

Capítulo

# 10

## LINFOCITOS

Ulises Vergara C., Iván Palomo G.

### Resumen

#### 1. Introducción

#### 2. Estructura y función de linfocitos

#### 3. Linfocitos B

3.1. Desarrollo de linfocitos B

3.2. Linfocitos B y respuesta inmune humoral

#### 4. Linfocitos T

4.1. Receptor de linfocitos T

4.2. Subpoblaciones de linfocitos T

#### 5. Células linfoides de la Inmunidad Innata

#### 6. Memoria Inmunológica e Inmunidad de Entrenamiento

#### 7. Lecturas sugeridas

## RESUMEN

---

El sistema inmune está en constante adaptación para combatir amenazas externas e internas que pueden conducir a daño estructural y o funcional de nuestros órganos, tejidos y células.

El Sistema inmune está constituido por una enorme diversidad de células provistas de receptores, cuya afinidad y avidéz resultan fundamentales en el reconocimiento y posterior eliminación específica de las amenazas o señales de peligro, externa e interna. Estas poblaciones celulares incluyen tanto aquellas que forman parte de la inmunidad innata (macrófagos, células natural killer, células dendríticas), como subpoblaciones de linfocitos T y linfocitos B, que forman parte de la inmunidad adquirida.

Los linfocitos pueden separarse en tres subpoblaciones estructural y funcionalmente distintas: linfocitos B, linfocitos T y los recientemente descritos linfocitos de la inmunidad innata o ILC por "Innate Lymphocyte Cells". En los órganos linfoides secundarios los linfocitos B y T maduros reconocen antígenos específicos y se desarrolla una respuesta inmune, humoral y celular, respectivamente. Los linfocitos ILC no presentan receptores que reconocen antígenos, pero si receptores de alta afinidad para citoquinas específicas.

### 1. INTRODUCCIÓN

En un individuo de cualquier especie, cada órgano, cada tejido y, finalmente, cada célula de ese órgano o tejido tiene una forma, un tamaño y una organización estructural y funcional que le es propia.

Este es el contexto en el que, el sistema inmune se define como parte de los mecanismos biológicos destinados a mantener la organización estructural y funcional de los individuos, puesto que debe protegerlos de los cambios o alteraciones que pueden producir daño tisular. Así, el sistema inmune es esencialmente destructivo y está genéticamente programado para la neutralización y eliminación, tanto de agentes infecciosos y de células y moléculas extrañas, como de detritus y productos moleculares de células propias envejecidas, alteradas o transformadas.

Esto implica, necesariamente, la existencia de un específico y sofisticado mecanismo de regulación, que permite responder agresivamente contra lo extraño (**concepto de Inmunidad**) o contra lo propio estresado, dañado, envejecido, alterado o transformado y, al mismo tiempo, reconocer, aceptar y tolerar "lo propio normal" (**concepto de Tolerancia**). Además, toda activación específica del sistema inmune va, inevitablemente, acompañada de un efecto secundario no deseado que implica inflamación y daño tisular inespecífico (**concepto de Hipersensibilidad**).

El sistema inmune está constituido por células que tienen la capacidad para reconocer, neutralizar y eliminar, células y moléculas extrañas y células y moléculas propias envejecidas, alteradas o transformadas. De esta manera, el primer paso en el desarrollo de una respuesta inmune, es siempre el reconocimiento de lo extraño, o de lo propio alterado, dañado o transformado, por receptores específicos, que existen en la membrana de las células inmunocompetentes.

Todas las células de nuestro organismo forman parte del sistema inmune y, en la población total de células de un individuo, pueden distinguirse, dos subpoblaciones celulares, estructural y funcionalmente distintas, células efectoras y población linfocitaria:

**a) Células efectoras.** Estas células, de manera natural, innata o constitutiva tienen la capacidad para reconocer y destruir aquello que debe ser eliminado (Respuesta Inmune Natural o Innata) Estas células efectoras están provistas de receptores que reconocen ligandos específicos, llamados patrones moleculares que se expresan en agentes infecciosos (**PAMPs, por Pathogen Associated Molecular Patterns:** Lipopolisacárido de bacterias Gram negativas, Ácido lipoteicoico de bacterias Gram positivas, Péptidoglicanos, ADN bacteriano, rico en nucleótidos no metilados CpGp, ARN doble hebra viral, ADN monohebra viral). Patrones moleculares que se expresan en órganos y células propias dañadas o alteradas y que constituyen una "señal de peligro" (**DAMPs por Damage Associated Molecular Patterns:** Ácido úrico, Proteínas de estrés, Proteínas del grupo "HMGB1" (high-mobility group box 1 proteins), ADN y ARN, cromatina y nucleosomas, proteasas e hidrolasas, galectinas y tioredoxina, ATP. Radicales Libres del Oxígeno) y, finalmente, patrones moleculares que se expresan en células envejecidas o en apoptosis (**ACAMPs por Apoptosis Cell Associated Molecular Patterns:** fosfatidil serina, ácidos nucleicos, hidratos de carbono y la forma oxidada de lipoproteínas de baja densidad. En términos más generales, los patrones moleculares propios de los agentes microbianos se designan como **MAMPs** (Microbial Associated Molecular Patterns), que incluyen moléculas expresadas por agentes microbianos no patógenos, particularmente aquellos que forman parte de la flora comensal o saprófita, conocida como microbiota.

**b) Población linfocitaria.** Este grupo celular incluye linfocitos T y Linfocitos B, que no son células efectoras pero que, luego del reconocimiento de epítopos antigénicos, adquieren una capacidad efectora de eliminación de aquello que debe ser destruido (Respuesta Inmune Inducible o Adquirida). Los linfocitos están provistos de TcR (T cell receptor) o BcR (B cell receptor) que reconocen ligandos específicos (llamados antígenos), distintos de los patrones moleculares reconocidos por las células de la respuesta innata.

