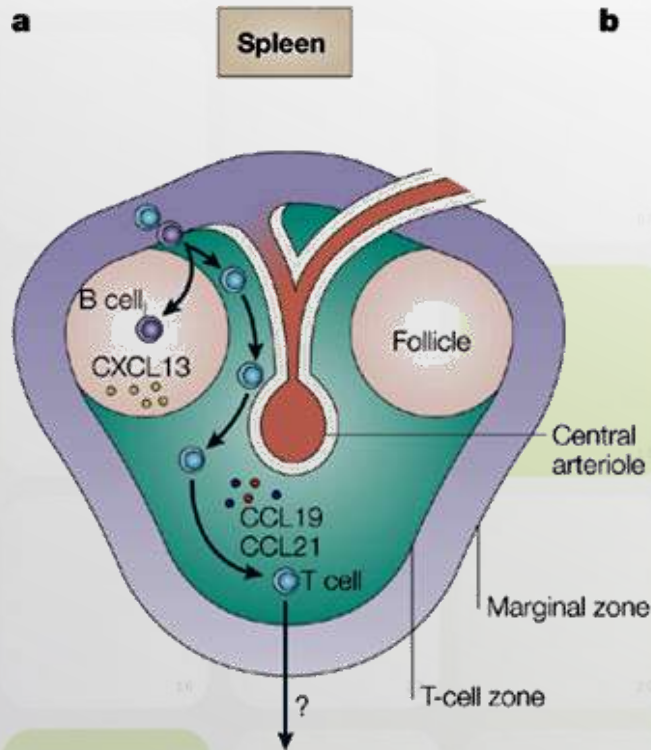
¡La periferia! ¿Cuál periferia?



❖ Placas de Peyer



¡Cada quien a su puesto!

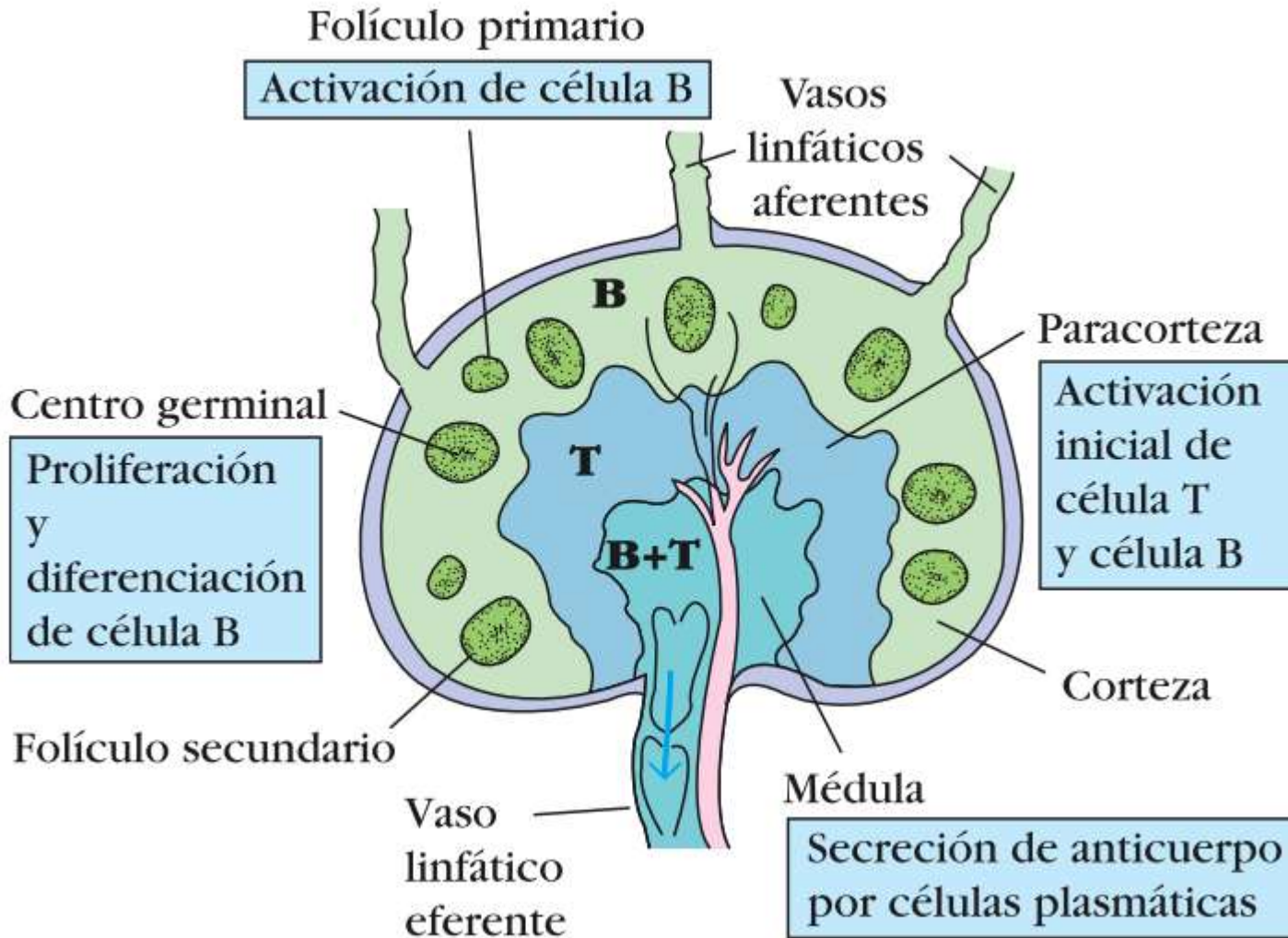


- ❖ Los receptores de homing son cruciales en el alojamiento de las células B, principalmente las combinaciones CXCR5 y CXCL13 y también CCR7 y CCL19/CCL21

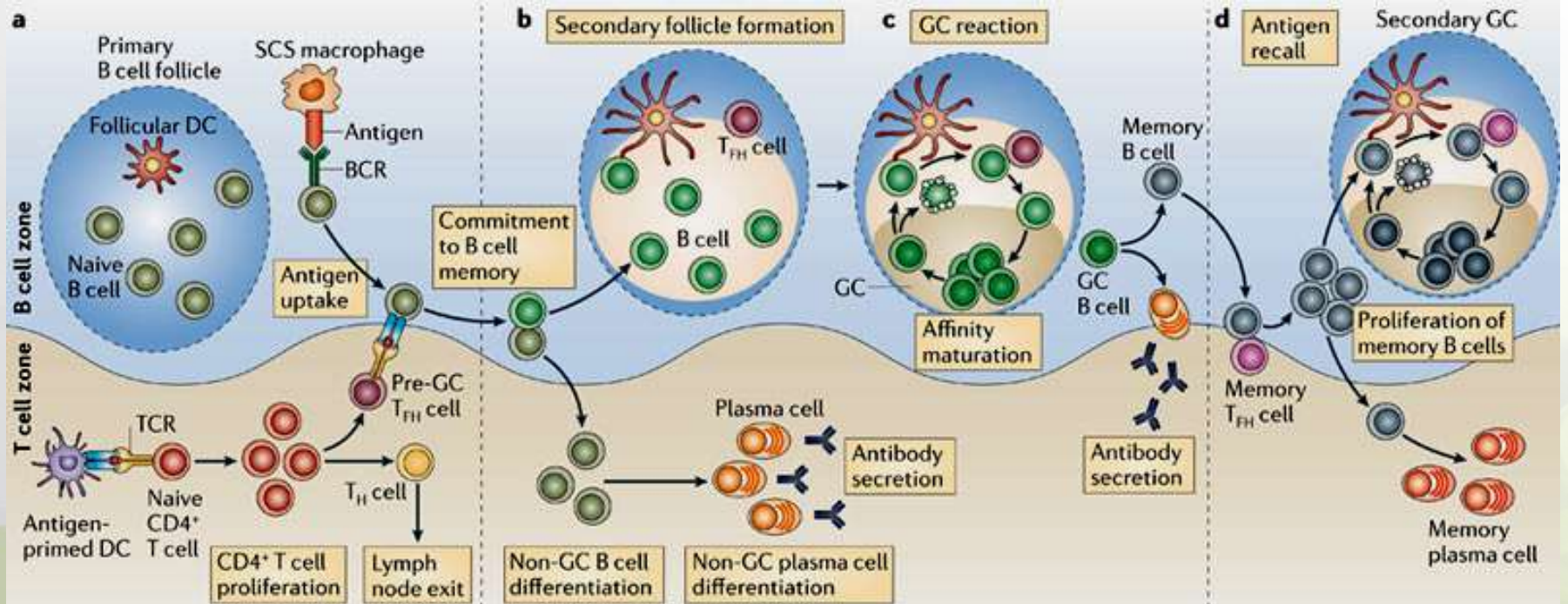
Nature Reviews Immunology 12, 762-773 (November 2012)

Nature Reviews Immunology 5, 606-616 (August 2005)

¿Aja y ahora que hacemos?

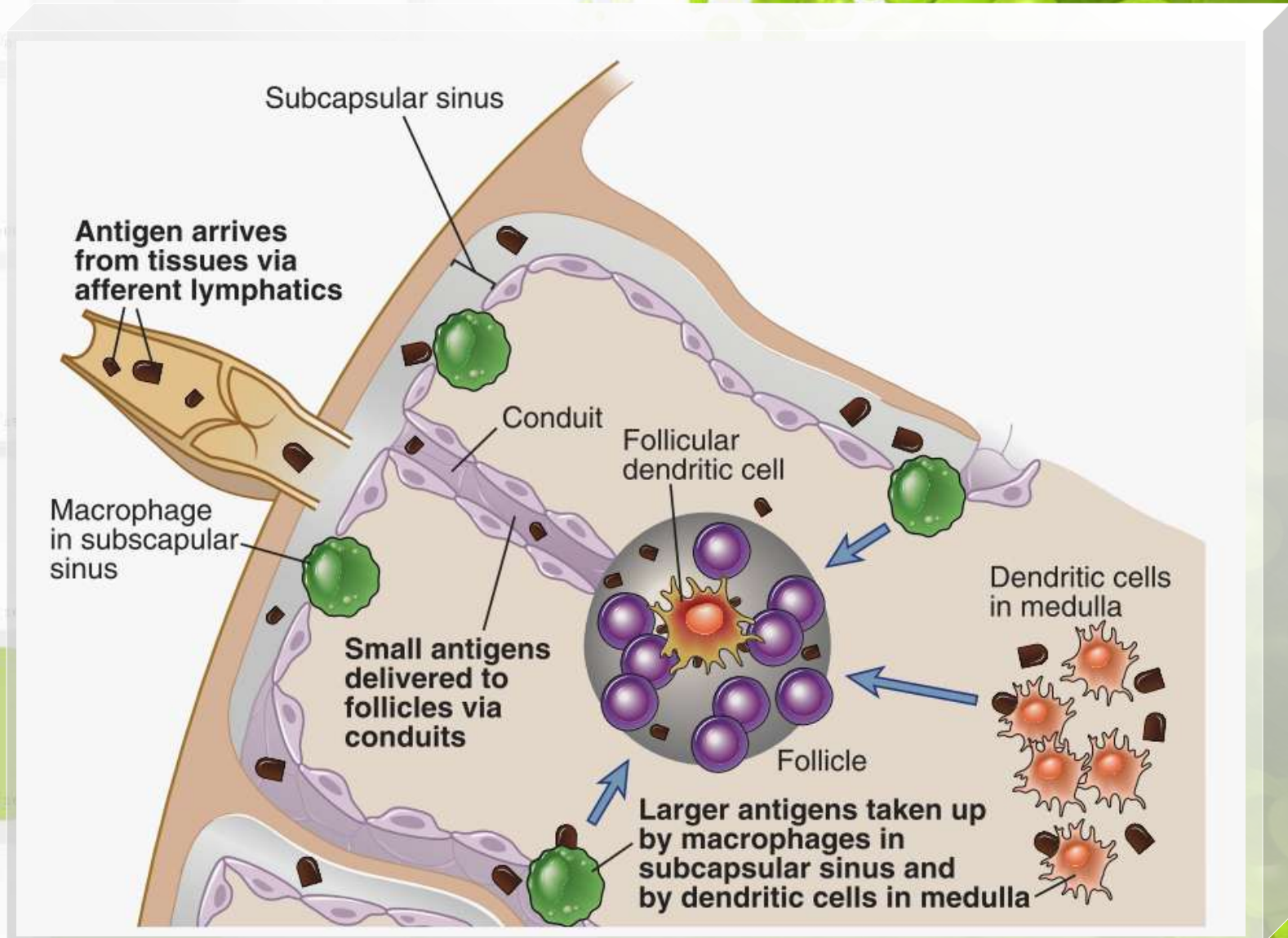


¡La respuesta humoral en resumen!



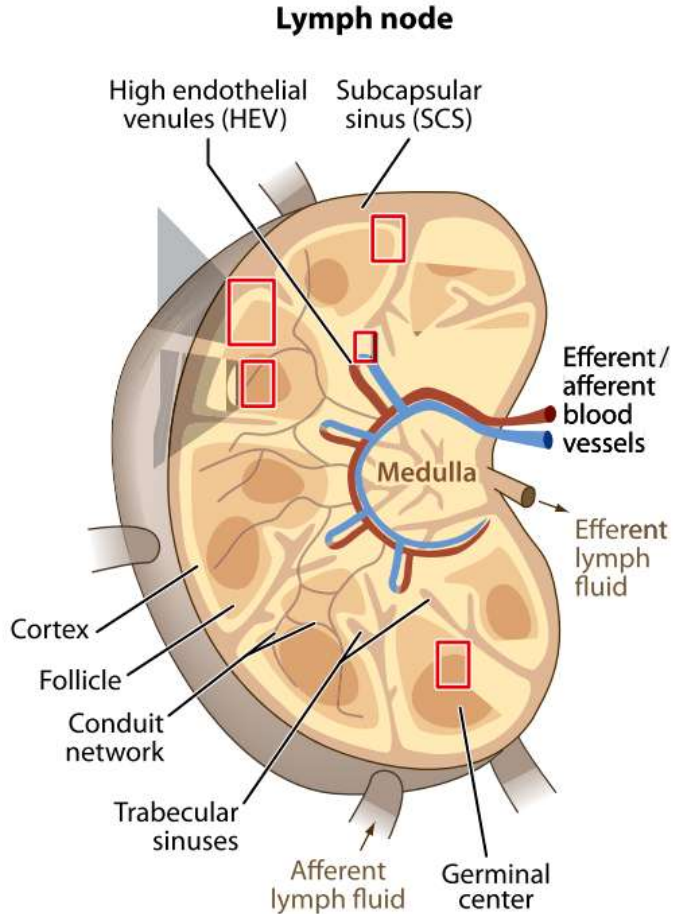
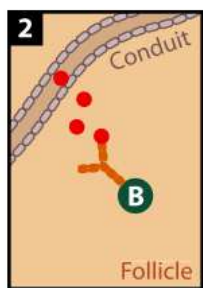
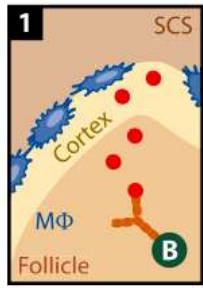
Nature Reviews | Immunology

¡La captura del antígeno!

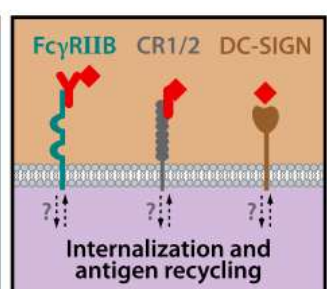
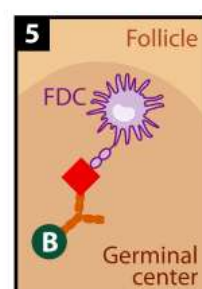
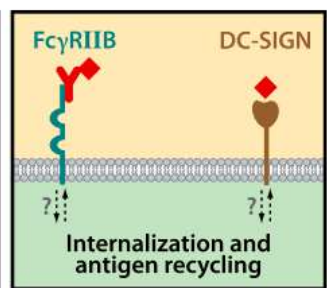
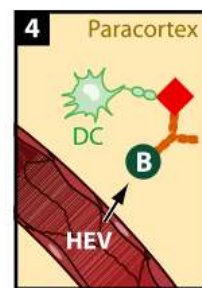
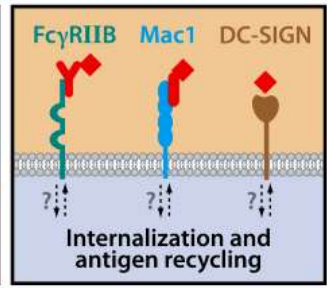
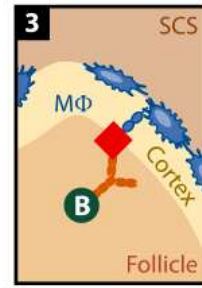


¡La captura del antígeno!

Small antigen
(<70 kDa)

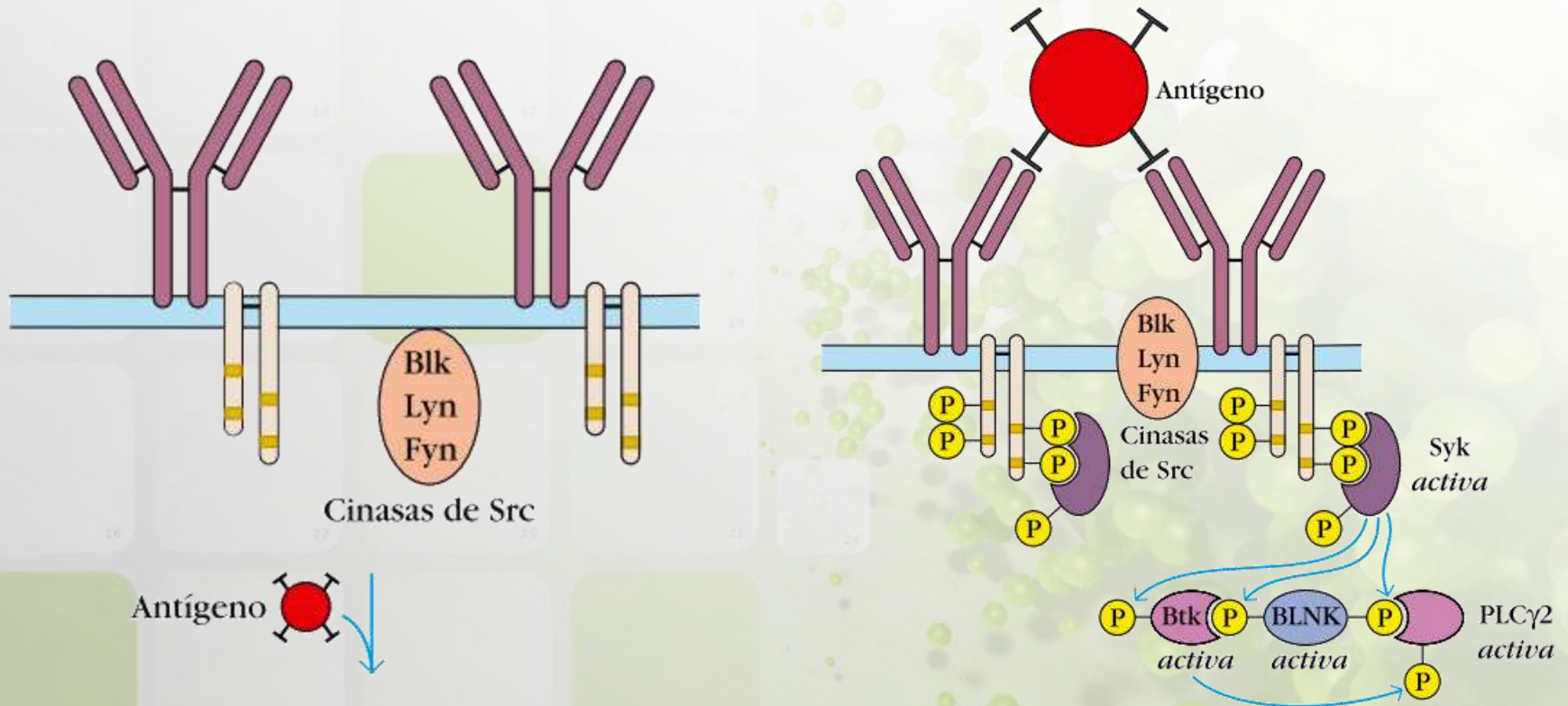


Larger antigen
(>70 kDa)