La especificidad de la respuesta inmune, reside en los linfocitos T y linfocitos B y la eliminación antigénica puede hacerse directamente, mediante una respuesta celular citotóxica (**Respuesta celular**) o de manera indirecta a través de la síntesis de anticuerpos específicos (**Respuesta humoral**), que reclutan y activan mecanismos accesorios de eliminación (fagocitosis, citotoxicidad, activación del Sistema del Complemento)

Las células de la inmunidad innata, además de su función efectora, cumplen un importante rol accesorio o complementario, para el desarrollo de la inmunidad adquirida (Figura 10.1), puesto que están involucradas en: (i) el procesamiento y presentación de antígenos, (ii) proporcionar señales accesorias de co-estimulación a linfocitos T y linfocitos B antígeno-específicos, para su activación, proliferación y diferenciación (en células efectoras o en linfocitos de memoria) y (iii) la expresión de moléculas de adhesión o de “homing” (que determinarán su capacidad de recirculación o tráfico celular y de ingreso a distintos órganos o tejidos específicos, durante el desarrollo de la respuesta inmune).



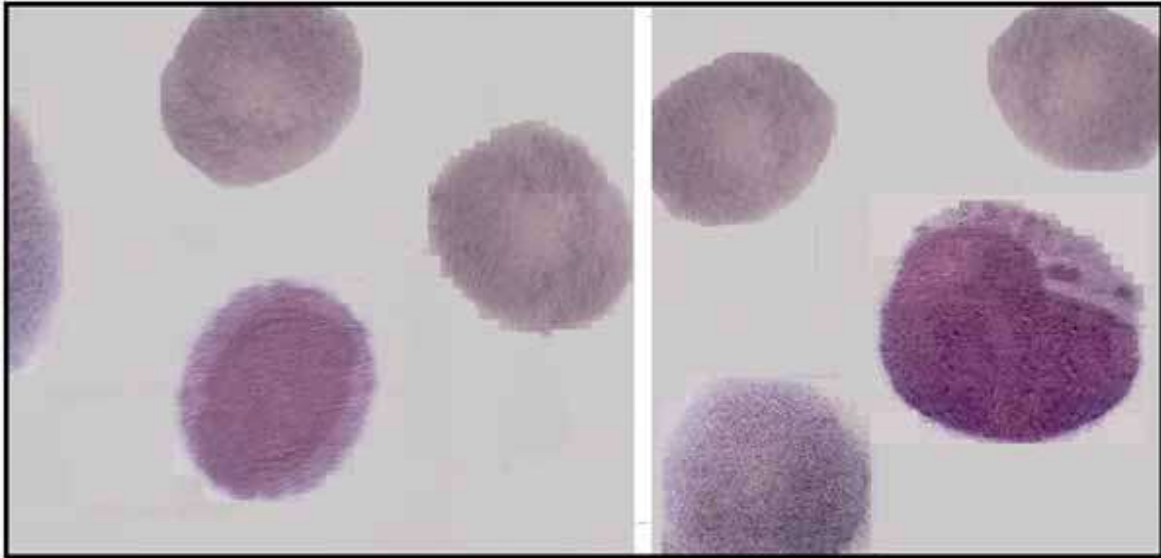
**Figura 10-1. Inmunidad Innata e Inmunidad Adquirida en el desarrollo de la respuesta inmune.**

Funcionalmente el Sistema Inmune en condiciones normales presenta inmunidad y autotolerancia y en condiciones patológicas autoinmunidad y tolerancia a lo extraño.

## 2. ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LINFOCITOS

Los linfocitos constituyen una población heterogénea de células sanguíneas, que pueden distinguirse de otros leucocitos no solo por sus características morfológicas, sino también por sus características estructurales y funcionales.

En un frotis sanguíneo convencional los linfocitos presentan un tamaño de 6 a 10  $\mu\text{m}$ , diferencias en la relación núcleo (N) y citoplasma © y la presencia o ausencia de gránulos citoplasmáticos azurófilos. *En una tinción hematológica con Giemsa pueden distinguirse dos tipos de linfocitos.* Los linfocitos pequeños carecen de gránulos azurófilos citoplasmáticos y presentan una elevada relación núcleo/citoplasma. En cambio, los linfocitos granulocitos grandes presentan gránulos azurófilos y una baja relación núcleo/citoplasma (Figura 10.2).



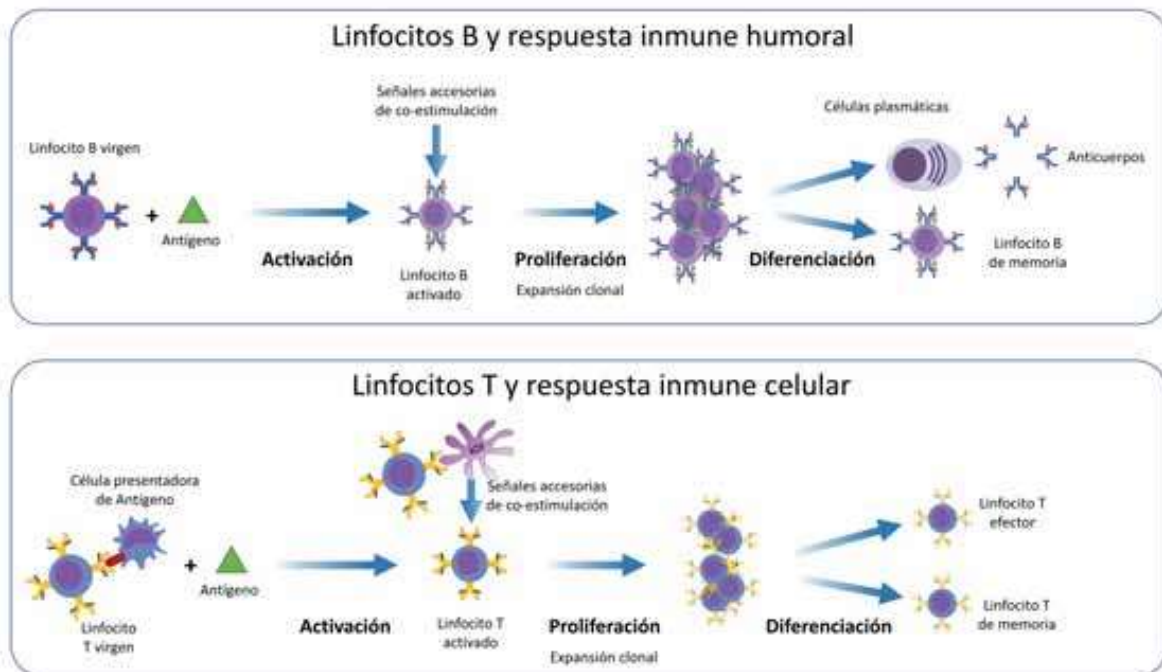
**Figura 10-2. Heterogeneidad morfológica de los linfocitos.** Los linfocitos pequeños (izquierda) carecen de gránulos azurófilos citoplasmáticos y presentan una elevada relación núcleo/citoplasma. En cambio los linfocitos granulocitos grandes (derecha) presentan gránulos azurófilos y una menor relación núcleo/citoplasma.

Los linfocitos constituyen una población heterogénea de células sanguíneas, que pueden distinguirse de otros leucocitos no solo por sus características morfológicas, sino también por sus características estructurales y funcionales.

De esta manera, los linfocitos pueden separarse en tres subpoblaciones estructural y funcionalmente distintas: linfocitos B, linfocitos T y los recientemente descritos linfocitos de la inmunidad innata o ILC por "Innate Lymphocyte Cells". Los linfocitos B y los linfocitos T se generan en los llamados órganos linfoides primarios en los que, luego en un proceso de recombinación génica y de diferenciación antígeno independiente, adquirirán la capacidad de expresar múltiples copias de un receptor epítipo antigénico específico, de modo tal que, mientras los linfocitos T se generan en el Timo, los linfocitos B tienen su origen en la médula ósea (Figura 10-3). Desde allí los linfocitos maduros ingresan al torrente sanguíneo para recircular entre los órganos linfoides secundarios (bazo, linfonodos y tejido linfoide asociado a mucosas y glándulas secretoras), en los que se producirá el encuentro con antígenos específicos y el desarrollo de una

respuesta inmune humoral y una respuesta celular, como consecuencia de una serie ordenada de eventos de activación, proliferación y diferenciación antígeno dependientes, que les convierten en linfocitos efectores y linfocitos de memoria.

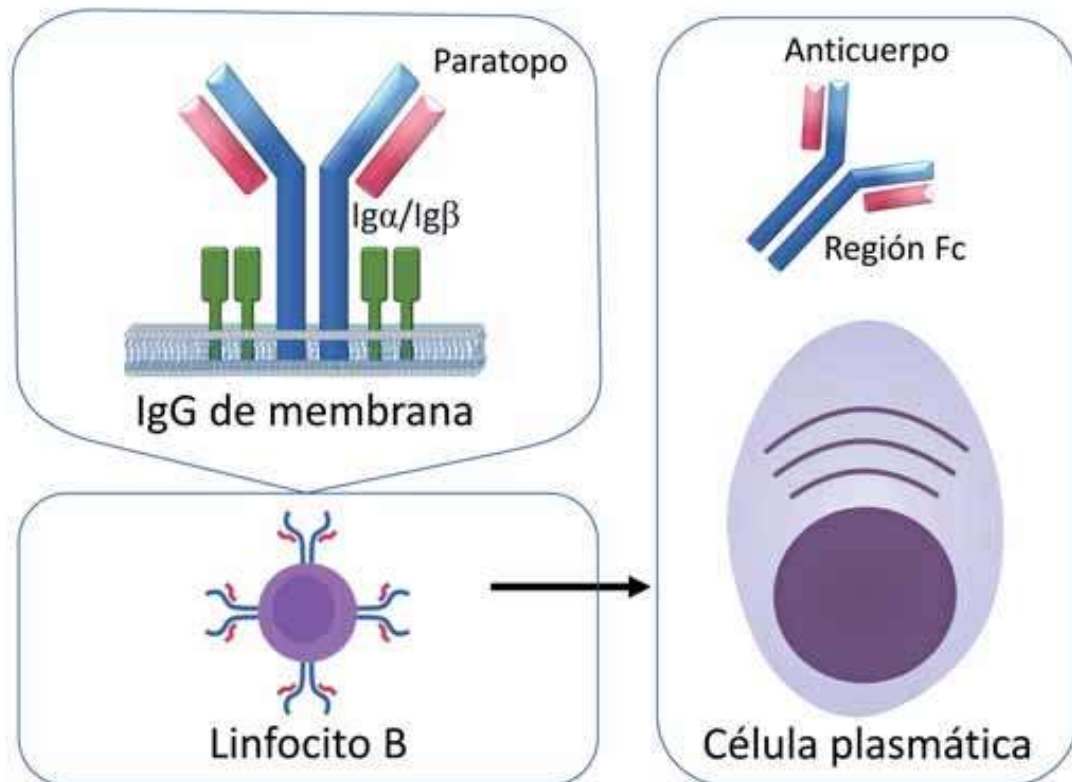
La excepción está dada por los linfocitos ILC, residentes en órganos linfoides, mucosas y órganos y tejidos periféricos, que se caracterizan por la ausencia de receptores que reconocen antígenos, pero que se activan a través de receptores de alta afinidad que reconocen citoquinas específicas, secretadas por distintas células inmunocompetentes.