Cell surface receptors

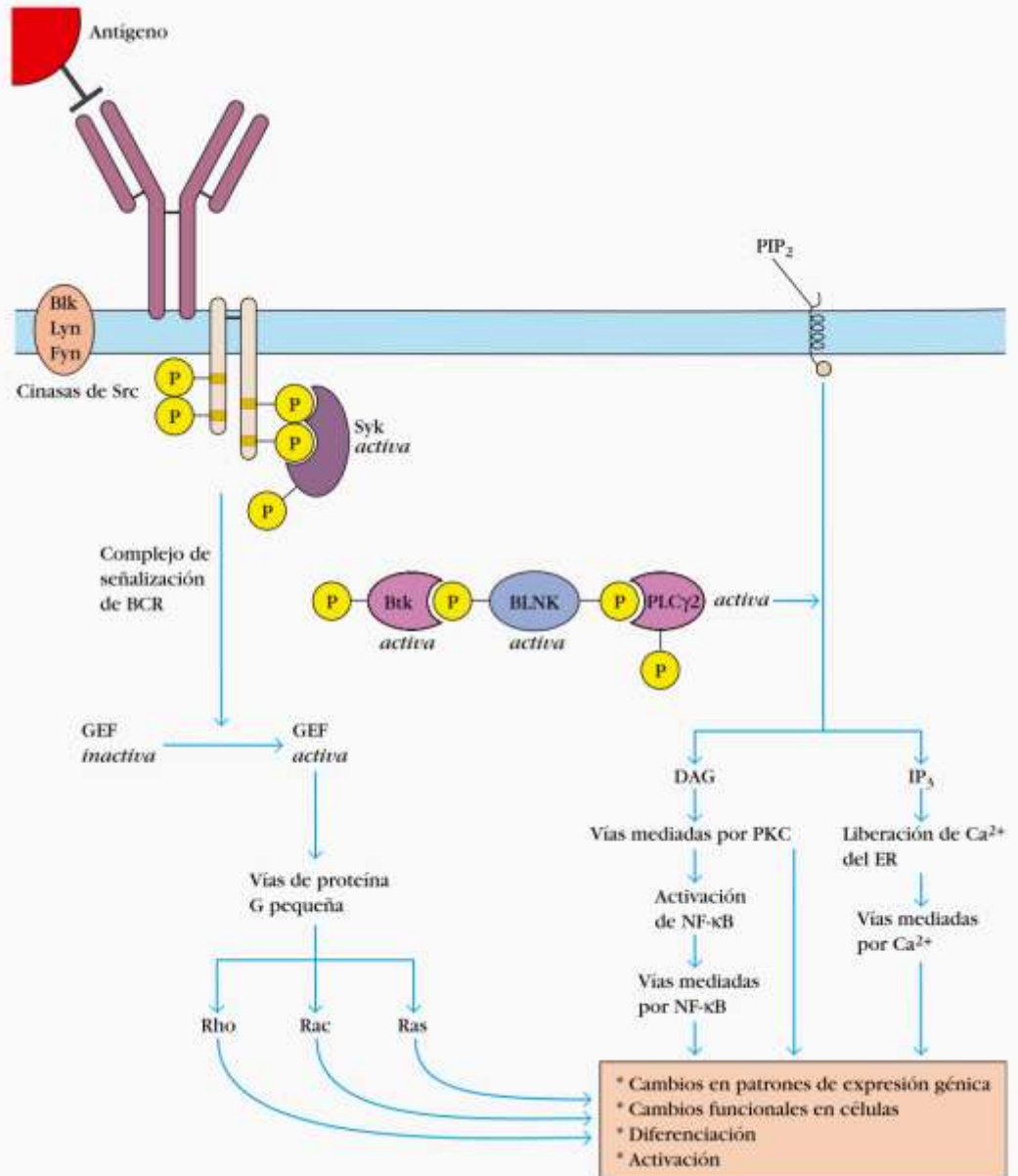
¡Consecuencias del entrecruzamiento con el BCR!



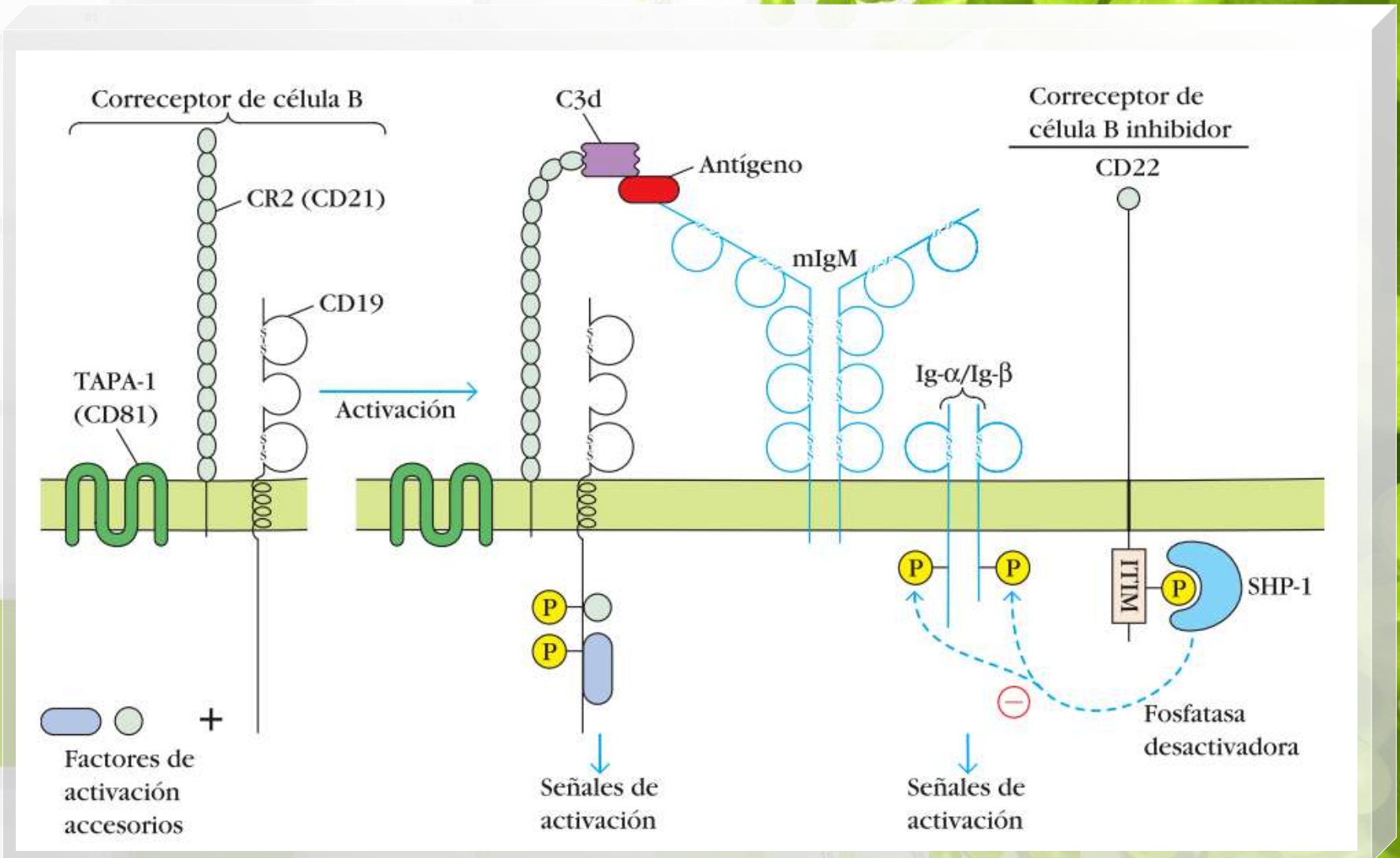
¡Consecuencias del entrecruzamiento con el BCR!

❖ IDP: agammaglobulinemia ligada al sexo o enfermedad de Bruton

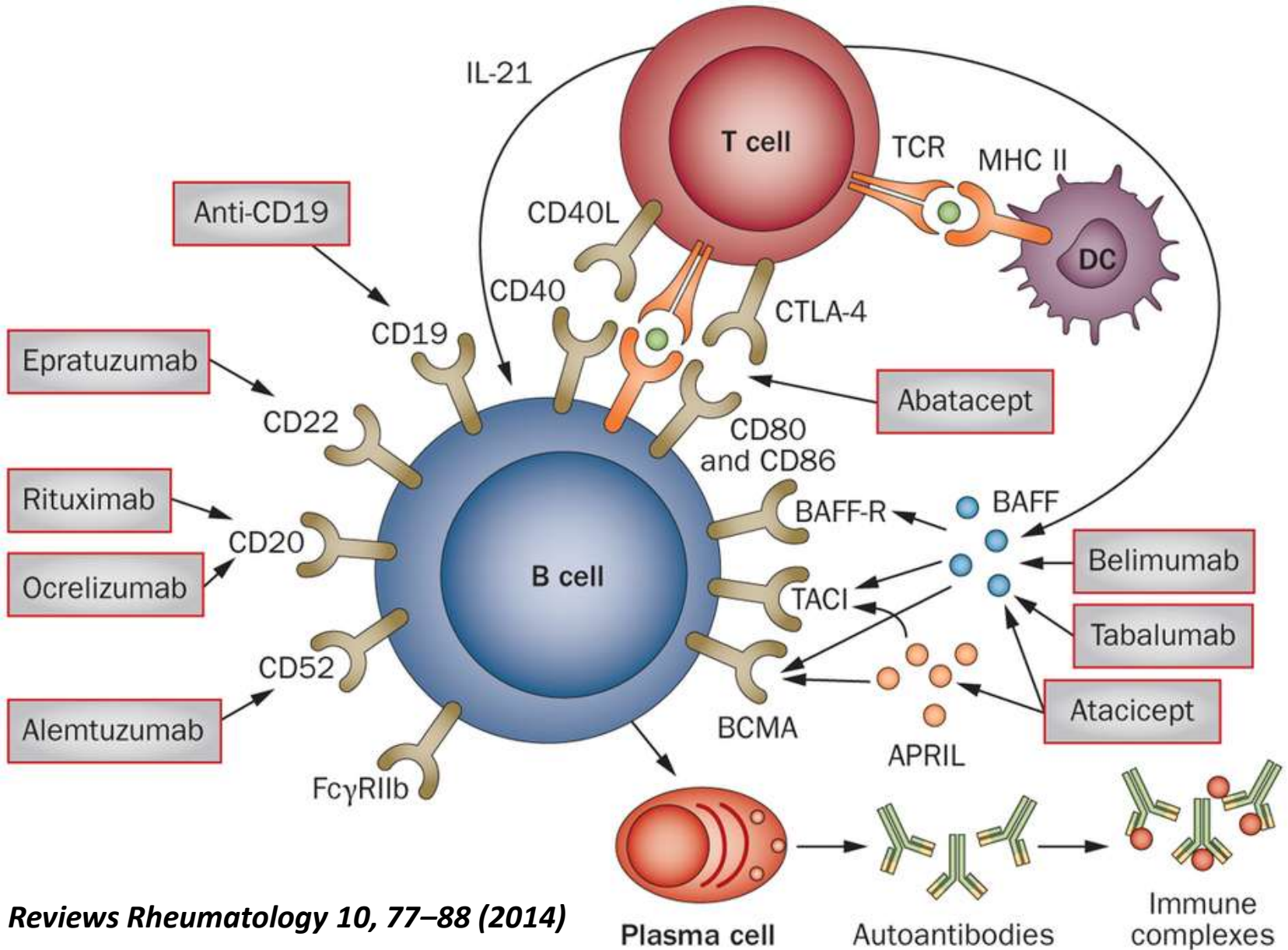
❖ La mutación de Btk genera una falla en la transducción de señales y una inhibición del desarrollo de la célula B en los órganos generadores



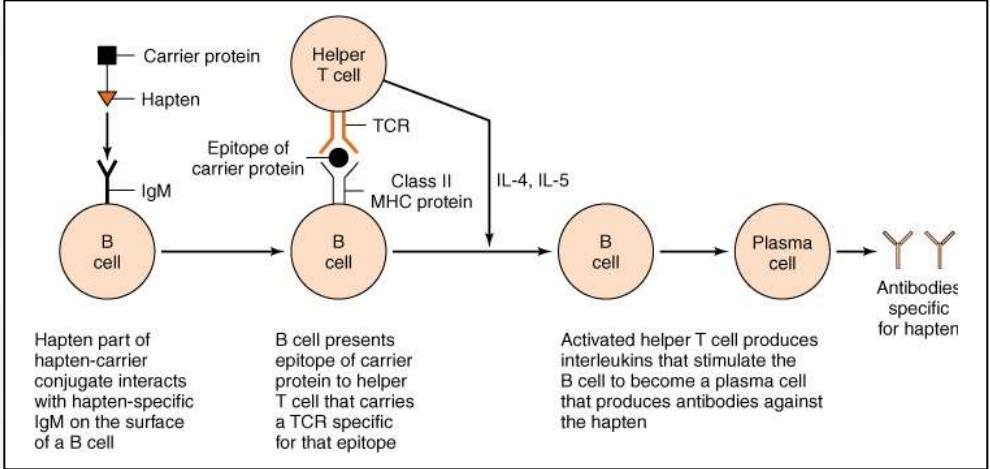
¡Participación de los correceptores!



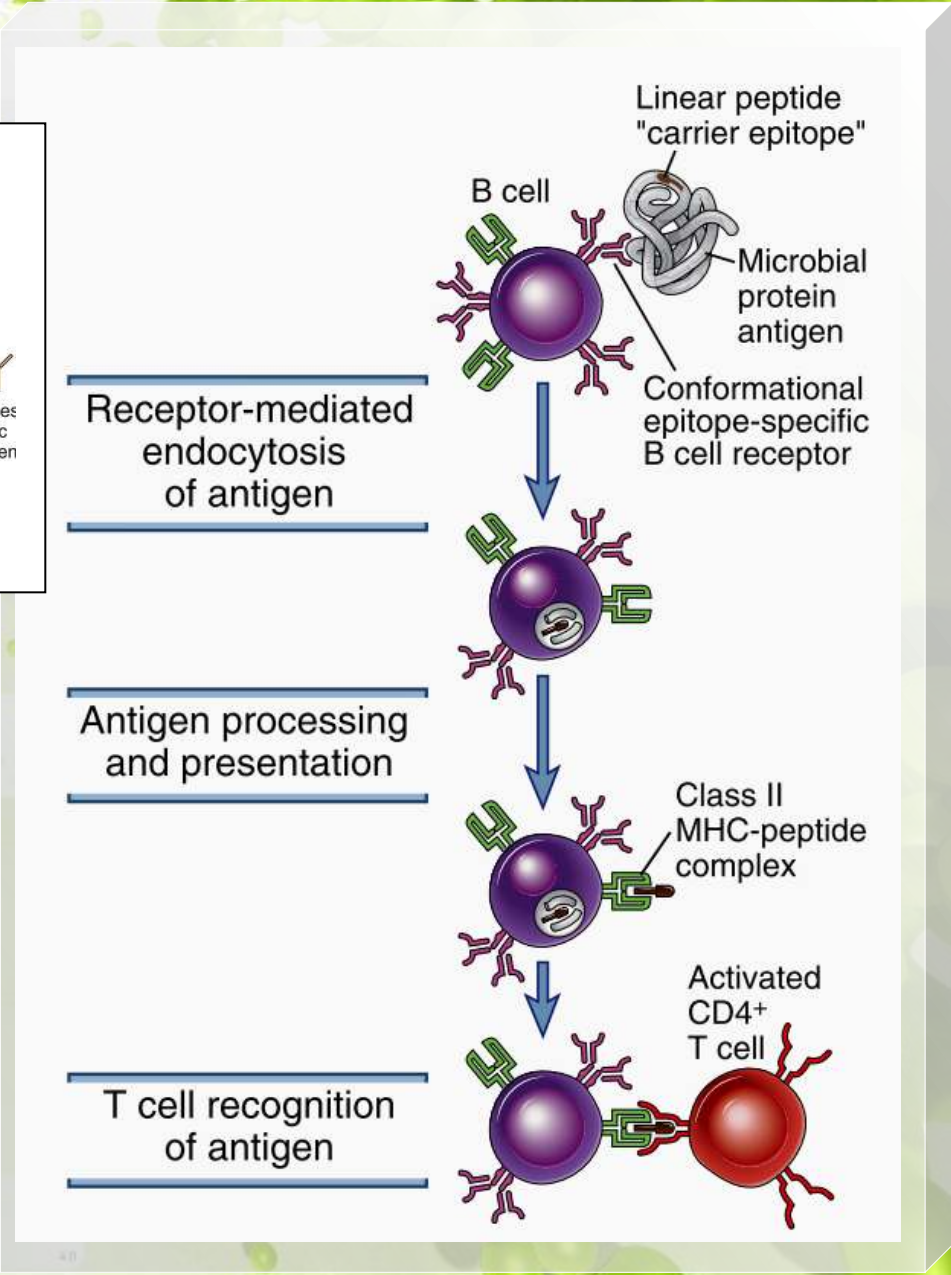
¡Amplio espectro de posibilidades de intervenciones terapéuticas!



¡Aja, ya te reconocí, ahora te voy a presentar a los demás!



- ❖ La respuesta se genera contra dos epítipes diferentes del mismo antígeno
- ❖ La célula B responde contra determinantes tridimensionales, mientras que la célula T responde contra determinantes lineares
- ❖ Ofrece la posibilidad de generar respuestas de anticuerpos “sólidas” a antígenos no proteicos



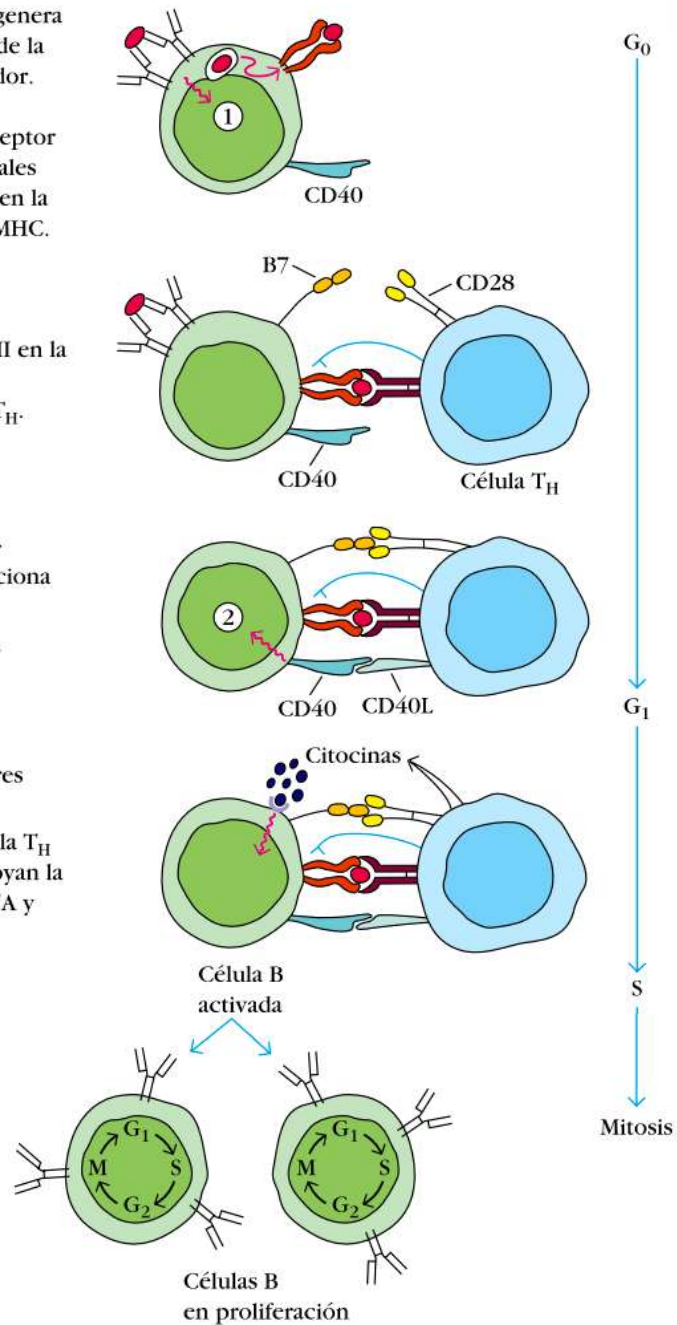
¡La AYUDAITA!

a) El antígeno enlaza en forma cruzada mIg y genera la señal ①, que conduce a un incremento de la expresión de MHC clase II y B7 coestimulador. El complejo de antígeno y anticuerpo se internaliza por endocitosis mediada por receptor y se degrada en péptidos, algunos de los cuales son unidos por MHC clase II y presentados en la membrana como complejos de péptidos y MHC.

b) La célula T_H reconoce antígeno-MHC clase II en la membrana de la célula B. Esta señal coestimuladora adicional activa las células T_H .

c) 1. La célula T_H comienza a expresar CD40L.
2. La interacción de CD40 y CD40L proporciona la señal ②.
3. Las interacciones B7-CD28 proporcionan coestimulación a la célula T_H .