**Figura 10-3. Esquema general de la serie ordenada de eventos de activación, proliferación y diferenciación que conducen al desarrollo de una respuesta inmune.** (a) humoral, dependiente de linfocitos B y (b) celular dependiente de linfocitos T.

El desarrollo temprano de linfocitos B y de linfocitos de la inmunidad innata (ILC), así como sus primeras etapas de diferenciación, ocurre en el hígado fetal en la época prenatal, para luego transferirse a la médula ósea durante el resto de la vida de los individuos. Los linfocitos B constituyen el centro de la respuesta inmune humoral puesto que su diferenciación en los órganos linfoides secundarios dará origen a células plasmáticas que, como células efectoras de esta respuesta humoral, son responsables de la síntesis y secreción de anticuerpos específicos, que representan la versión soluble y bifuncional, de la inmunoglobulina de superficie y mono funcional presente en la membrana plasmática del linfocito B originalmente activado por antígenos específicos. Los anticuerpos son inmunoglobulinas solubles y bifuncionales puesto que, mientras los paratopos de su extremo amino terminal permiten el reconocimiento específico de epítopos antigénicos, la región Fc de su extremo carboxi-terminal recluta y activa distintos mecanismos de destrucción, entre los que se encuentran la fagocitosis,

la lisis osmótica mediada por el Sistema del Complemento y la citotoxicidad dependiente de anticuerpos (ADCC por “Antibody Dependent Cell Citotoxicity”), asociada generalmente a células Natural Killer. La inmunoglobulina de superficie de los linfocitos B, presenta en su extremo carboxiterminal, una región hidrofóbica que determina su anclaje obligado a la membrana, convirtiéndola en una molécula mono funcional que solo tiene la capacidad de reconocer epítomos antigénicos a través de los paratopos, libres en su extremo amino terminal (figura 10-4).



**Figura 10-4. Linfocito B e Inmunoglobulina de membrana y célula plasmática e Inmunoglobulina soluble.** La Inmunoglobulina de membrana es monofuncional (solo reconoce epítomos antigénicos) e Inmunoglobulina soluble bifuncional (reconoce epítomos antigénicos por su extremo amino y recluta mecanismos de destrucción por su región Fc, ubicada en su extremo carboxilo). En la figura de la izquierda se muestra además el complejo accesorio, (Ig $\alpha$ /Ig $\beta$ ) que forma parte del BcR y es responsable del transporte y expresión del receptor en la membrana, de la transducción de señales de activación cuando los paratopos unen epítomos específicos.

En los linfocitos B, el ensamblaje intracelular de cadenas pesadas y livianas para la formación de monómeros de Ig y su transporte y expresión en la membrana celular requiere la participación de un heterodímero o complejo accesorio Ig $\alpha$ /Ig $\beta$  (también denominado (CD79a/CD79b), que no solo formará parte estructural del “B cell Receptor”, sino que será además funcionalmente responsable de la transducción de señales de activación cuando los paratopos de la Ig reconocen epítomos específicos.

### 3. LINFOCITOS B

#### 3.1. Desarrollo de linfocitos B

Las inmunoglobulinas están constituidas por cuatro cadenas polipeptídicas dos cadenas pesadas idénticas y dos cadenas livianas también idénticas. Cadenas pesada y livianas se asocian mediante puentes disulfuro formando una estructura simétrica compuesta por dos heterodímeros pesado/liviano idénticos y covalentemente unidos entre sí por puentes disulfuro, ubicados inmediatamente por detrás de una “región bisagra”, de gran movilidad.

En los linfocitos B, el ensamblaje intracelular de cadenas pesadas y livianas para la formación de monómeros de Ig y su transporte y expresión en la membrana celular requiere la participación de un heterodímero o complejo accesorio  $Ig\alpha/Ig\beta$  (también denominado (CD79a/CD79b), que no solo formará parte estructural del “B cell Receptor”, sino que será además funcionalmente responsable de la transducción de señales de activación cuando los paratopos de la Ig reconozcan epítomos específicos.

En la región aminoterminal de cada heterodímero existe un paratopo o sitio de combinación epítomo específico y formado por el dominio aminoterminal de cadenas pesadas y livianas. De esta manera un monómero de inmunoglobulina es una molécula bivalente, con dos sitios de combinación idénticos para el reconocimiento antigénico.

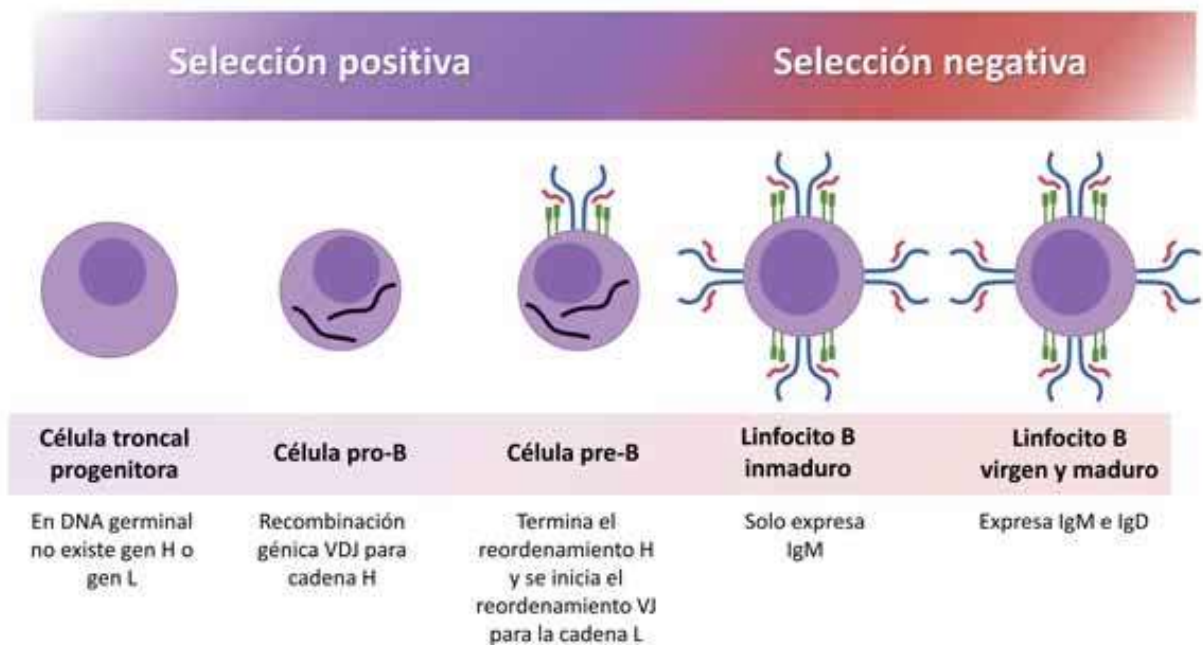
En el genoma de linfocitos B se encuentran los genes que codifican las cadenas pesadas y livianas de inmunoglobulinas pero, sorprendentemente, ellos no existen en el genoma o ADN germinal de la célula madre o célula progenitora que da origen a estos linfocitos.

La generación de linfocitos B a partir de una célula progenitora (en la médula ósea en mamíferos, o en la Bolsa de Fabricio en las aves), implica un proceso de diferenciación antígeno independiente en el que se producirá un reordenamiento génico al azar, pero ordenado de tres familias distintas de pequeños segmentos génicos denominados segmentos génicos variables (VH), segmentos génicos de Diversidad (DH) y segmentos génicos JH (por “Joining”), que se encuentran en una región particular del cromosoma 14 humano y codifican la región o dominio Variable aminoterminal de la cadena pesada (H), de la inmunoglobulina. A esta recombinación de segmentos génicos que codifican la cadena pesada, le seguirá el reordenamiento de pequeños segmentos génicos  $V\kappa$  y  $J\kappa$  del cromosoma 2 humano y que codifican la región variable de la cadena Liviana de isotipo kappa. En su defecto, la región variable de la cadena Liviana puede generarse recombinando segmentos génicos  $V\lambda$  y  $J\lambda$ , ubicados en el cromosoma 22 humano (Figura 10-5).

De esta manera entonces, la generación de linfocitos B se inicia con la recombinación del gen para la cadena pesada y, luego de la transcripción y traducción



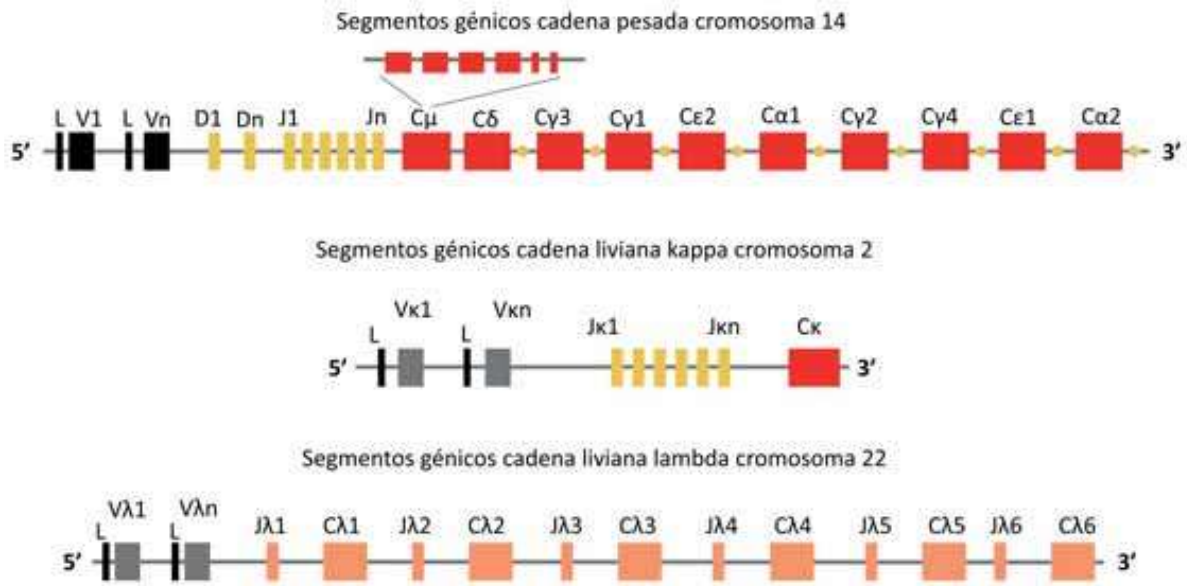
del gen H, las cadenas pesadas se unirán covalentemente a una cadena liviana sustituta, V pre B  $\lambda 5$ , (puesto que aún no ha ocurrido el reordenamiento génico que permitirá generar el gen L,) y se ensamblarán con el complejo accesorio  $Ig\alpha/Ig\beta$ , para expresarse finalmente como un pre-BcR, en la membrana de la célula en diferenciación (célula preB).