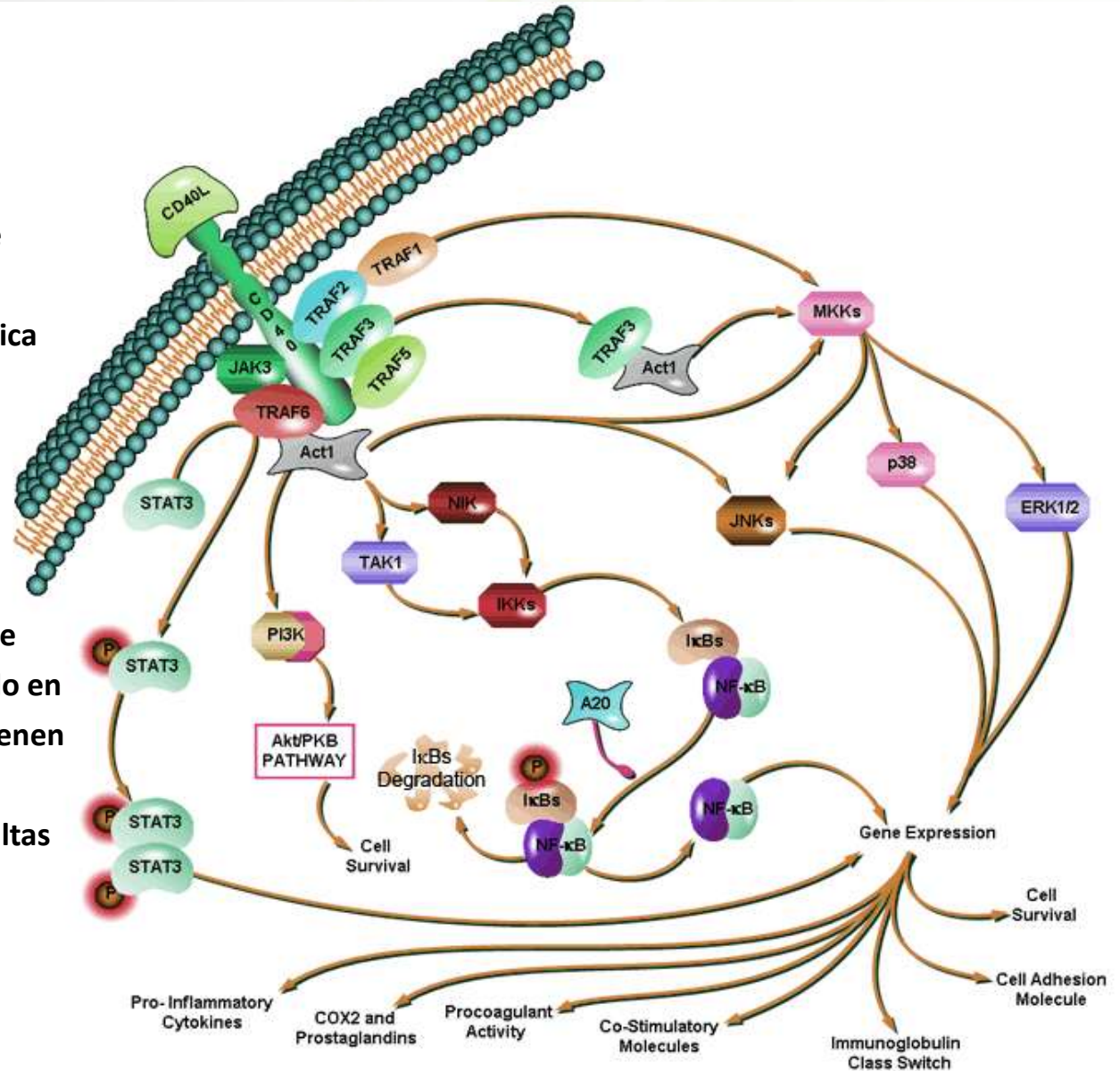
d) 1. La célula B comienza a expresar receptores para diversas citocinas.
2. La unión de citocinas liberadas de la célula T_H en una forma dirigida envía señales que apoyan la progresión de la célula B a la síntesis de DNA y la diferenciación.



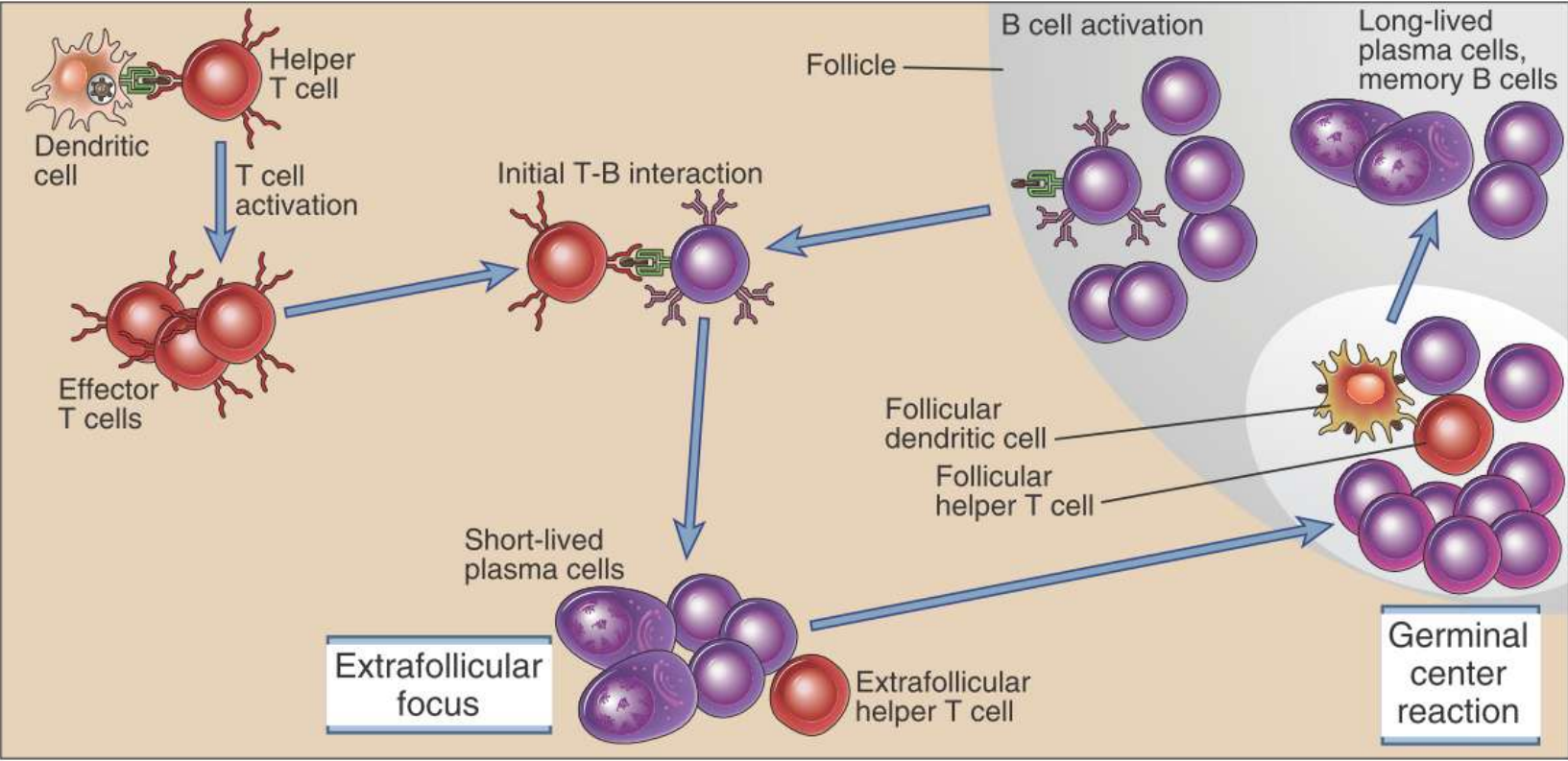
¡CD40/CD40L!

❖ IDP: síndrome de hiper-IgM por deficiencia genética del ligando CD40

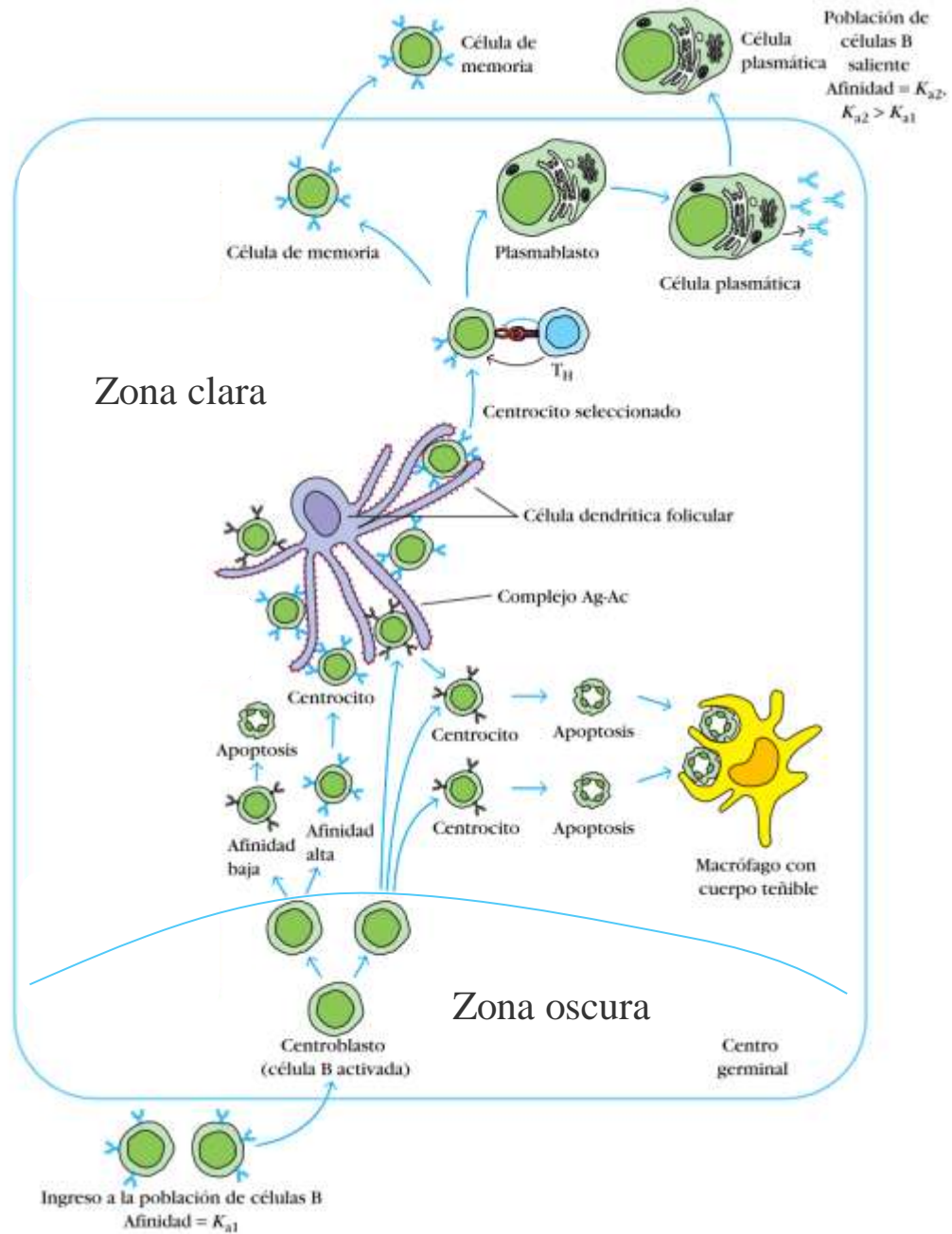
❖ El cambio de clase está muy reducido en los afectados y tienen concentraciones anormalmente altas de IgM en el plasma



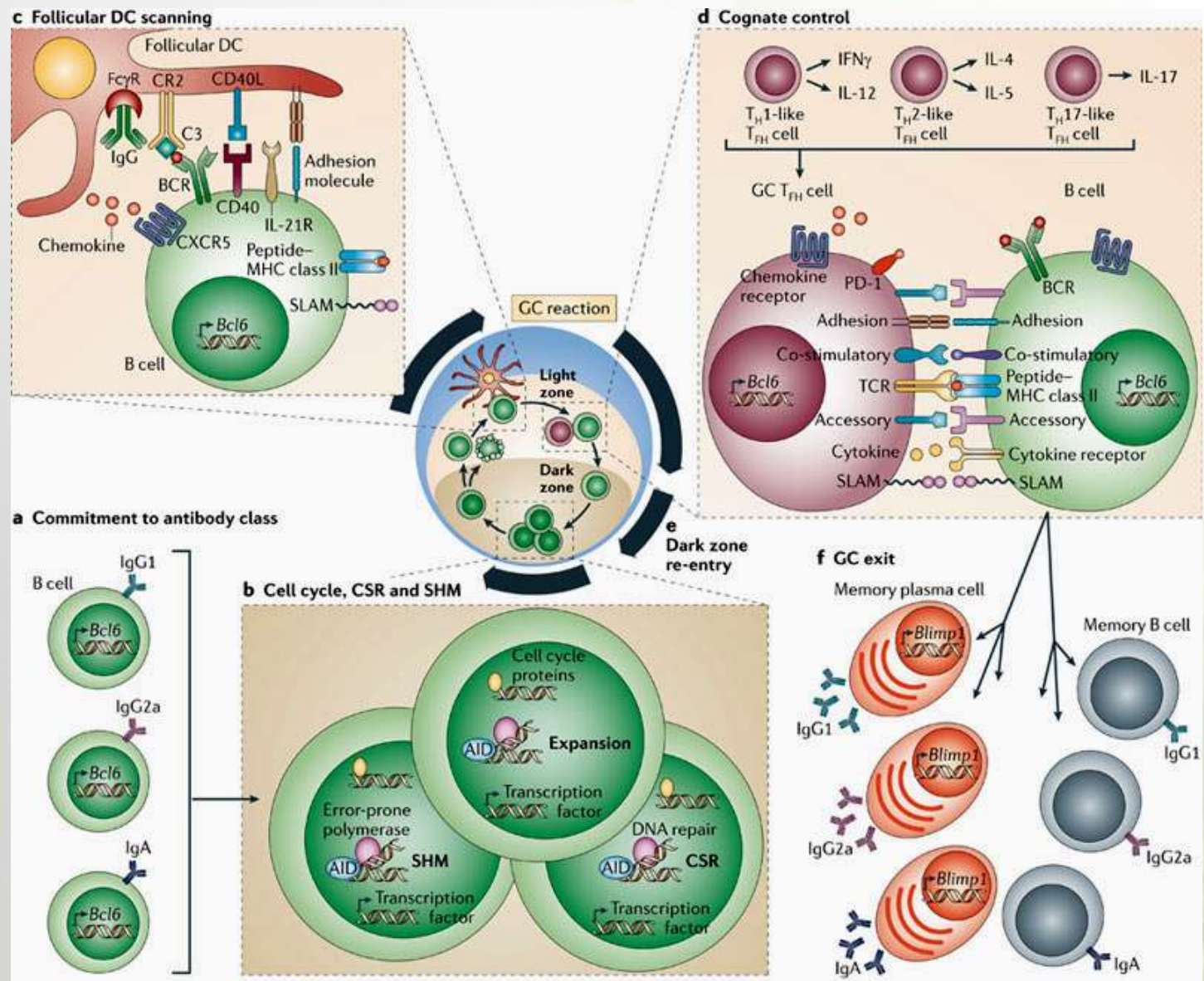
¿Por donde vamos?



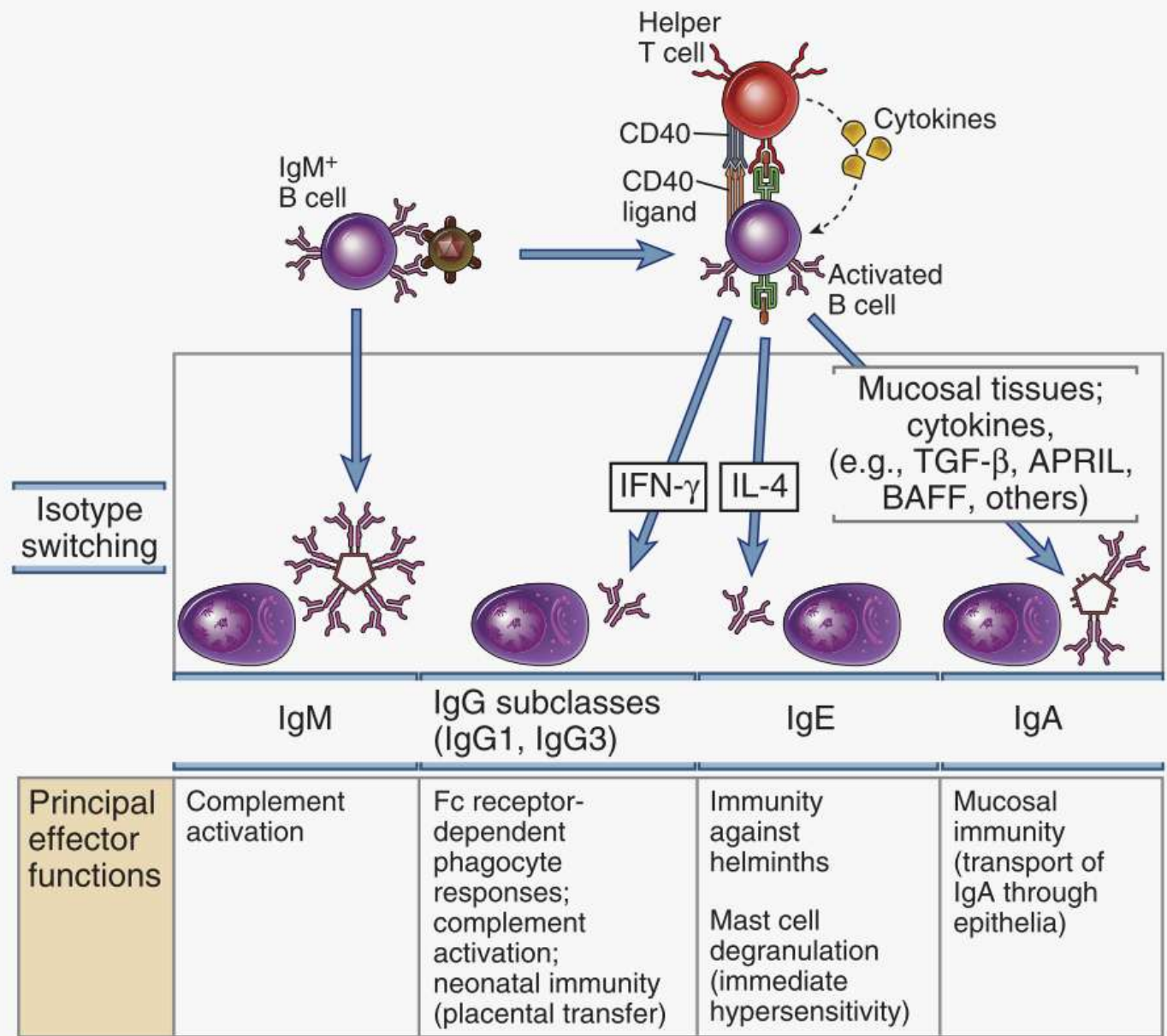
¡Centro germinal!



¿La reacción en el centro germinal!



¡Cambio de isotipo de la cadena pesada!