**Figura 10-5. Esquema de diferenciación antígeno independiente, de linfocitos T en la médula ósea de mamíferos.**

La expresión de este complejo en la membrana, inducirá la detención de todo reordenamiento génico para la cadena pesada H y activará la recombinación de los segmentos génicos de la cadena liviana. Luego de la recombinación de los segmentos génicos para la cadena liviana y de la transcripción y traducción, tanto del gen para la cadena pesada, como del gen para la cadena liviana, las moléculas de proteína se ensamblarán finalmente con el complejo accesorio  $Ig\alpha/Ig\beta$ , para expresarse como un BcR funcional completo de tipo IgM, en la membrana del linfocito B inmaduro, que en su etapa final de diferenciación expresará simultáneamente tanto BcR que contienen IgM como receptores que contienen IgD, convirtiéndose en un linfocito B virgen y maduro, que podrá incorporarse al repertorio linfocitario periférico (figura 10-6).

### Localización de segmentos génicos para cadenas pesadas y livianas en humanos



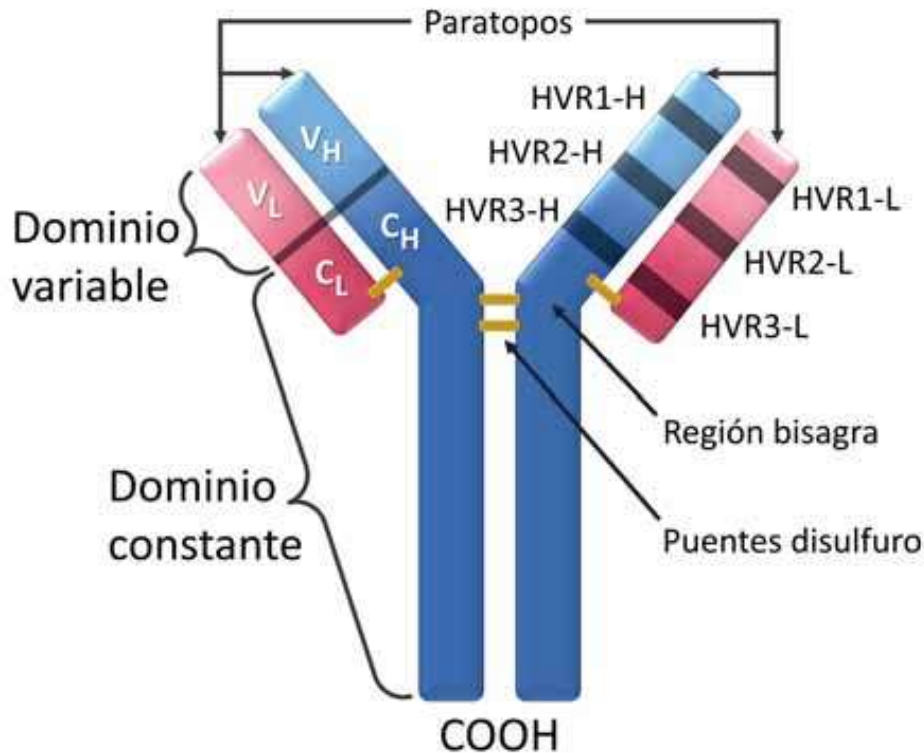
**Figura 10-6. Organización de las distintas familias de segmentos génicos para cadenas pesadas y livianas.** Pesadas (minigenes VH, DH, JH y CH en el cromosoma 14) y Livianas (isotipo kappa en el cromosoma 2 e isotipo lambda en el cromosoma 22 humano)

### 3.2. Linfocitos B y respuesta inmune humoral

En los últimos años ha habido considerable progreso en la comprensión de los mecanismos celulares y moleculares involucrados en la enorme diversificación del repertorio linfocitario, en la generación de los distintos tipos de linfocitos de memoria y de anticuerpos, de sus distintas funciones efectoras, de sus diferentes afinidades por los epitopos antigénicos y de su rol en el desarrollo de inmunidad y autoinmunidad.

El tamaño y diversidad del repertorio linfocitario, aumenta la probabilidad que el sistema inmune reconozca un determinado antígeno, desencadenando la activación y proliferación o expansión clonal de los linfocitos-antígeno-específicos que solo después de proliferar se diferenciarán en linfocitos efectoras, de manera que la respuesta linfocitaria será siempre clonal.

Las cadenas livianas de Inmunoglobulinas están constituidas por 220 aminoácidos separados en dos regiones o dominios estructural y funcionalmente distintos: un dominio Variable ( $V_L$ ) aminoterminal de 110 aminoácidos y un dominio Constante ( $C_L$ ) carboxiterminal, que también contiene 110 aminoácidos. De manera similar, en el extremo amino de la cadena pesada, también se ha descrito un dominio Variable ( $V_H$ ) aminoterminal de 110 aminoácidos y un dominio Constante ( $C_H$ ) de mayor tamaño que contendrá 440 o 330 aminoácidos, según el isotipo o clase de cadena pesada (Figura 10-7).



**Figura 10-7. Esquema estructural de una molécula de inmunoglobulina.**

La comparación de las secuencias aminoacídicas de distintas cadenas livianas ha permitido establecer que el dominio VL contiene tres pequeñas regiones de inmunoglobulinas, permite establecer que en la región o dominio variable existen tres pequeñas regiones hipervariables (“**HVR: HyperVariable Regions**”), de 10 aminoácidos, también conocidas como CDR (por “**Complementary Determining Region**”), puesto que forman parte del paratopo y son complementarias de grupos químicos o regiones específicas del epítipo antigénico que será reconocido por ese paratopo). Estas pequeñas regiones hipervariables se designan (en dirección amino-carboxilo), como **HVR1** (o **CDR1** situada entre los aminoácidos 25-35), **HVR2** (o **CDR2** entre los aminoácidos 50-60) y **HVR3** o **CDR3** entre los aminoácidos 90 y 100).

En la región o dominio variable de las cadenas pesadas, también existen 3 pequeñas regiones hipervariables ubicadas en posiciones similares a las de las cadenas livianas y, que también forman parte del paratopo.