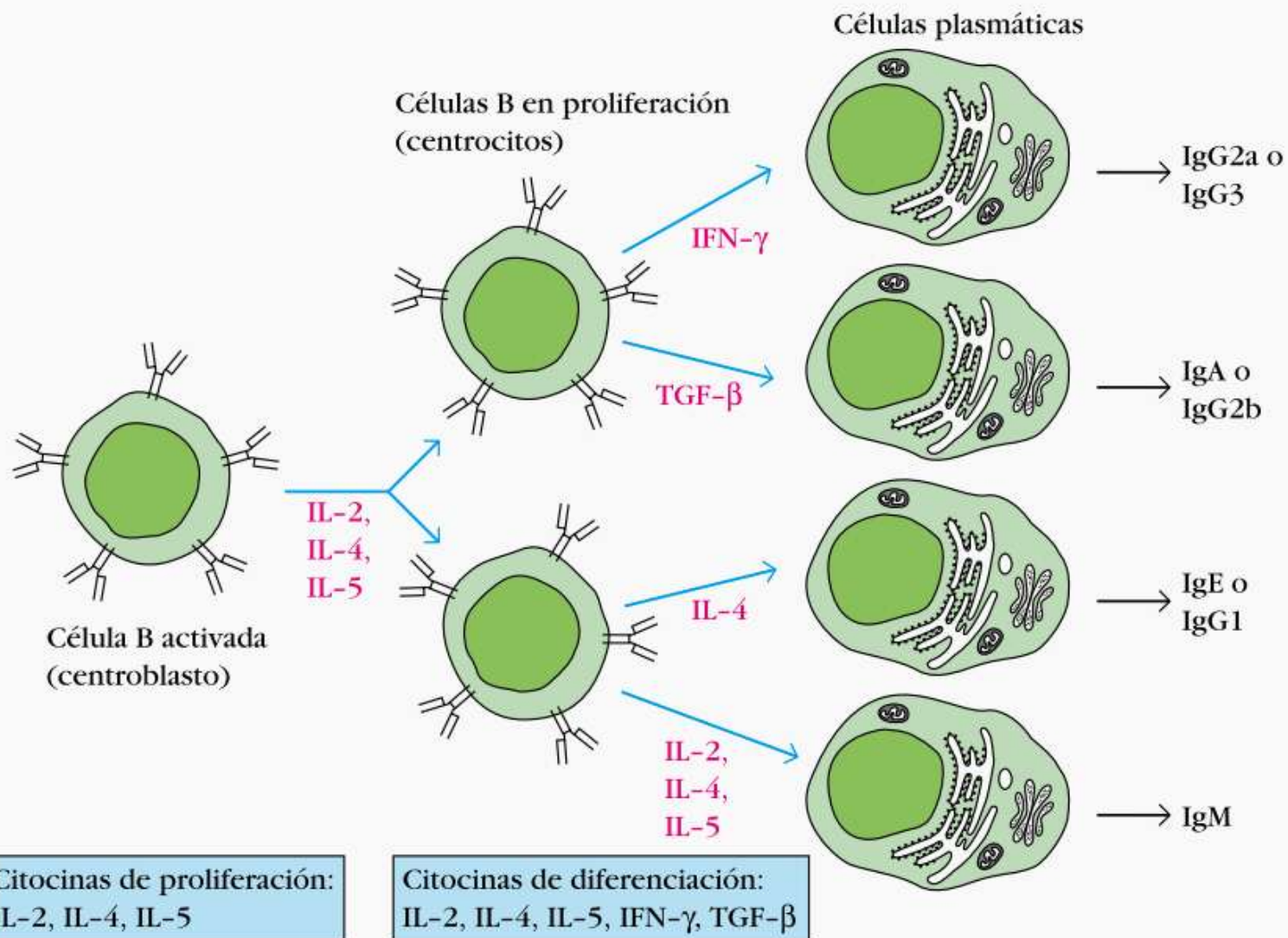


Influencia de las citocinas en el cambio de isotipo de la cadena pesada!

Función de las citocinas en la regulación de la expresión de clases de anticuerpo

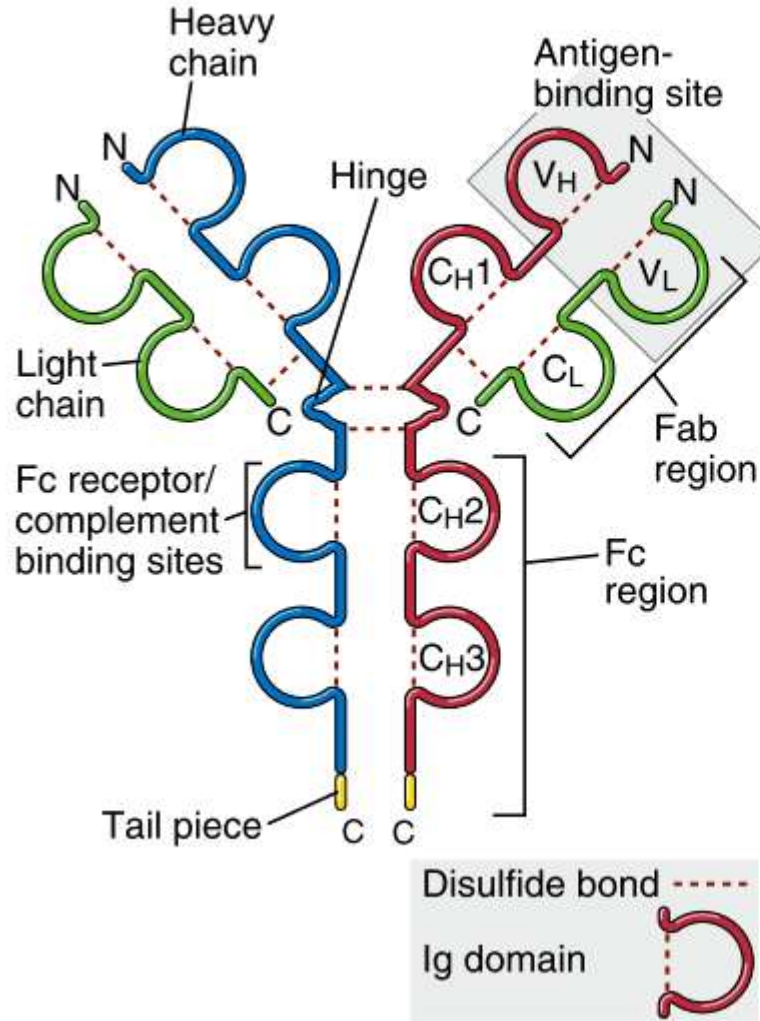
Citocinas	IgM	IgG3	IgG1	IgG2b	IgG2a	IgE	IgA
IL-4	Inhíbe	Inhíbe	Induce		Inhíbe	Induce	
IL-5							Aumenta la producción
IFN- γ	Inhíbe	Induce	Inhíbe		Induce	Inhíbe	
TGF- β	Inhíbe	Inhíbe		Induce			Induce

¡El switching condicionado por el microambiente!

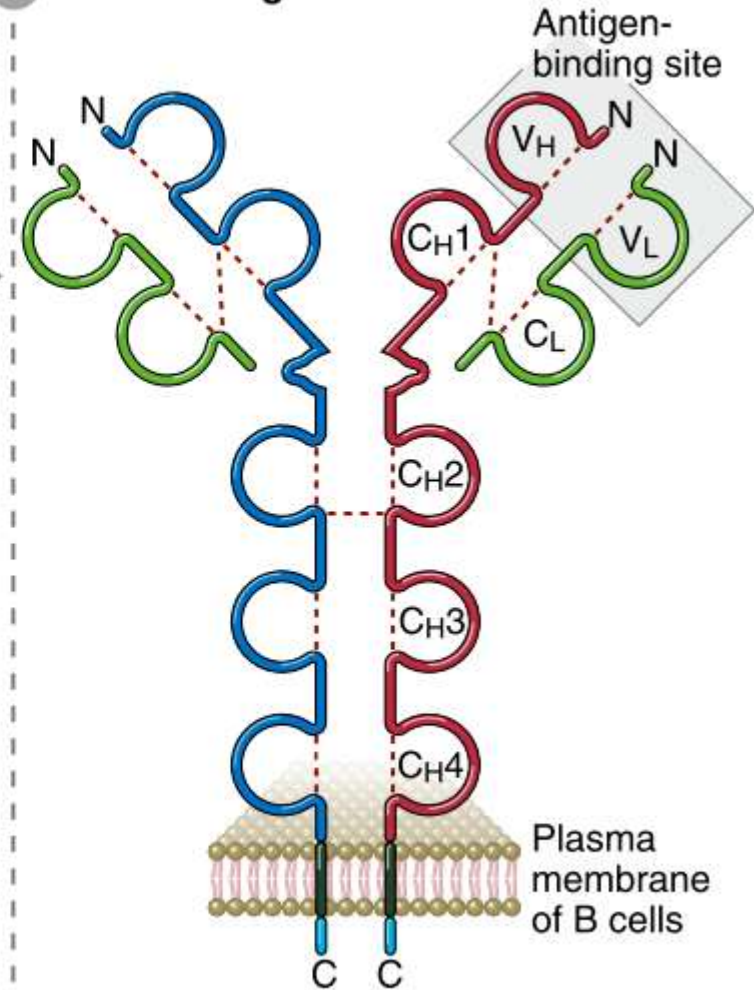


¡Pero entendamos de quien estamos hablando!

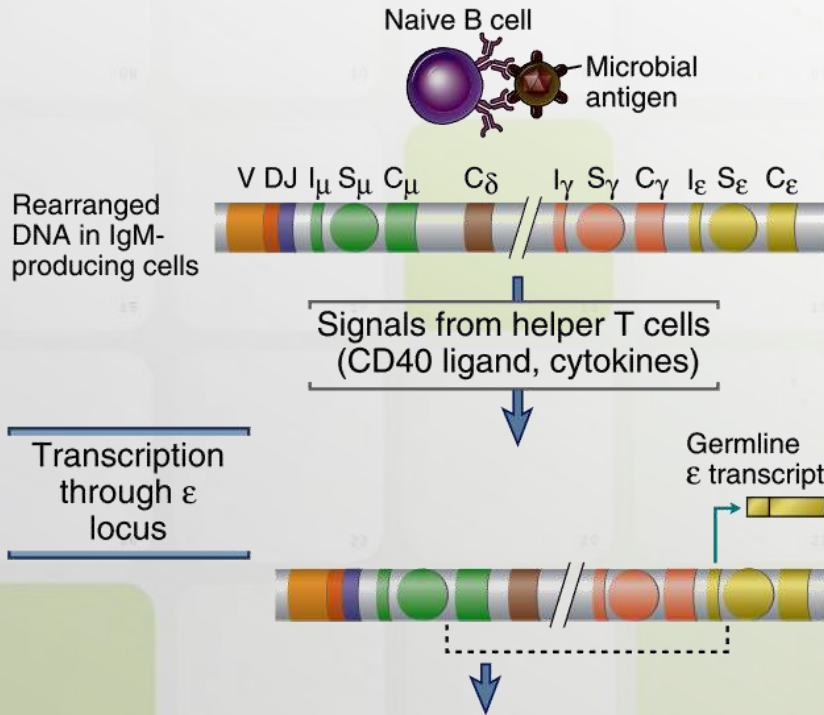
A Secreted IgG



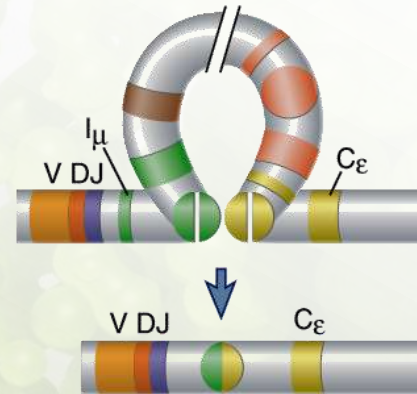
B Membrane IgM



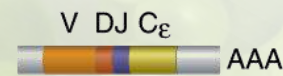
¡Cambio de isotipo de la cadena pesada!



Recombination of S_μ with S_ε; deletion of intervening C genes



Transcription; RNA splicing



ϵ mRNA

Translation

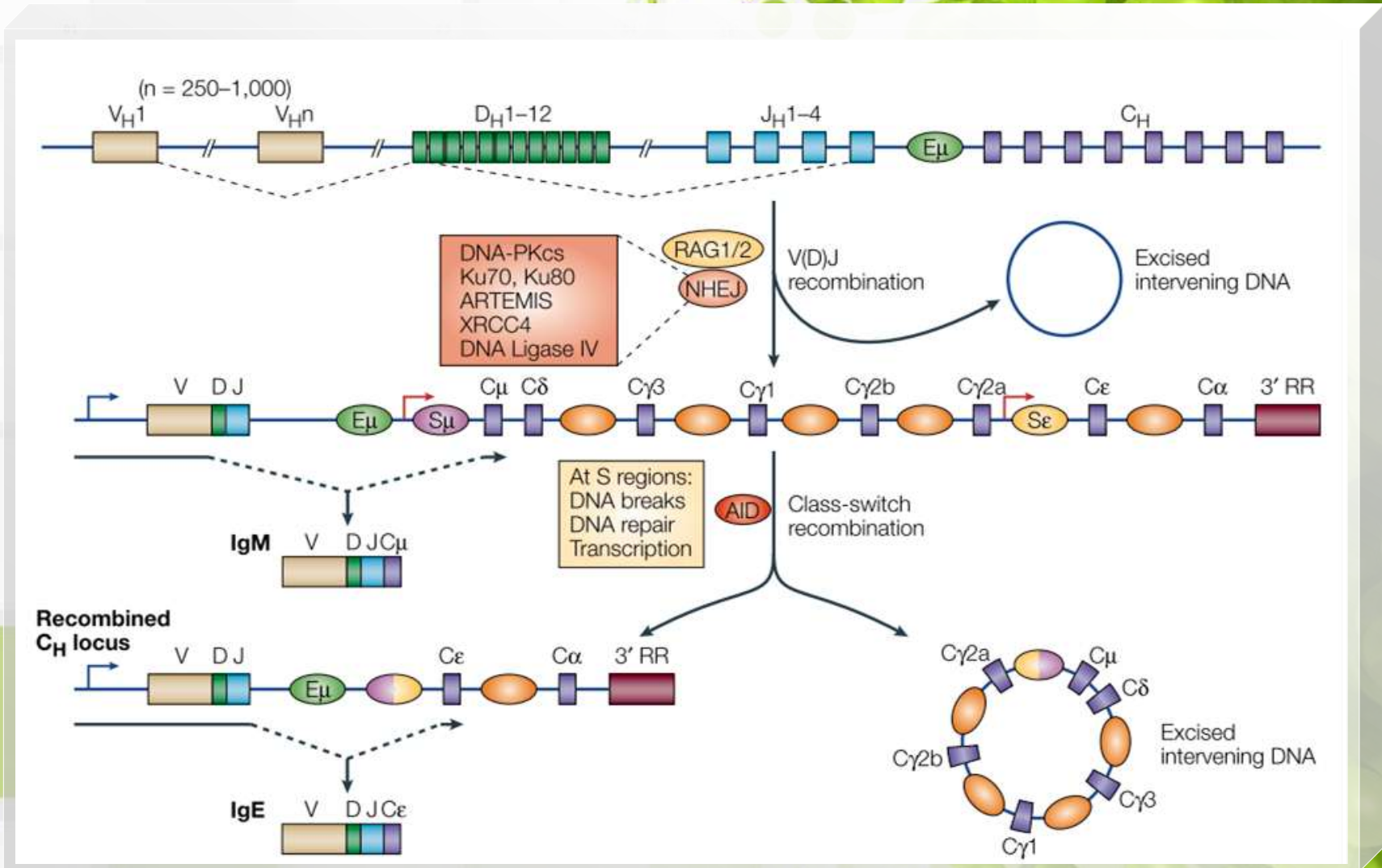


ϵ protein

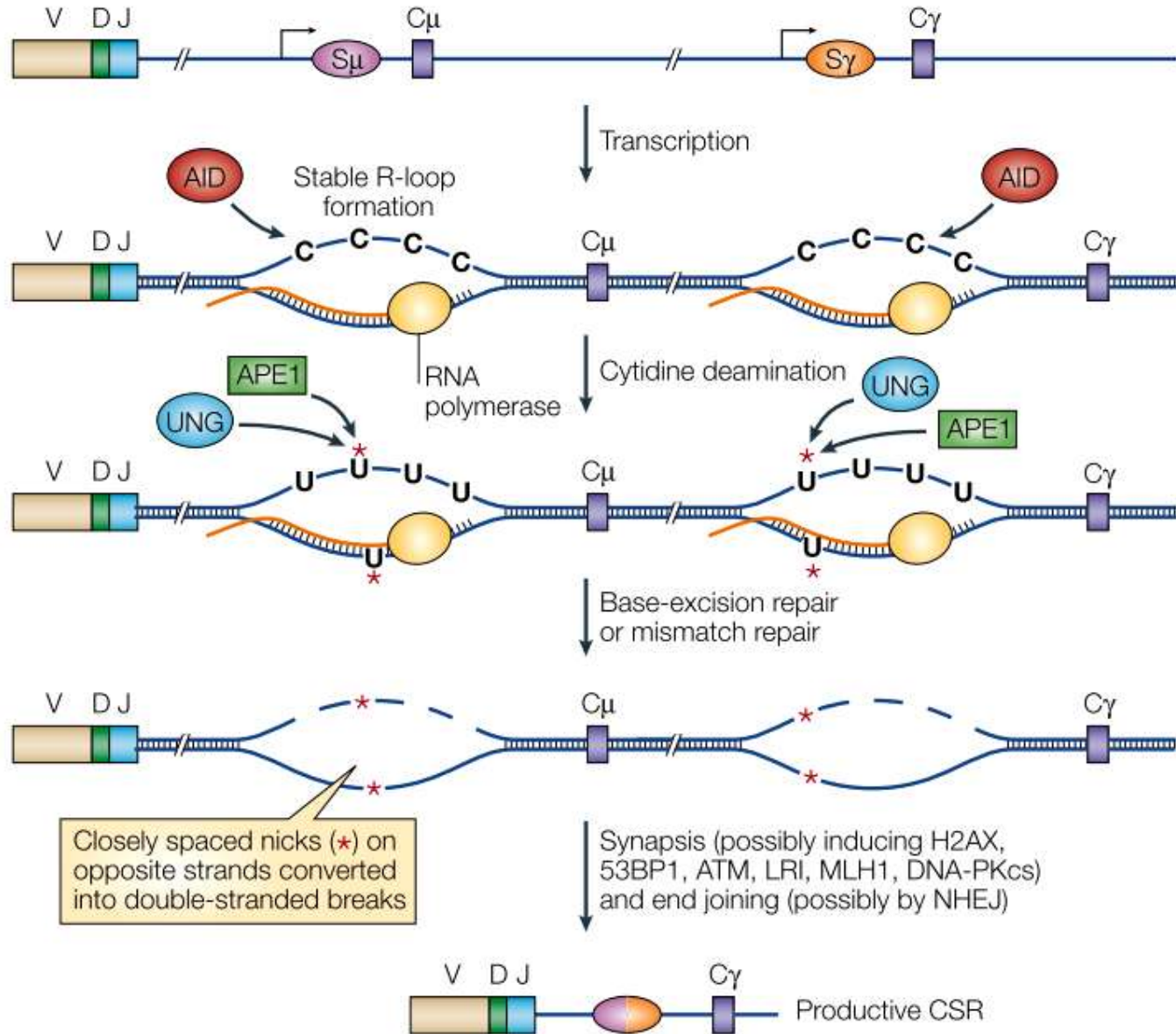


IgE

¡Cambio de isotipo EN CONTEXTO!