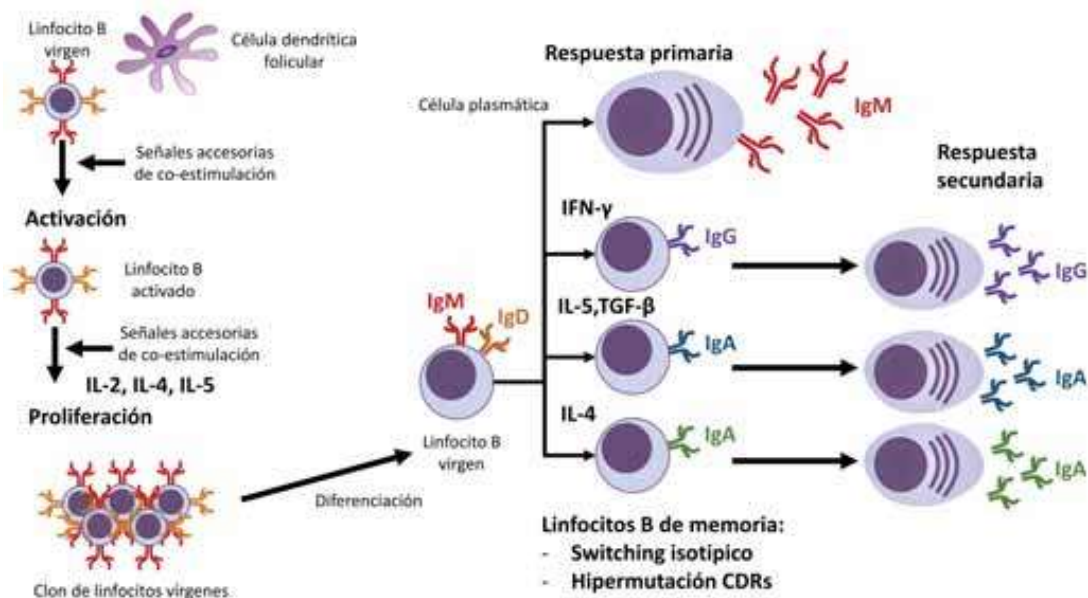
Variaciones en la región constante de las cadenas pesadas, permiten distinguir 5 clases, tipos o isotipos de cadenas pesadas, denominadas  $\mu$  y  $\epsilon$  (que contienen 4 dominios CH, de 110 aminoácidos) y  $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\gamma$  (que contienen 3 dominios CH de 110 aminoácidos).

La clase de cadena pesada que forma parte de un anticuerpo, determina así la clase, tipo o isotipo del anticuerpo (en un mismo individuo).

De esta manera, en un individuo existirán: (i) Anticuerpos IgM, que contienen cadena pesada  $\mu$ , (ii) Anticuerpos IgD, que contienen cadena pesada  $\delta$ , (iii) Anticuerpos IgG, que contienen cadena pesada  $\gamma$ , (iv) Anticuerpos IgA, que contienen cadena pesada  $\alpha$  y (v) Anticuerpos IgE que contienen cadena pesada  $\epsilon$ .

La IgM y la IgE tienen cadenas pesadas con 550 aminoácidos (110 en la región variable VH y 440 aminoácidos en la región constante CH), que se distribuyen en 4 dominios llamados CH1, CH2, CH3 y CH4, en dirección desde el extremo amino al extremo carboxilo). En cambio, IgG, IgA e IgD, contiene cadenas pesadas con 440 aminoácidos (110 en la región V<sub>H</sub> y 330 en la región constante C<sub>H</sub>) distribuidos en 3 dominios constantes: CH1, CH2 y CH3 en dirección amino a carboxilo).

Luego del reconocimiento de antígenos solubles o antígenos presentados en la membrana de células dendríticas foliculares, los linfocitos inician una serie ordenada de eventos de activación, proliferación y diferenciación para generar células plasmáticas secretoras de anticuerpos y linfocitos B de memoria. En los linfocitos de memoria ocurre un proceso de recombinación génica de los segmentos génicos que codifican la región constante de cadena pesada (switching isotípico y cambio de la función efectora del anticuerpo) y un aumento en la afinidad de los paratopos como consecuencia de un fenómeno de hipermutación de las regiones hipervariables o CDRs, de cadenas pesadas y livianas (figura 10-8).



**Figura 10-8. Linfocitos B y respuesta inmune en órganos linfoides secundarios.**

Ahora bien, los linfocitos B vírgenes, contienen en su membrana monómeros de IgM e IgD, en forma de monómero de Ig (constituido por 2 cadenas livianas y 2 cadenas pesadas). Cuando, luego de su activación y proliferación, un linfocito B vírgen (Bv) se diferencia en célula plasmática, esta sintetizará y secretará la misma IgM presente en la membrana del linfocito B que le da origen, pero en forma de Ig polimérica (anticuerpo polimérico en forma de pentámero o hexámero de

IgM)), que tendrá los mismos paratopos y por lo tanto especificidad por el mismo epítipo antigénico que la Ig de membrana del linfocito Bv.