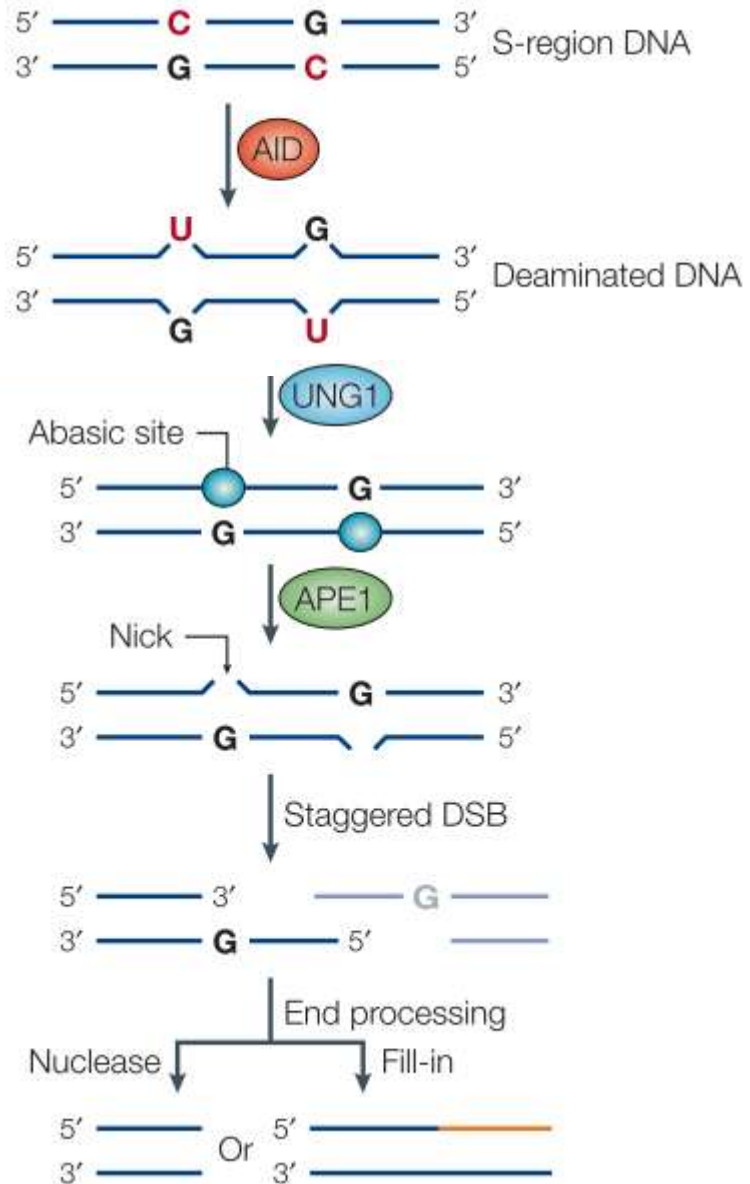
iCon mas detalle!



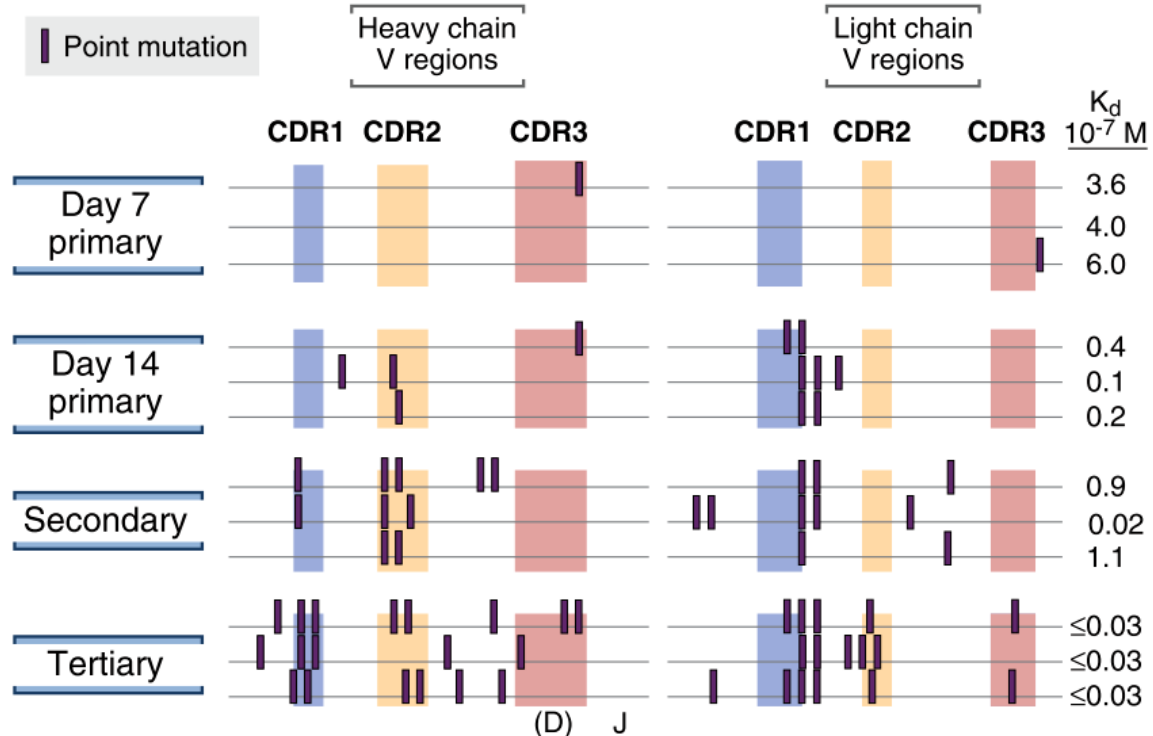
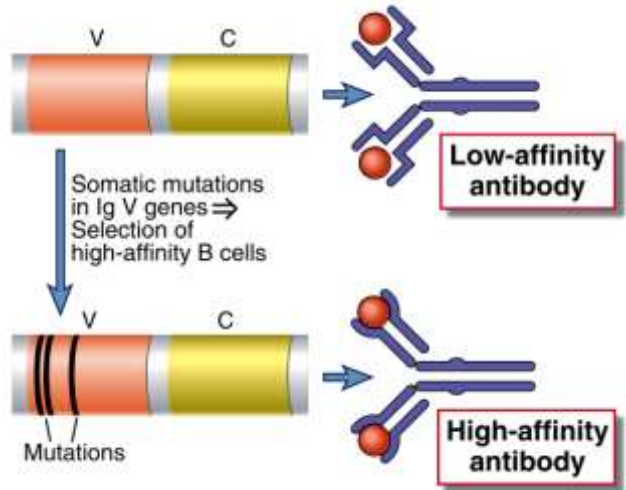
¡AID!



- ❖ **IDP: la deficiencia de citidin deaminasa inducida por activación AID esta implicada en el síndrome de hiper-IgM tipo 2 y también en la inmunodeficiencia común variable CVID**

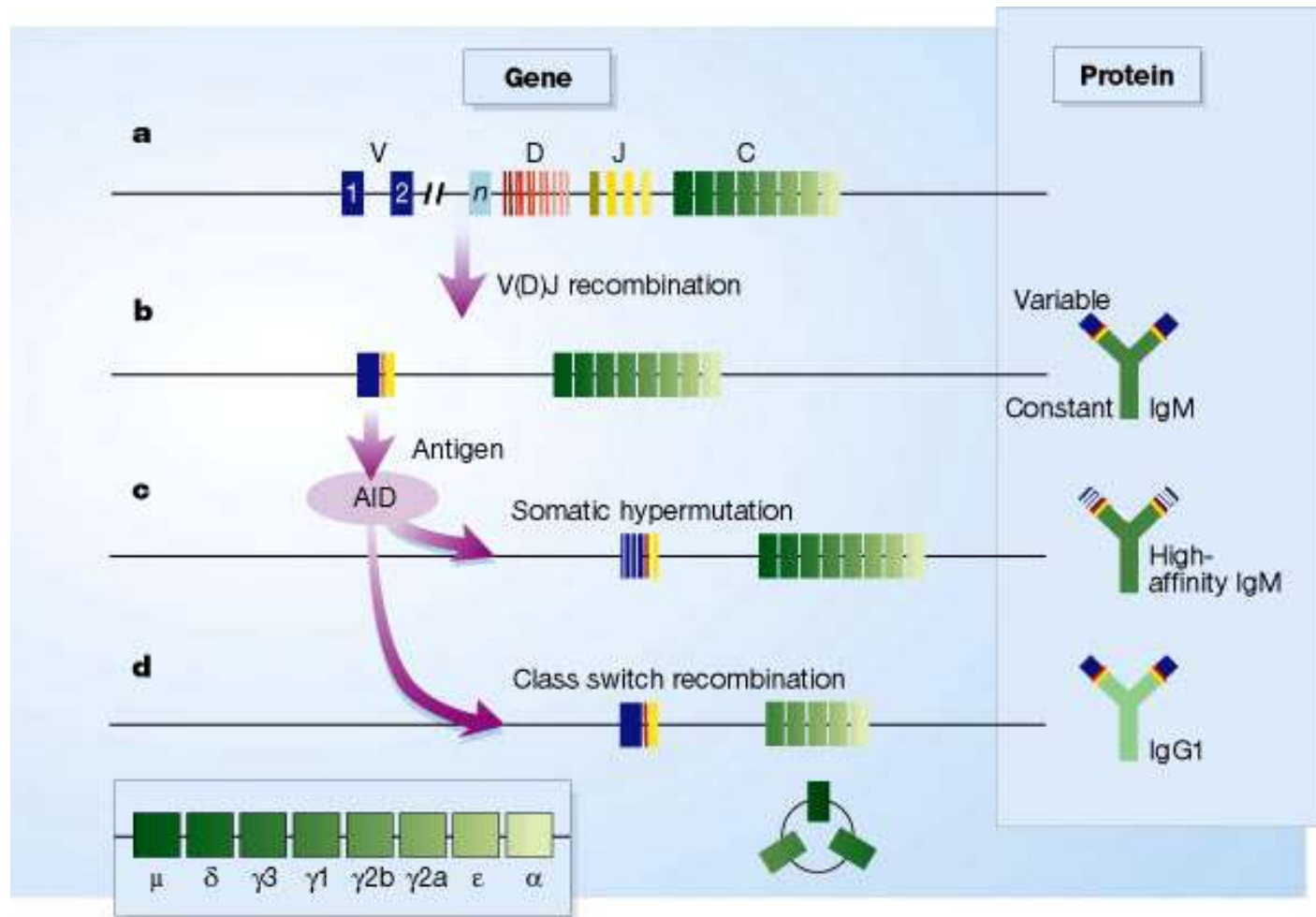


¡Y adicionalmente hay mutaciones somáticas!

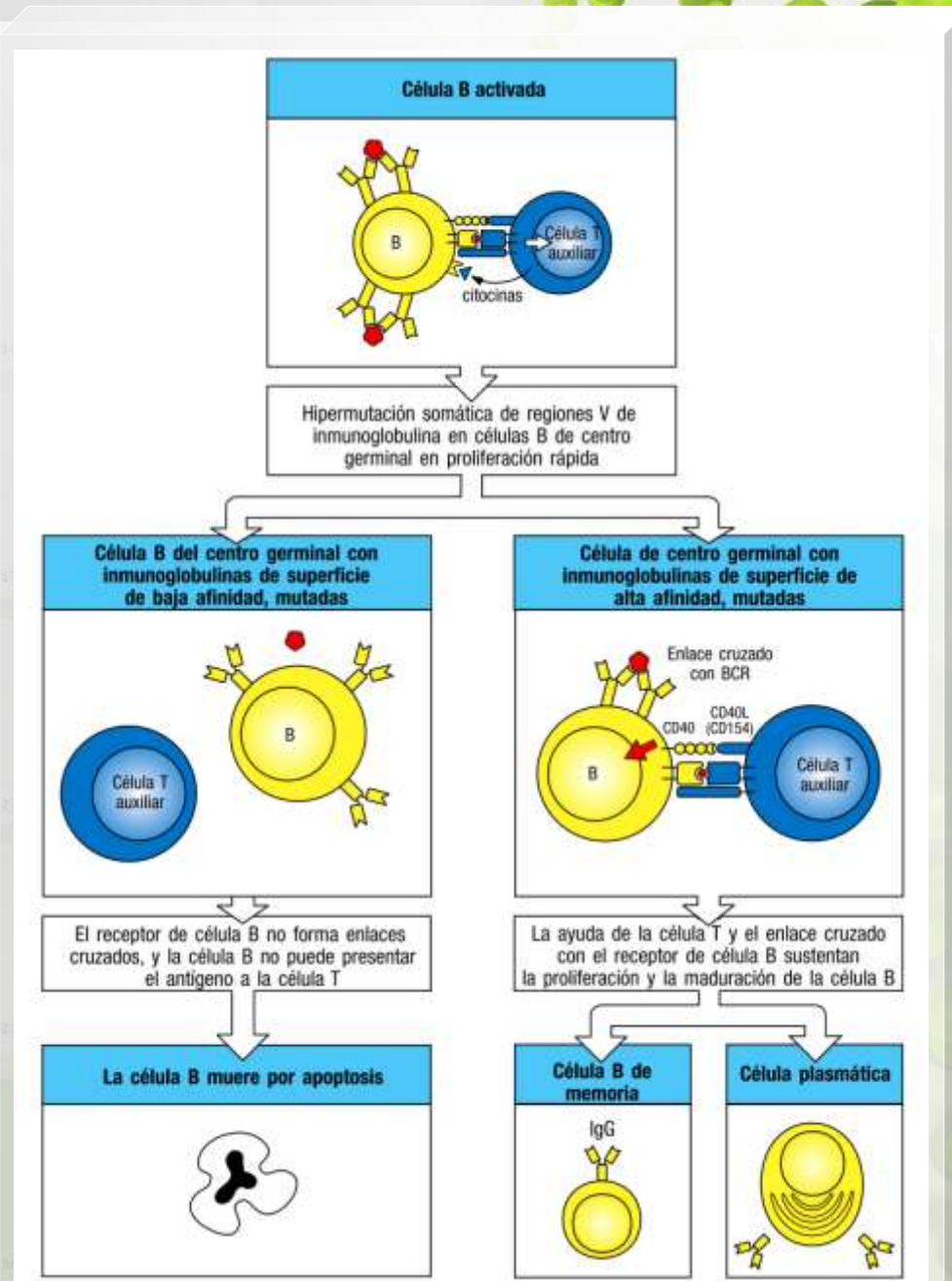


- 01
- 09
- 10
- 11
- 12
- 13
- 14
- 15
- 16
- 17
- 18
- 19
- 20
- 21
- 22
- 23
- 24
- 25
- 26
- 27

¡Nuevamente AID!



¡El producto final!



01

09

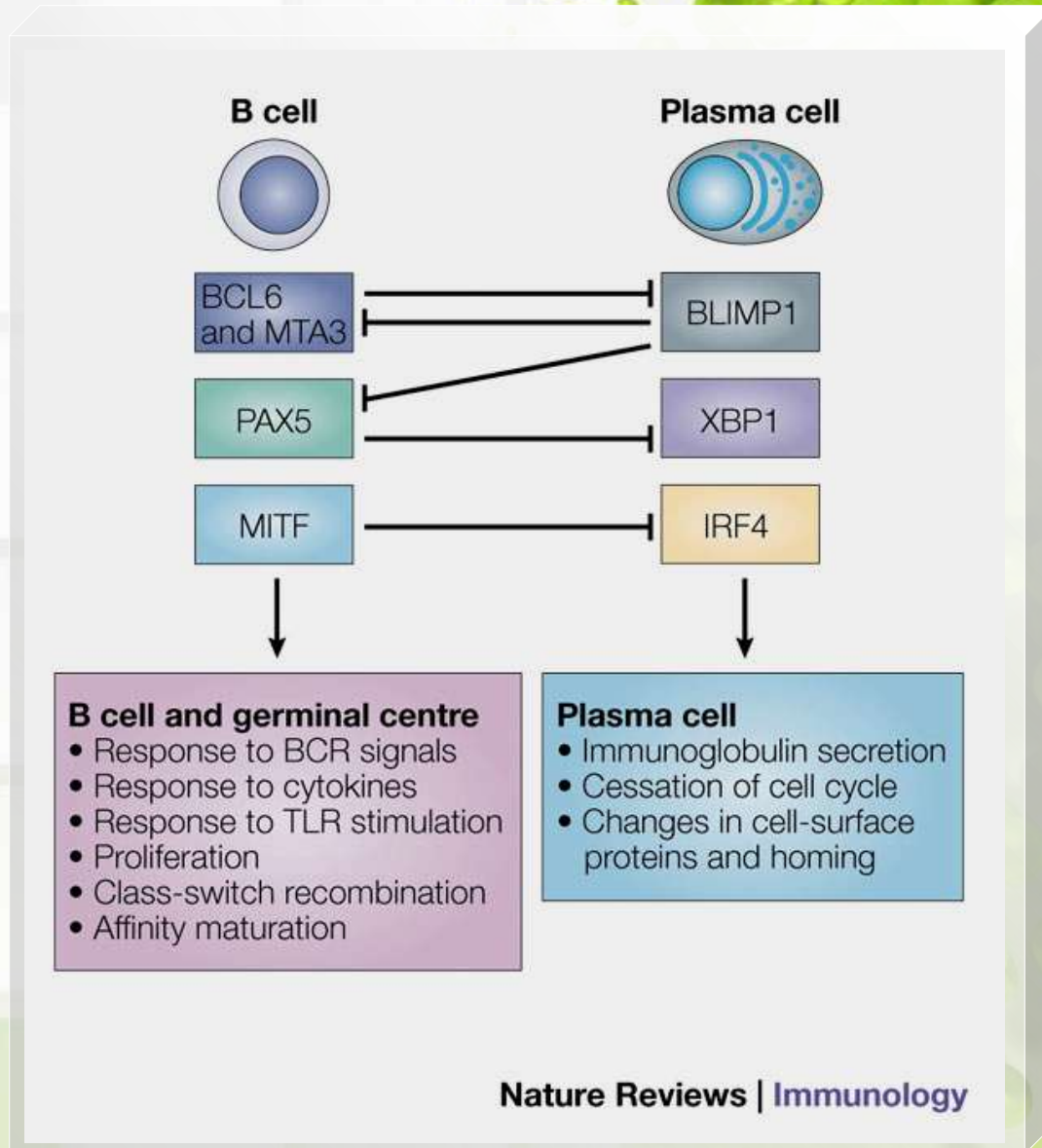
15

19

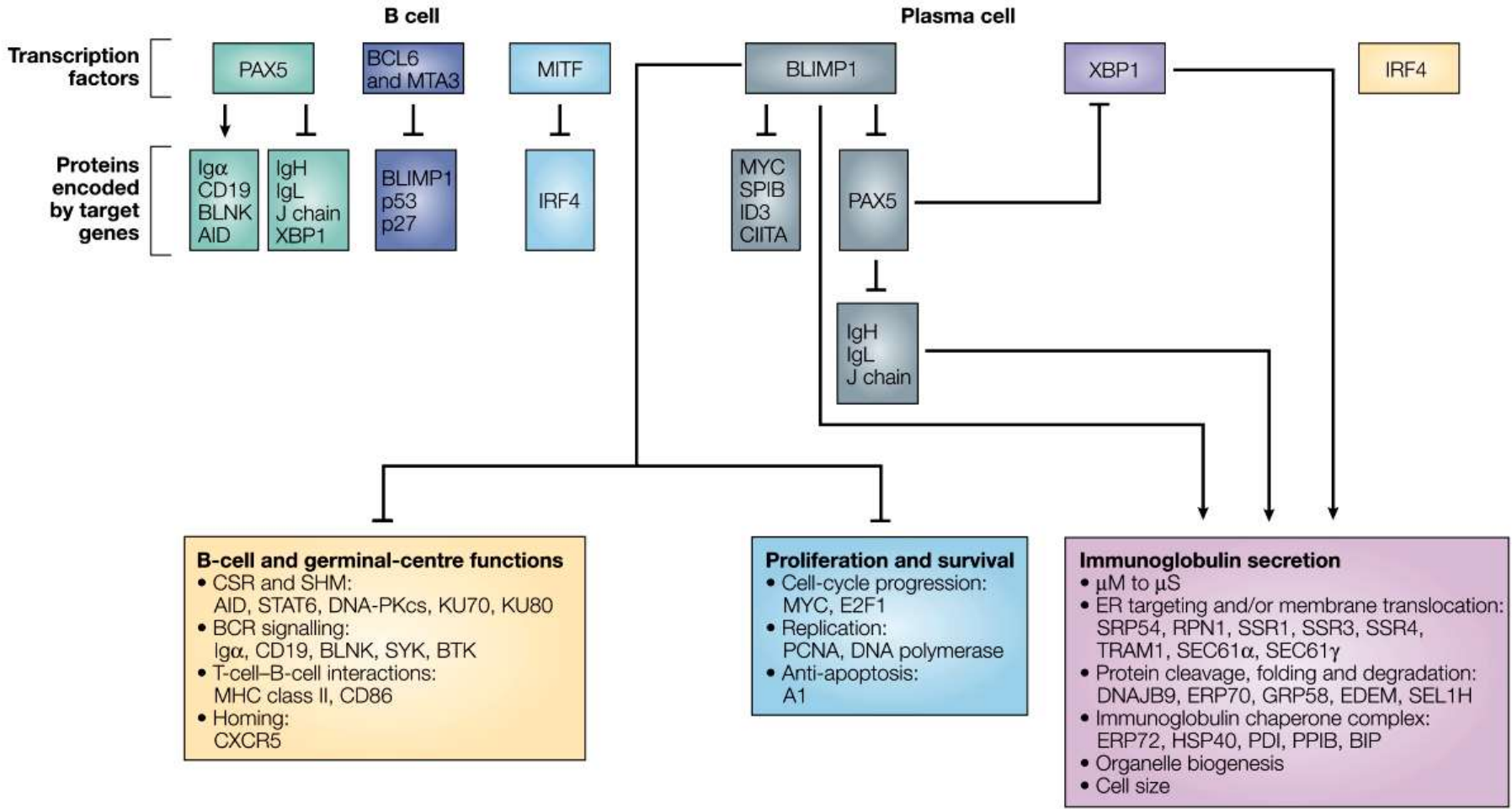
26

27

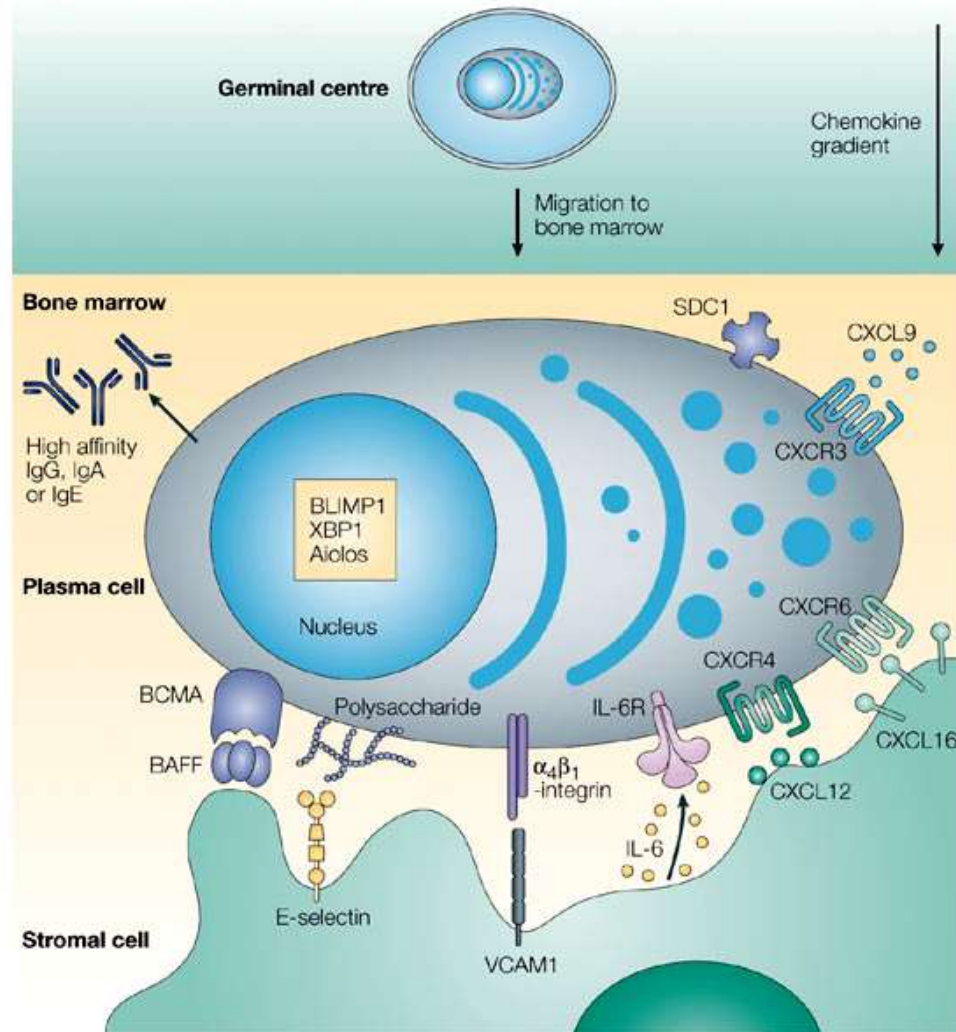
¡Generación de la célula plasmática!



¡Generación de la célula plasmática!

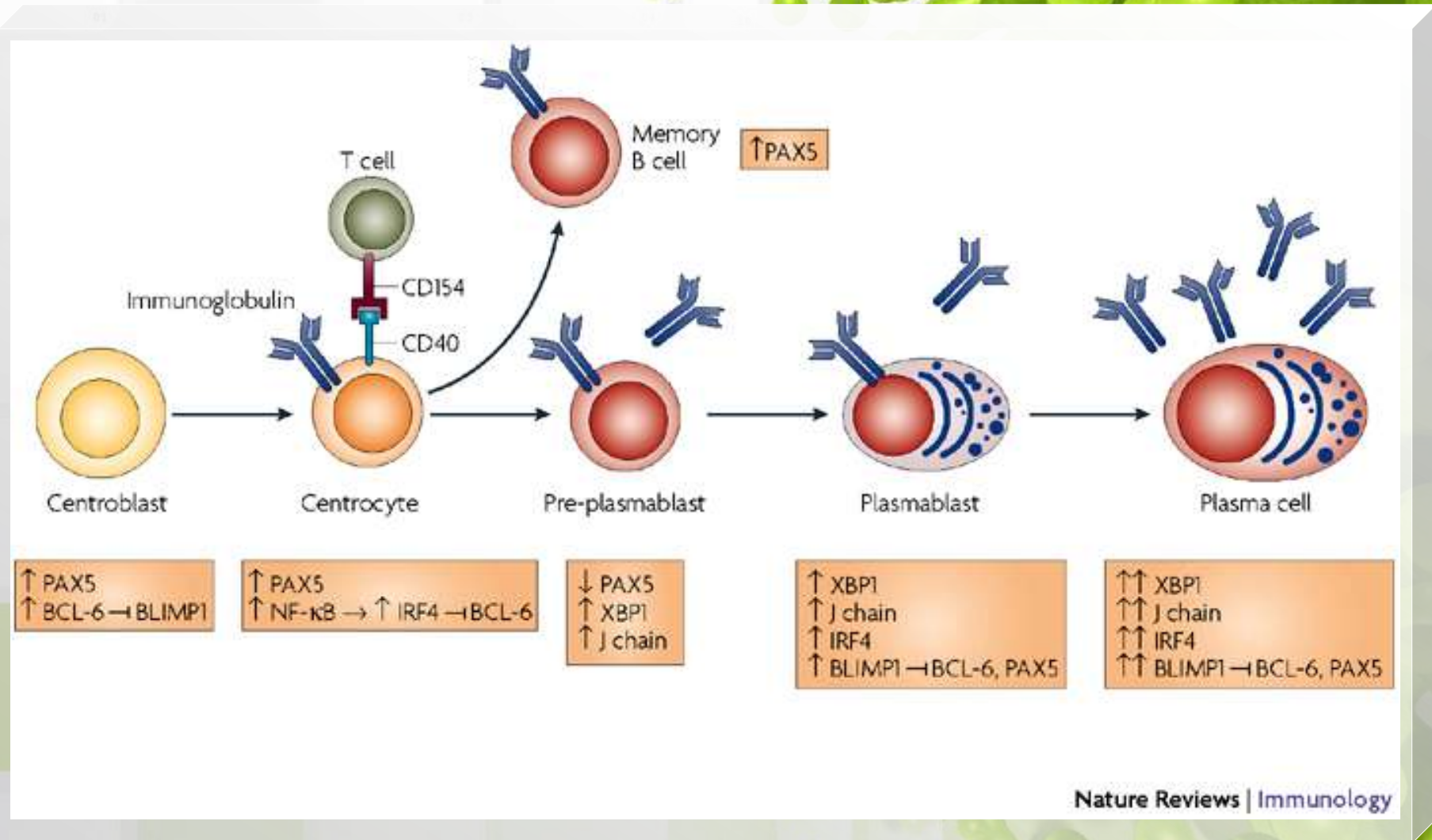


¡Generación de la célula plasmática!



Nature Reviews | Immunology

¡Generación de la célula de memoria!

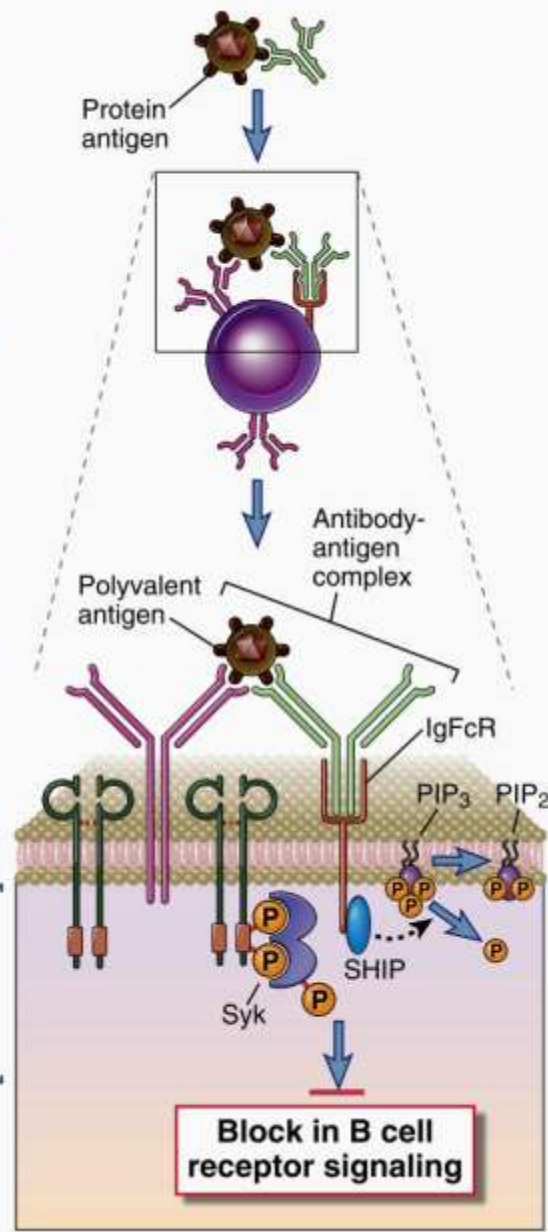


¡Todo el proceso debe regularse!

Secreted antibody forms complex with antigen

Antigen-antibody complex binds to B cell Ig and Fc receptor

Fc receptor-associated phosphatase, SHIP, converts PIP₃ to PIP₂ in B cell-receptor complex



01

09

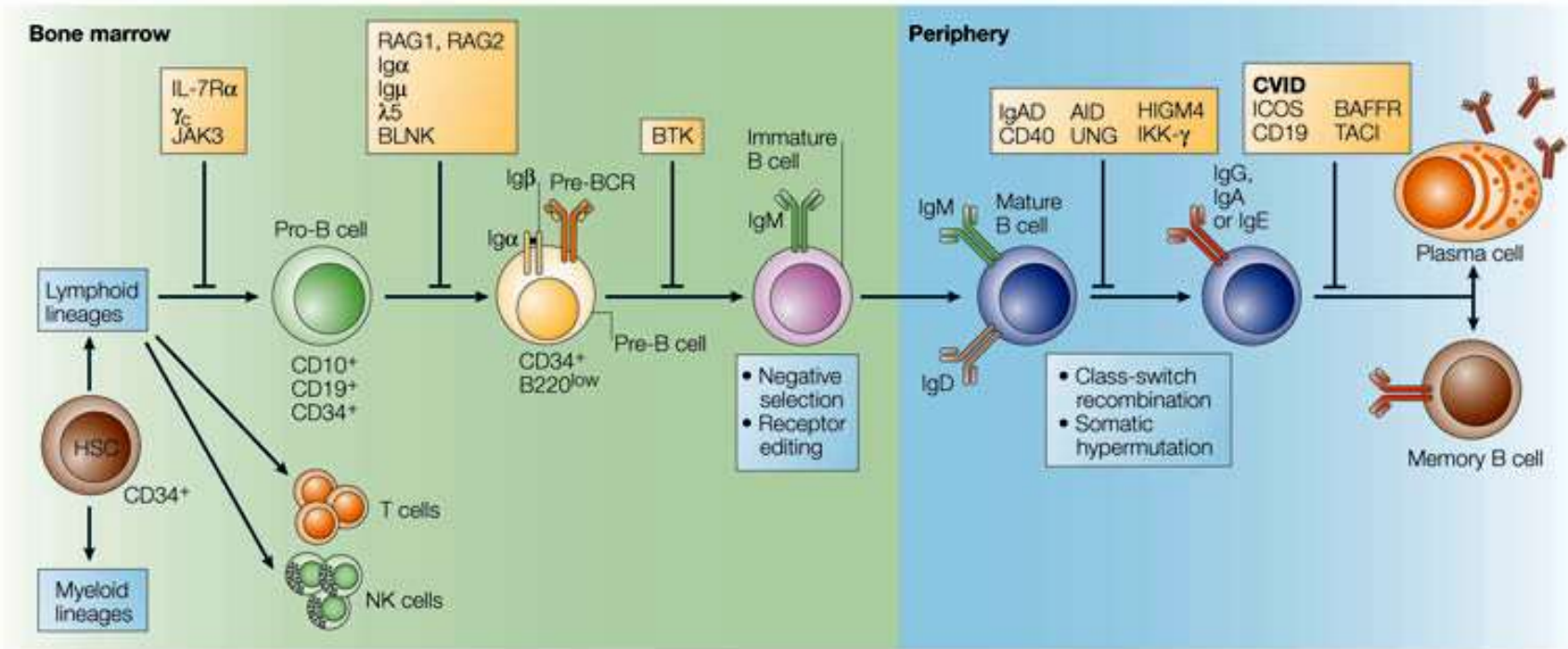
15

19

26

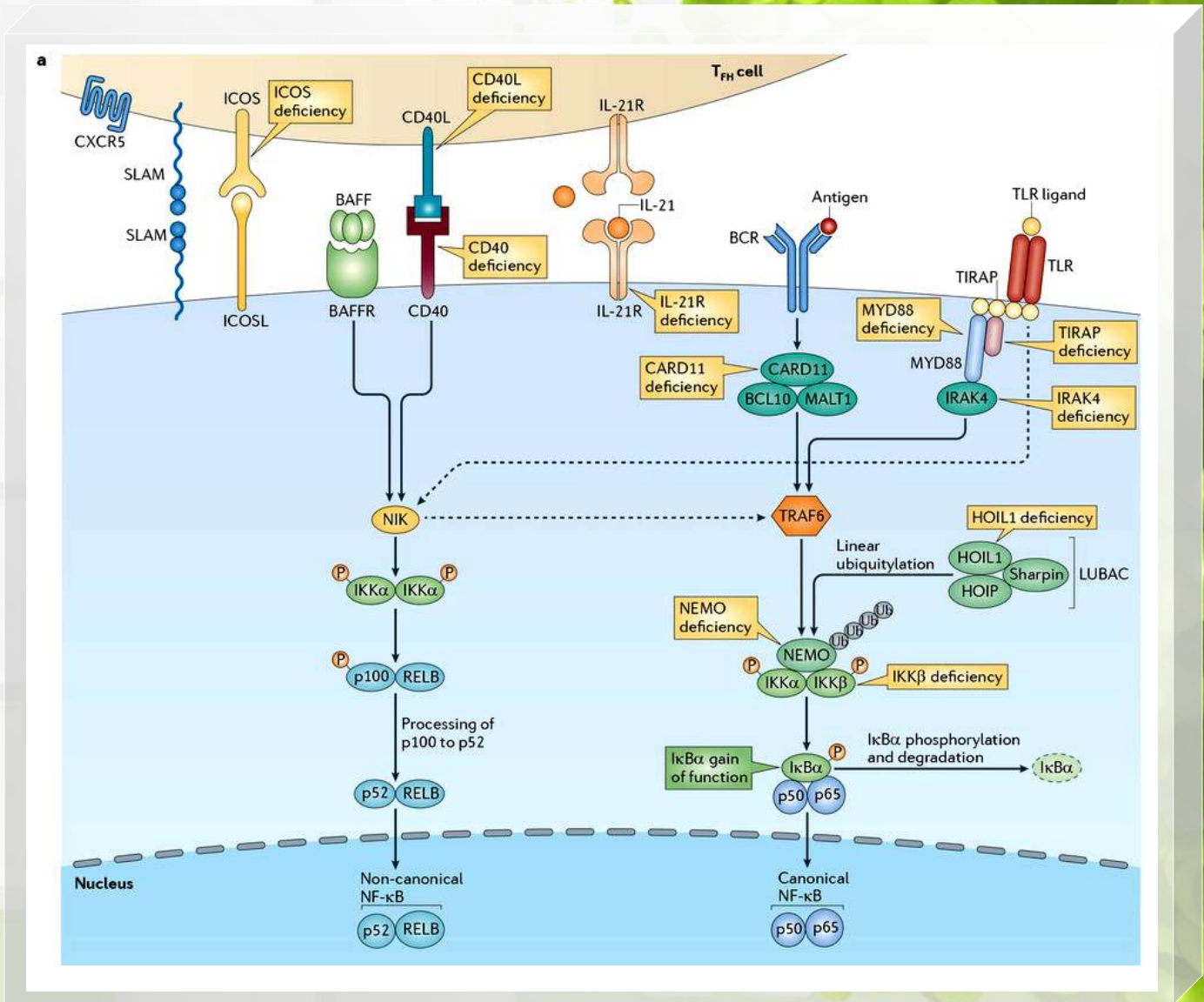
27

¡No fue un proceso fácil, cualquier error o deficiencia es fatal!



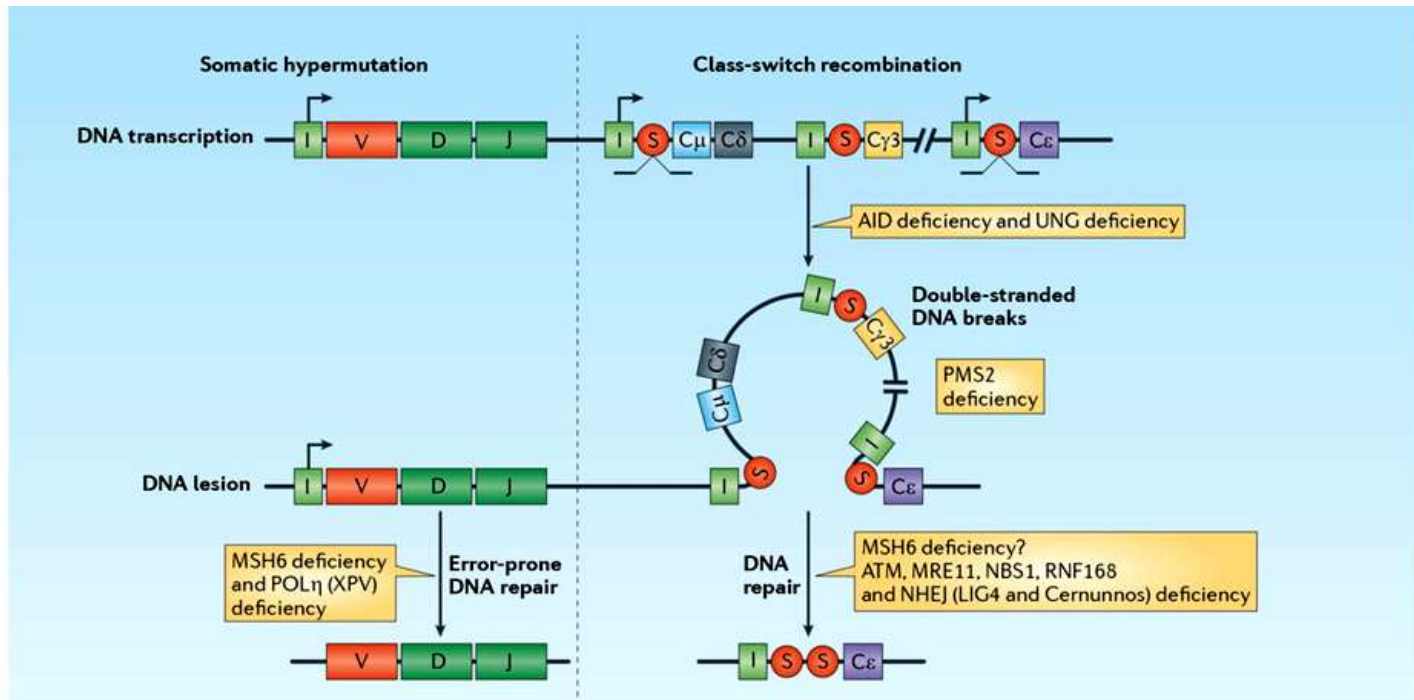
Copyright © 2005 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Immunology

¡Puntos sensibles!



¡Mas puntos sensibles!

b

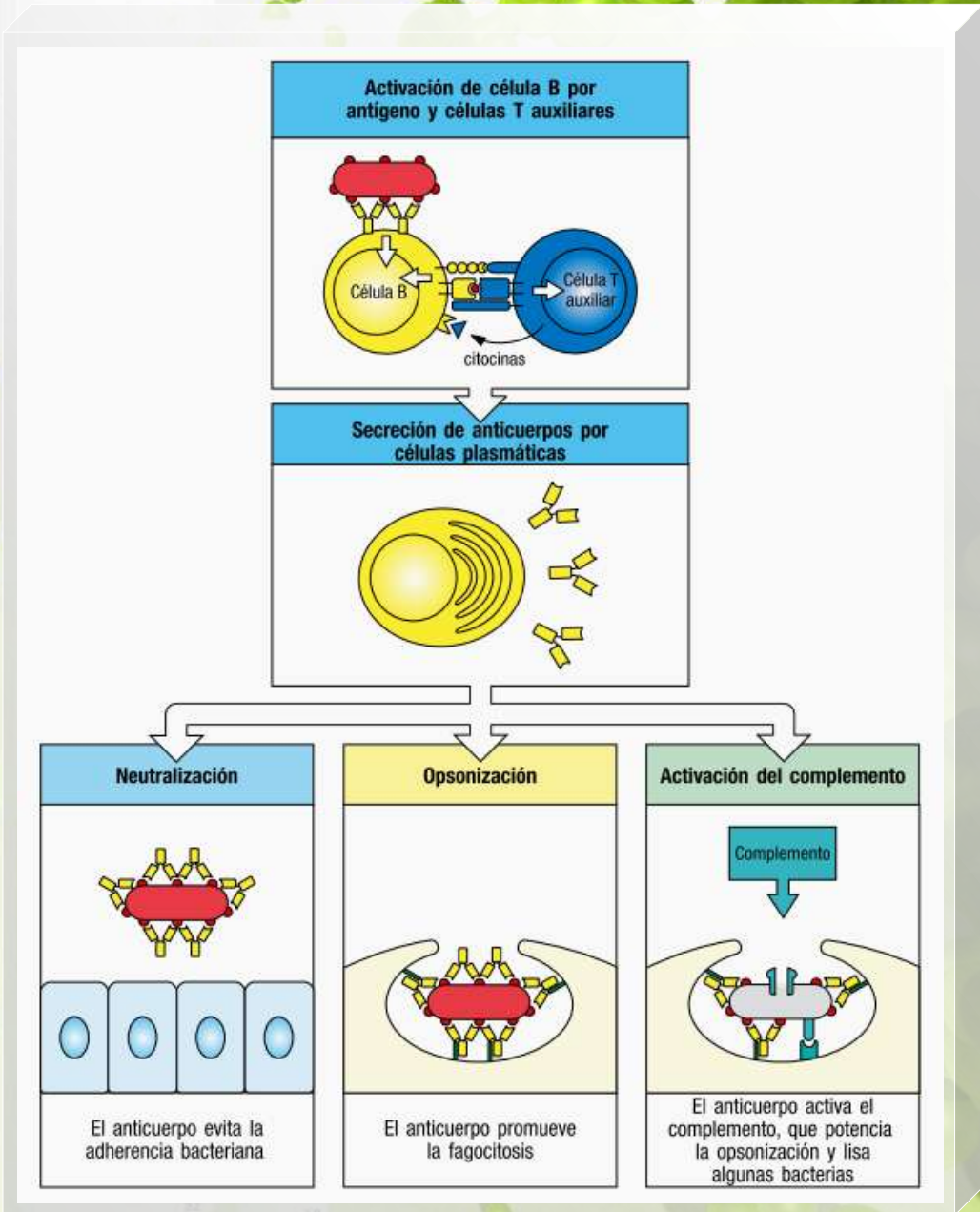


Nature Reviews | Immunology

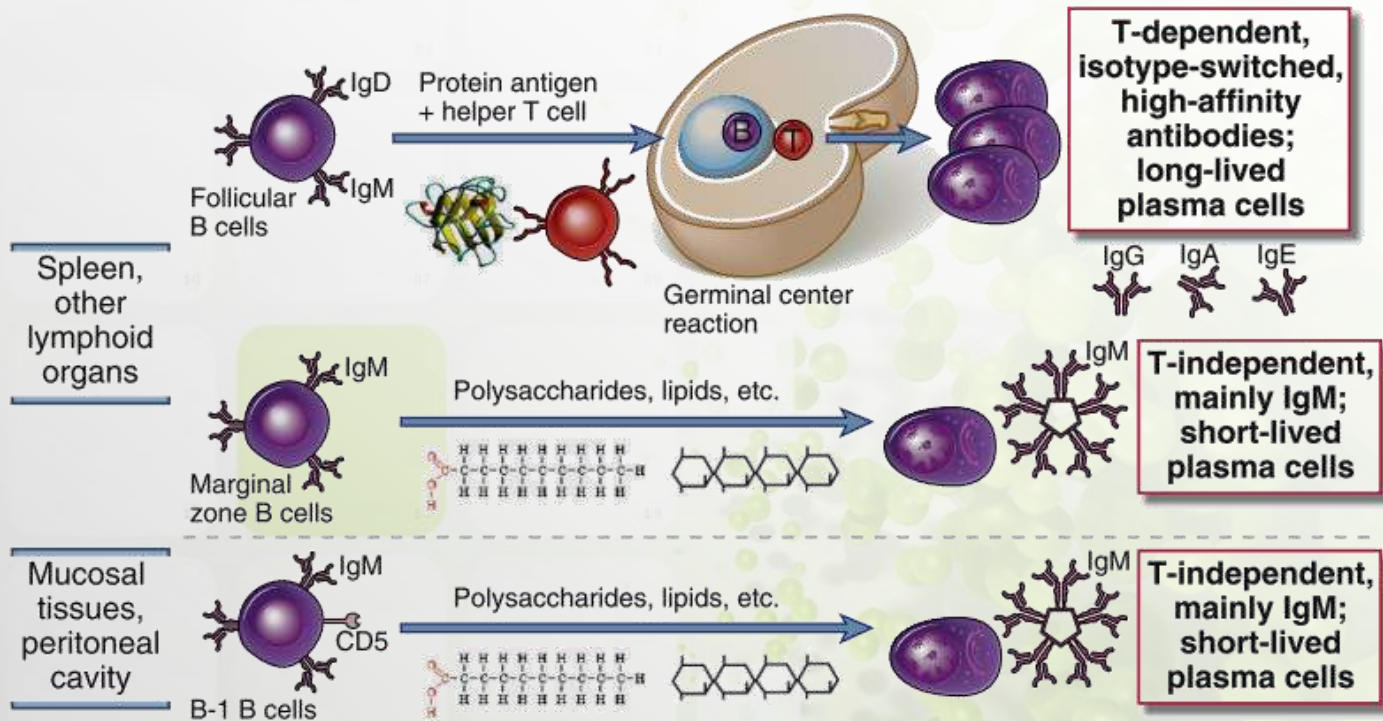
Células B y anticuerpos como mediadores de la respuesta humoral



❖ NO es un *deja vu*
es repetida la imagen



¡No siempre ocurre así!



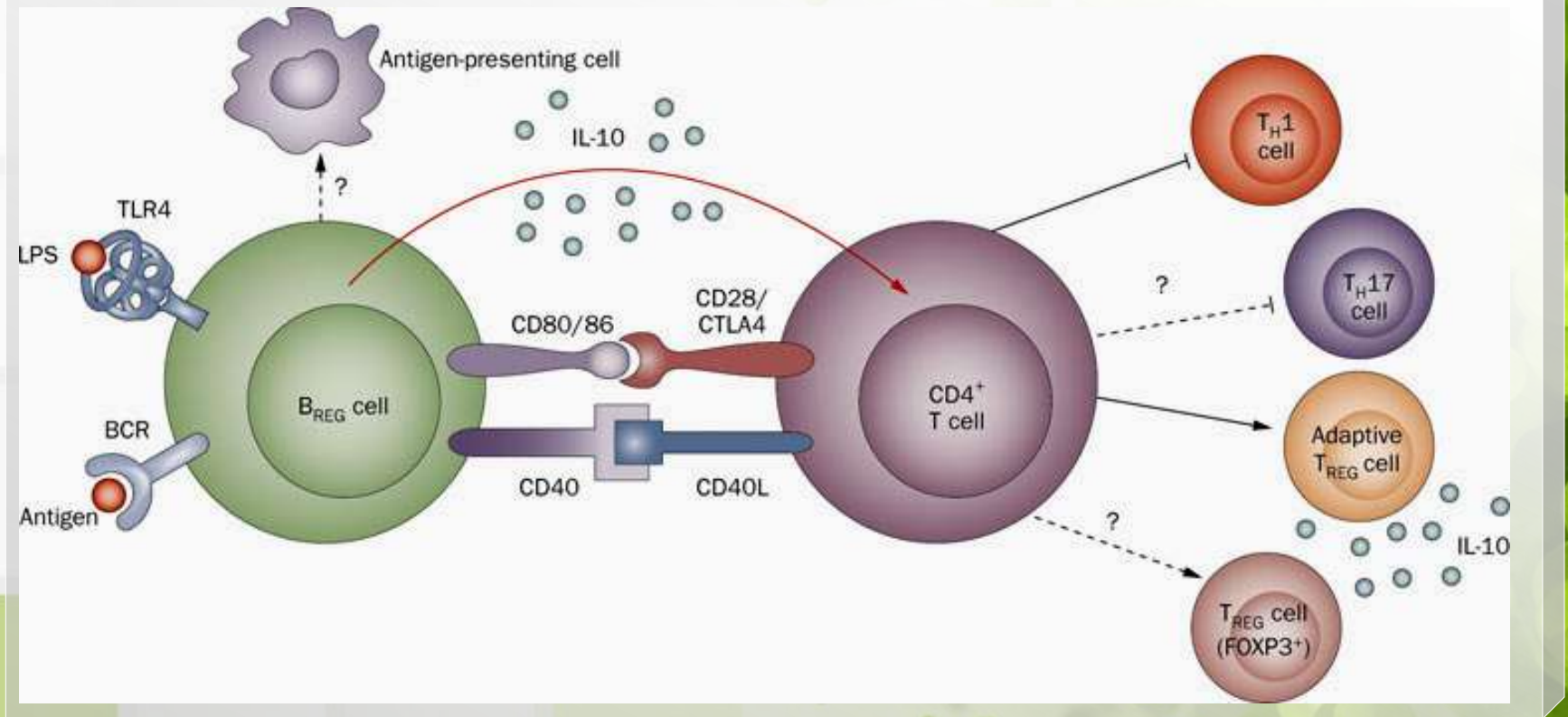
CUADRO 11-2 Propiedades de antígenos dependientes e independientes del timo

Propiedad	Antígenos TD	ANTÍGENOS TI	
		Tipo 1	Tipo 2
Naturaleza química	Proteína soluble	Componentes de la pared celular bacteriana (p. ej., LPS)	Antígenos proteicos poliméricos; polisacáridos capsulares
Reacción humoral			
Cambio de isotipo	Sí	No	Limitada
Maduración de afinidad	Sí	No	No
Memoria inmunitaria	Sí	No	No
Activación policlonal	No	Sí (dosis altas)	No

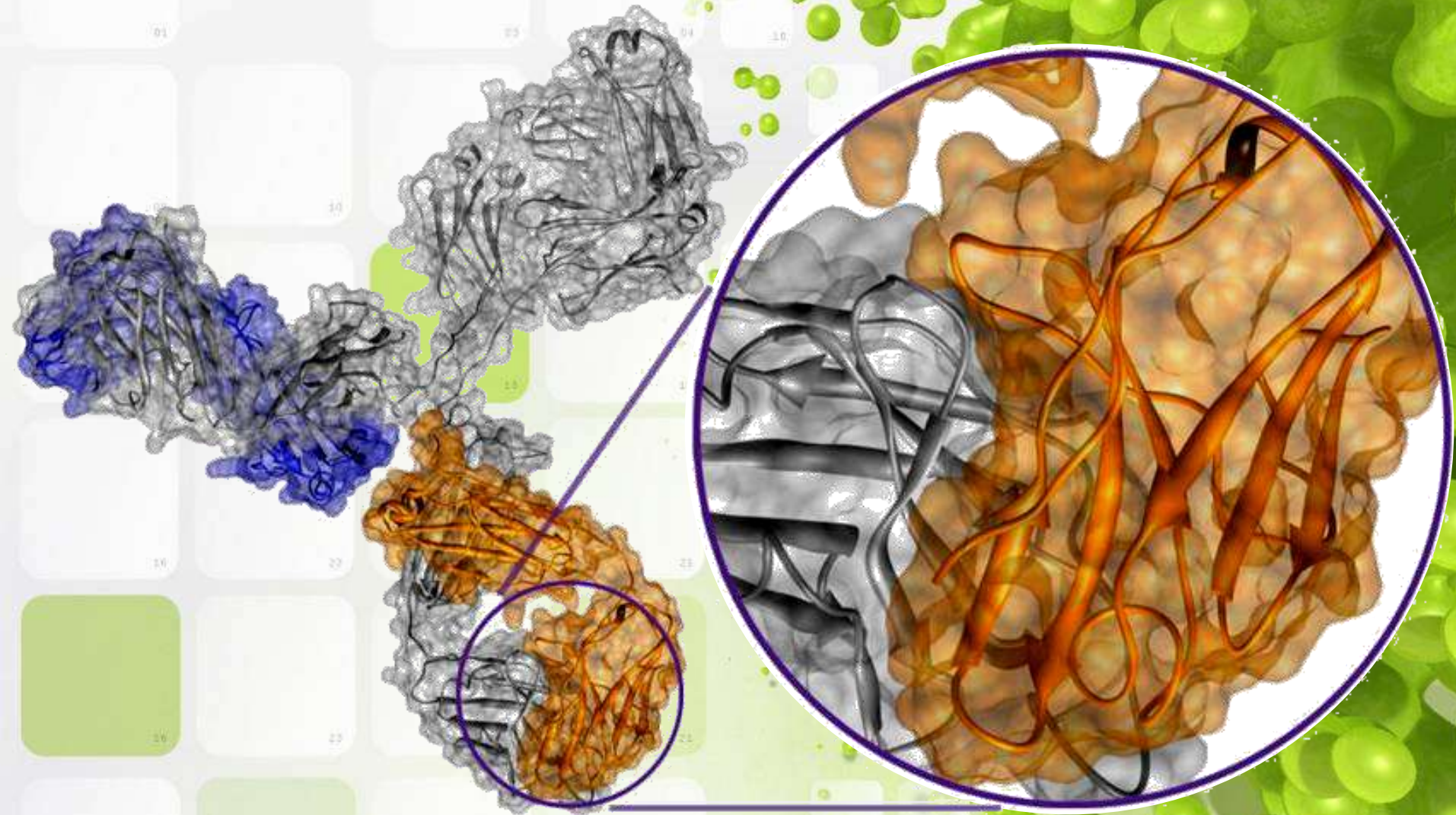
¡Ya va! ¡Ya va! ¿Células B-1?

Propiedad	Células B-1	Células B-2 convencionales
Cuándo se produce por vez primera	Feto	Después del nacimiento
Regiones N en uniones VDJ	Pocas	Extensas
Repertorio de región V	Restringido	Diverso
Localización primaria	Cavidades corporales (peritoneal, pleural)	Órganos linfoides secundarios
Modo de renovación	Autorrenovación	Reemplazado desde médula ósea
Producción espontánea de inmunoglobulina	Alta	Baja
Isotipos secretados	IgM >> IgG	IgG > IgM
Respuesta a antígeno carbohidrato	Sí	Tal vez
Respuesta a antígeno proteínico	Quizá	Sí
Requerimiento de ayuda de célula T	No	Sí
Hipermutación somática	Baja a nula	Alta
Desarrollo de memoria	Poco o nulo	Sí

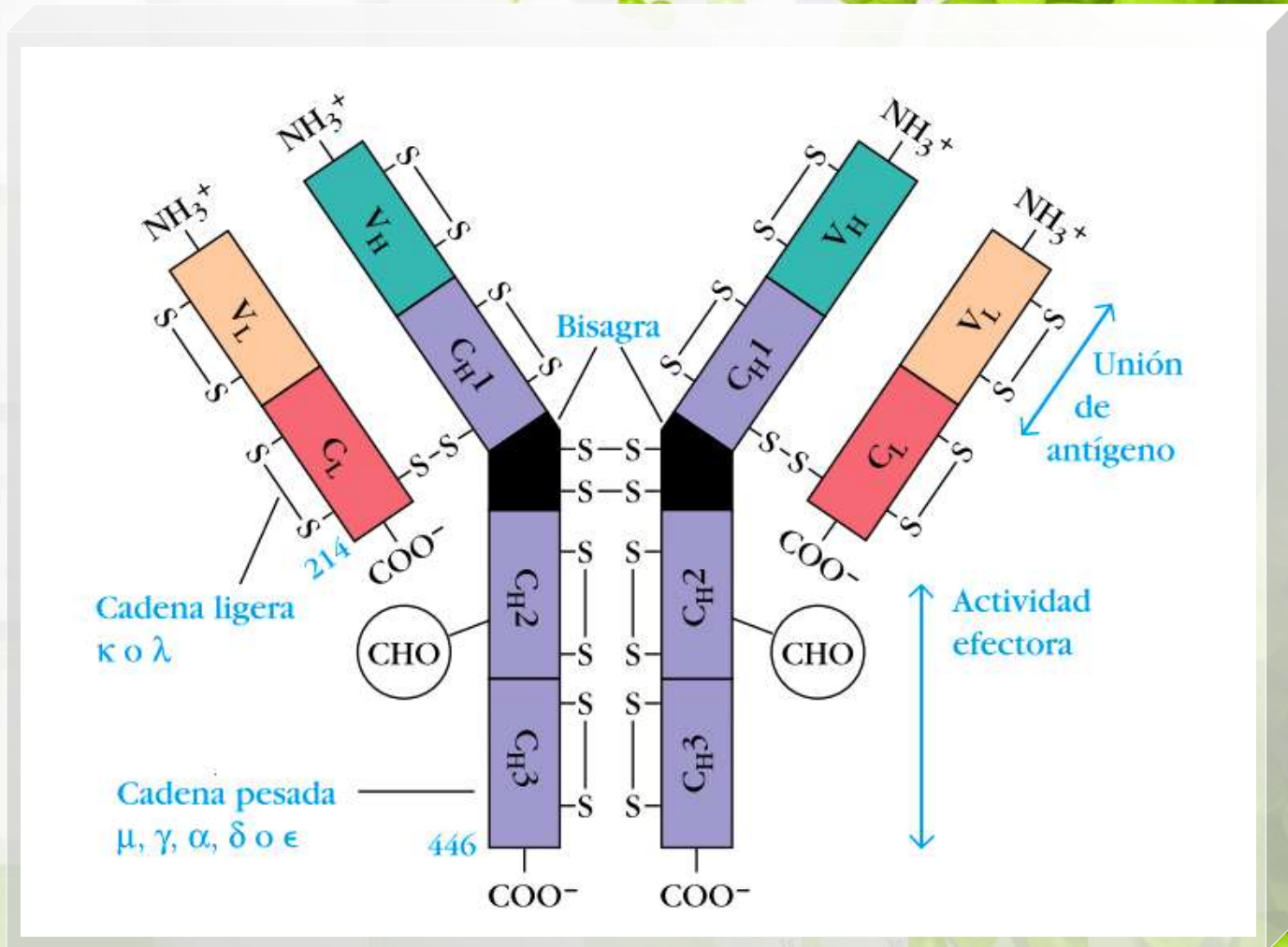
¡Y también Breg!



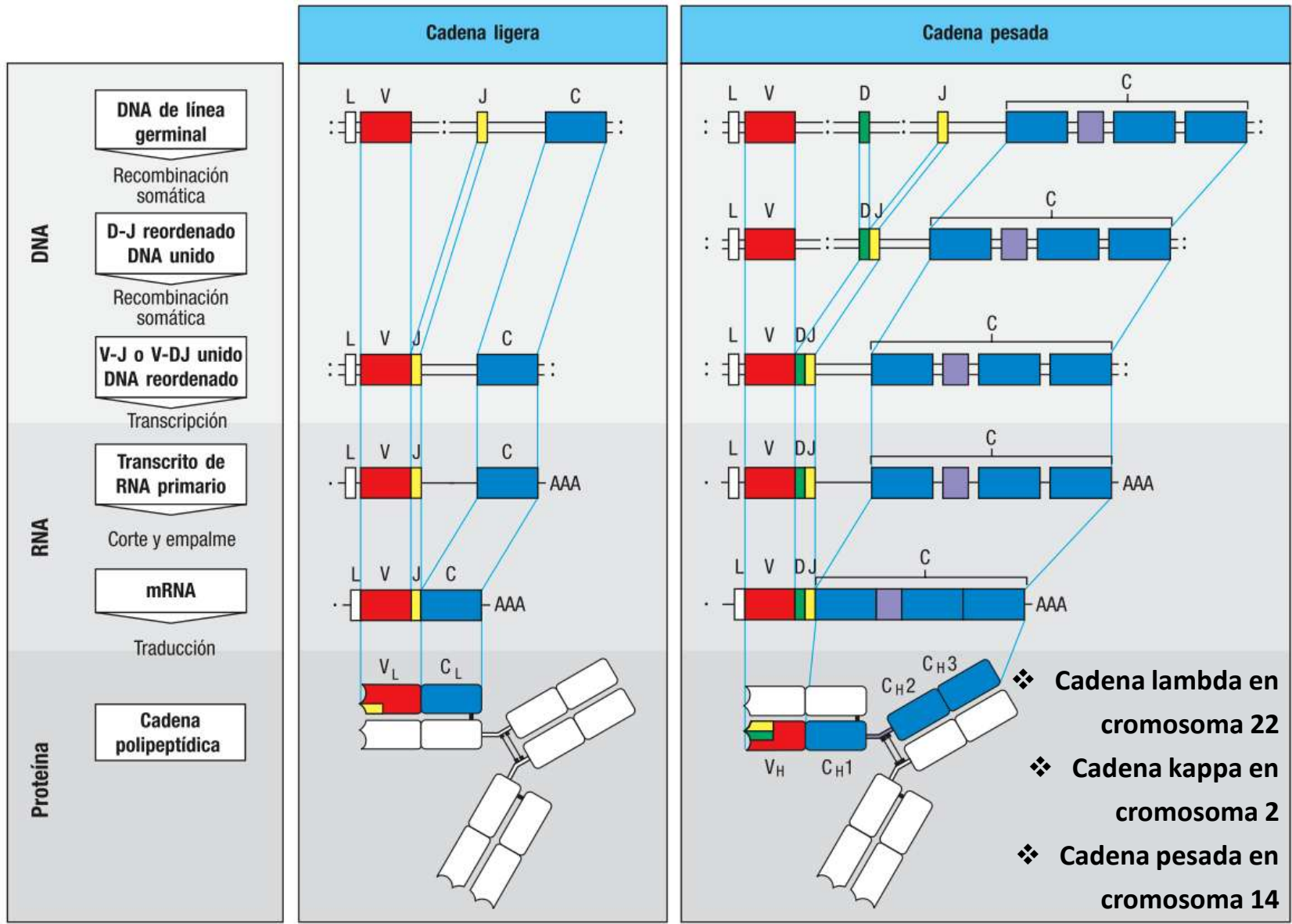
¡Conozcamos ahora un poco mejor a las inmunoglobulinas!



¡Conozcamos ahora un poco mejor a las inmunoglobulinas!



¡Organización genética de las inmunoglobulinas!

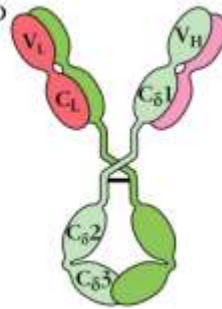


¡Diversas clases de inmunoglobulinas!

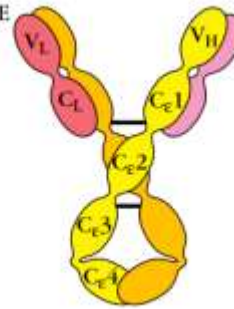
a) IgG



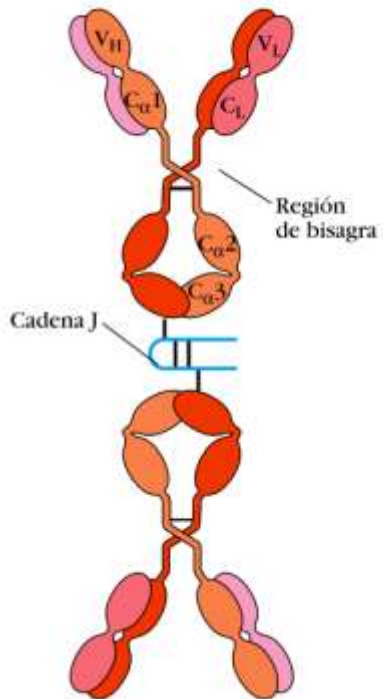
b) IgD



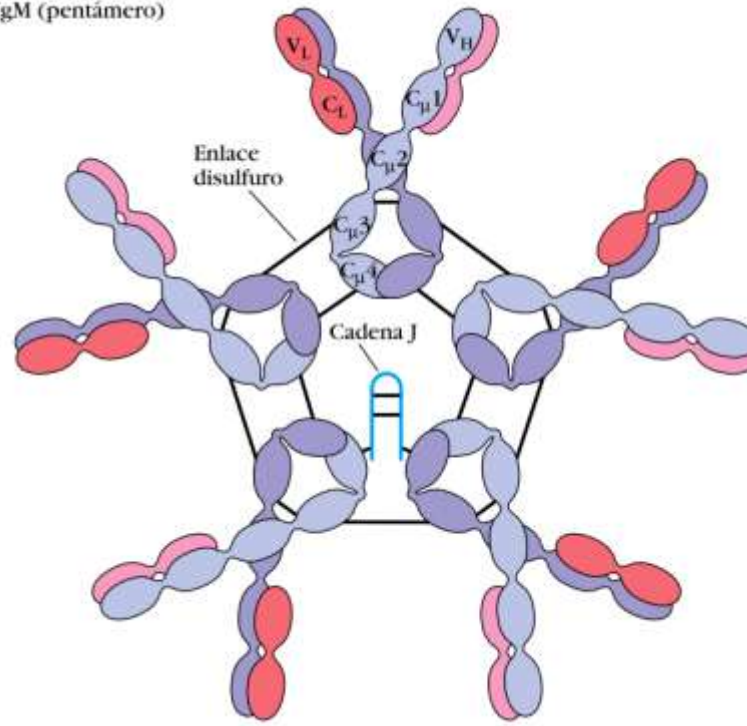
c) IgE



d) IgA (dímero)



e) IgM (pentámero)

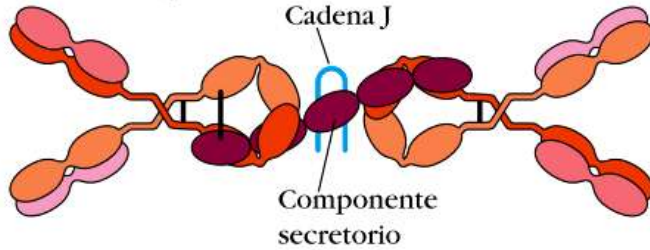


¡Funcionalidad de las diversas clases de inmunoglobulinas!

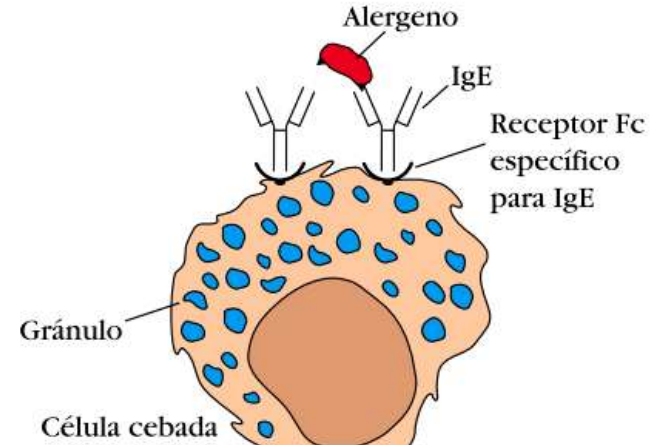
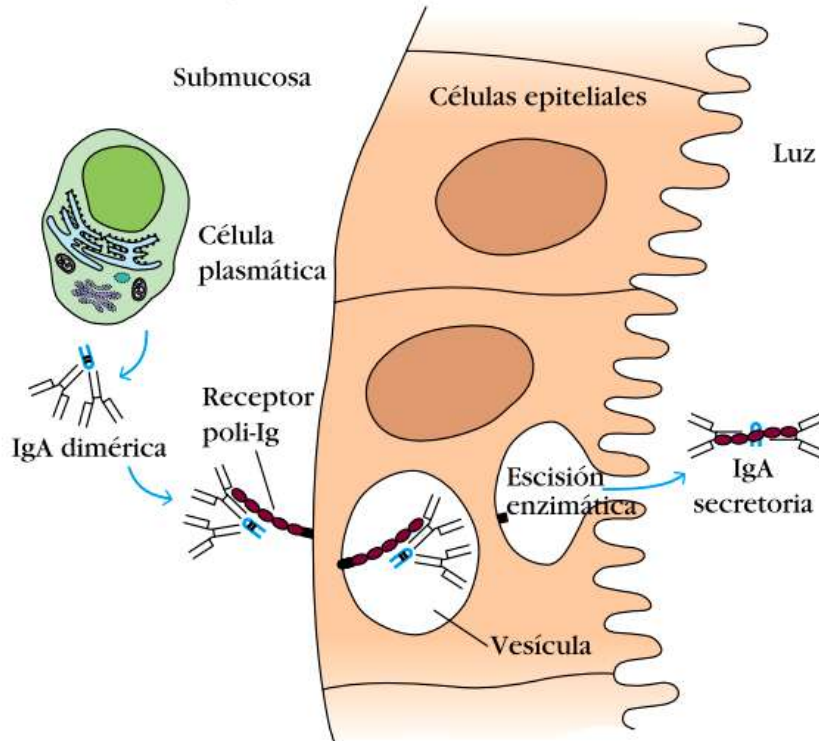
Actividad funcional	IgM	IgD	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA	IgE
Neutralización	+	-	++	++	++	++	++	-
Oponización	+	-	+++	*	++	+	+	-
Sensibilización para muerte por linfocitos NK	-	-	++	-	++	-	-	-
Sensibilización de células cebadas	-	-	+	-	+	-	-	+++
Activa el sistema de complemento	+++	-	++	+	+++	-	+	-
Distribución	IgM	IgD	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA	IgE
Transporte a través del epitelio	+	-	-	-	-	-	+++ (dímero)	-
Transporte a través de la placenta	-	-	+++	+	++	+/-	-	-
Difusión hacia sitios extravasculares	+/-	-	+++	+++	+++	+++	++ (monómero)	+
Concentración sérica media (mg ml ⁻¹)	1.5	0.04	9	3	1	0.5	2.1	3 × 10 ⁻⁵

¡Particularidades de la IgA e IgE!

a) Estructura de la IgA secretoria

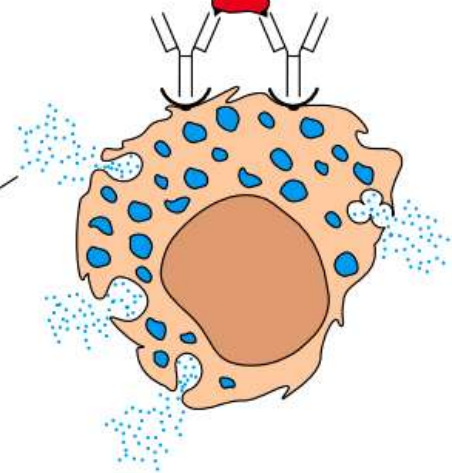


b) Formación de IgA secretoria

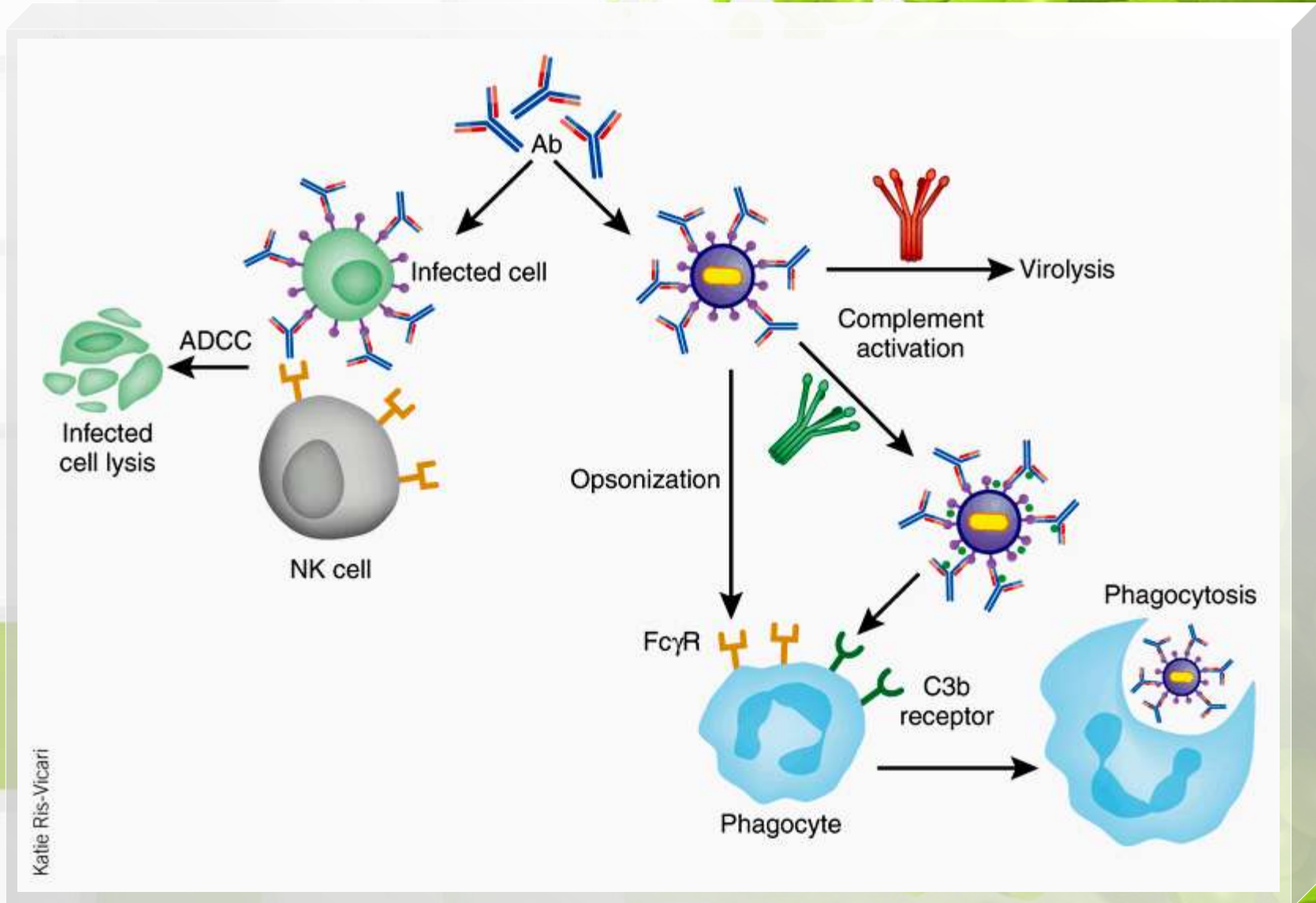


Desgranulación y liberación del contenido de los gránulos

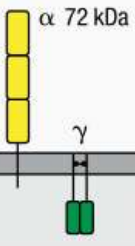
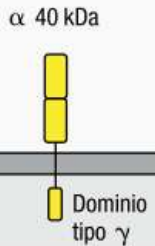
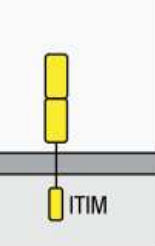
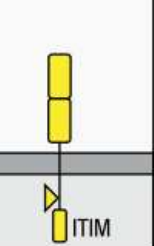
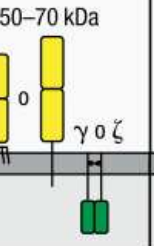
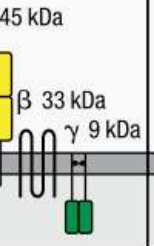
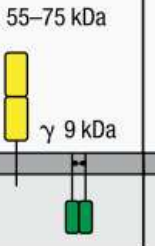
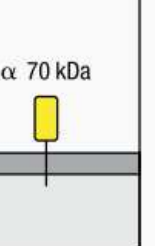
Histamina y otras sustancias que median reacciones alérgicas



¡Principales mecanismos de acción de los anticuerpos!



¡Papel fundamental de los receptores!

Receptor	Fc γ RI (CD64)	Fc γ RII-A (CD32)	Fc γ RII-B2 (CD32)	Fc γ RII-B1 (CD32)	Fc γ RIII (CD16)	Fc ϵ RI	Fc α RI (CD89)	Fc α/μ R
Estructura	 <p>α 72 kDa γ</p>	 <p>α 40 kDa Dominio tipo γ</p>	 <p>ITIM</p>	 <p>ITIM</p>	 <p>α 50-70 kDa γ ζ</p>	 <p>α 45 kDa β 33 kDa γ 9 kDa</p>	 <p>α 55-75 kDa γ 9 kDa</p>	 <p>α 70 kDa</p>
Unión	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgE	IgA1, IgA2	IgA, IgM
Orden de afinidad	10^8 M^{-1} 1) IgG1=IgG3 2) IgG4 3) IgG2	$2 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ 1) IgG1 2) IgG3=IgG2* 3) IgG4	$2 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ 1) IgG1=IgG3 2) IgG4 3) IgG2	$2 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ 1) IgG1=IgG3 2) IgG4 3) IgG2	$5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ IgG1=IgG3	10^{10} M^{-1}	10^7 M^{-1} IgA1=IgA2	$3 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 1) IgM 2) IgA
Tipo de célula	Macrófagos Neutrófilos† Eosinófilos† Células dendríticas	Macrófagos Neutrófilos Eosinófilos Plaquetas Células de Langerhans	Macrófagos Neutrófilos Eosinófilos	Células B Células cebadas	Linfocitos NK Eosinófilos Macrófagos Neutrófilos Células cebadas	Células cebadas Eosinófilos† Basófilos	Macrófagos Eosinófilos† Neutrófilos	Macrófagos Células B
Efecto de ligadura	Captación Estimulación Activación de la explosión respiratoria Inducción de muerte	Captación Liberación de gránulo (eosinófilos)	Captación Inhibición de estimulación	Captación nula Inhibición de la estimulación	Inducción de muerte (linfocitos NK)	Secreción de gránulos	Captación Inducción de muerte	Captación

¡Pregunten Ahora o Callen Para Siempre!



***Guillermo Teran-Angel
guillermondi@gmail.com
<http://guillermo.vv.si>***

PROBLEMA 1:

La activación y diferenciación de células B en respuesta a antígenos dependientes del timo (TD) requiere células TH, en tanto que la respuesta de las células B a antígenos independientes del timo (TI) no la requiere.

1. Comente la diferencia en la estructura de antígenos TD, TI-1 y TI-2 y las características de las respuestas humorales inducidas por ellos.
2. ¿La unión de qué clase de antígenos a mlg proporciona una señal de competencia eficaz para la activación de la célula B?

PROBLEMA 2:

Las señales de activación de células B deben transducirse al interior de la célula a fin de influir en los procesos del desarrollo. No obstante, las colas citoplásmicas de todos los isotipos de mlg en células B son muy cortas para funcionar en la transducción de señales.

1. ¿Cómo transducen las células B vírgenes la señal inducida por el enlace cruzado de mlg por antígeno?
2. Describa el resultado general de la transducción de señales en células B durante la activación y diferenciación inducidas por antígeno.