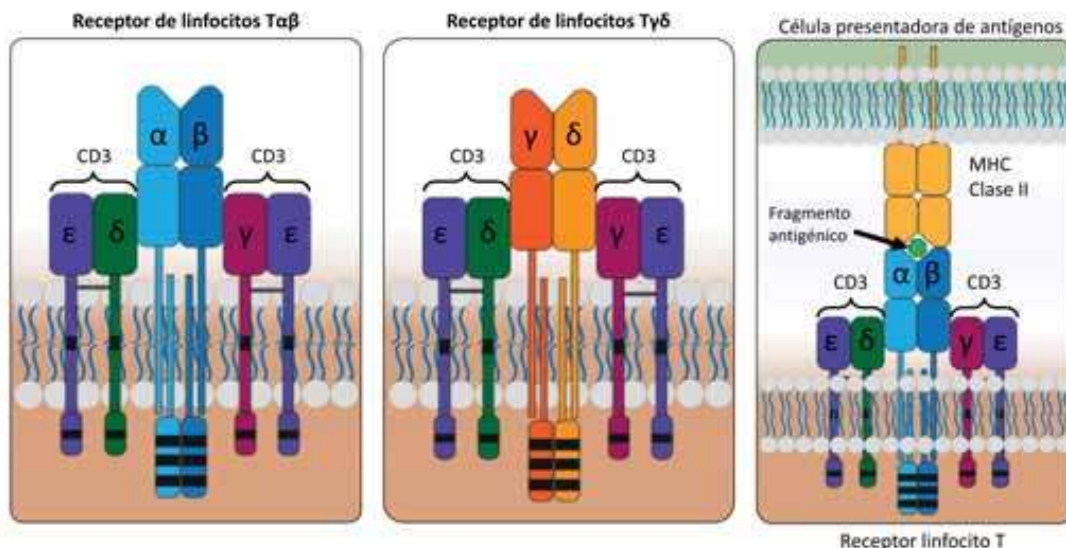
En cambio, cuando un linfocito B virgen se diferencia en linfocito B de memoria, cambiará la región constante de la cadena pesada, reemplazando la cadena  $\mu$ , por otro isotipo distinto, generando 4 tipos distintos de linfocitos B de memoria (Bm): los que tienen cadena pesada  $\gamma$  (IgG), los que tienen cadena pesada  $\alpha$  (IgA), los que tienen cadena pesada  $\epsilon$  (IgE) y otros que mantendrán la cadena pesada  $\mu$ . En los linfocitos Bv o Bm, la Ig de membrana es siempre un monómero.

## 4. LINFOCITOS T

### 4.1. Receptor de linfocitos T (TcR)

El TcR), es un heterodímero glicoproteico transmembrana, que incluye dos subunidades estructural y funcionalmente distintas (y no covalentemente unidas entre sí).

La primera subunidad es el denominado receptor clonotípico formado por dos cadenas polipeptídicas alfa y beta o gamma y delta. (en linfocitos  $T\alpha\beta$  o  $T\gamma\delta$ , respectivamente), unidas por puentes disulfuro y cuyo extremos aminoterminales permite el reconocimiento específico del antígeno (Figura 10-9). La segunda subunidad corresponde al complejo accesorio CD3, responsable del transporte y expresión del TcR en la membrana y de la transducción de señales de activación, cuando el TcR se ha unido a un fragmento antigénico, en el contexto de una molécula presentadora de antígeno, en la membrana de una célula presentadora de antígenos.



**Figura 10-9. Estructura del receptor de linfocitos  $T\alpha\beta$  y  $T\gamma\delta$ .** Ocupando una posición central se encuentra el heterodímero alfa/beta o bien gamma/delta que constituye la subunidad conocida receptor clonotípico, responsable del reconocimiento específico de un fragmento antigénico unido a una molécula presentadora de antígenos, en la membrana de una célula presentadora. La estructura del TcR incluye, además, un complejo accesorio CD3 responsable del transporte y expresión del TcR en la membrana y de la transducción de señales de activación luego del reconocimiento específico del complejo antígeno/molécula presentadora.

El receptor clonotípico es un heterodímero  $T\alpha\beta$  o  $T\gamma\delta$ , que reconoce fundamentalmente fragmentos peptídicos asociados a una molécula de presentación antigénica (moléculas MHC de clase I o MHC de clase II), antígenos glicolípidicos asociados a moléculas CD1 o bien reconocen intermediarios metabólicos de Riboflavina o Acido Fólico unidos a moléculas presentación MR1 (Moléculas MHC-I Related o MHC-I like).

Mientras el repertorio linfocitario B puede reconocer tanto antígenos solubles como de membrana, de naturaleza proteica, hidrocarbonada, lipídica, nucleotídica etc., el repertorio linfocitario T reconoce fundamentalmente fragmentos peptídicos asociados a molécula MHC de clase I o MHC de clase II, en la membrana de células presentadoras de Ag (CPA).

En el repertorio linfocitario B (de  $10^{14}$  linfocito B distintos), se distinguen dos subpoblaciones celulares distintas (denominadas B1 y B2) que presentan características estructurales y funcionales distintas y que se generan a edades distintas durante la ontogenia linfocitaria. Los linfocitos B1 son los responsables de la generación de los anticuerpos naturales, que se producen en ausencia de estímulos antigénico conocido y específico y, por ello, se les considera parte de la inmunidad innata.

En el repertorio linfocitario T ( $10^{18}$  linfocitos T), se distinguen también dos subpoblaciones linfocitarias (denominadas  $T\alpha\beta$  y  $T\gamma\delta$ ), que presentan receptores TcR estructural y funcionalmente distintos. Entre los linfocitos  $T\alpha\beta$  se distinguen además, 3 subpoblaciones celulares distintas denominadas: TCD4+, TCD8+ y NKT; existen además linfocitos TCD4+/TCD8+ (DP =doble positivos) y linfocitos DN (doble negativos, no expresan CD4 y tampoco expresan CD8).

Los linfocitos NKT corresponden a linfocitos  $T\alpha\beta$  que presentan moléculas o marcadores propios de células NK (como por ejemplo, la molécula NK1.1 o CD161).

El 90 a 95% de los linfocitos T corresponden a linfocitos  $T\alpha\beta$ , que reconocen fundamentalmente fragmentos peptídicos unidos a una molécula de presentación MHC, en la membrana de una célula presentadora de antígeno.

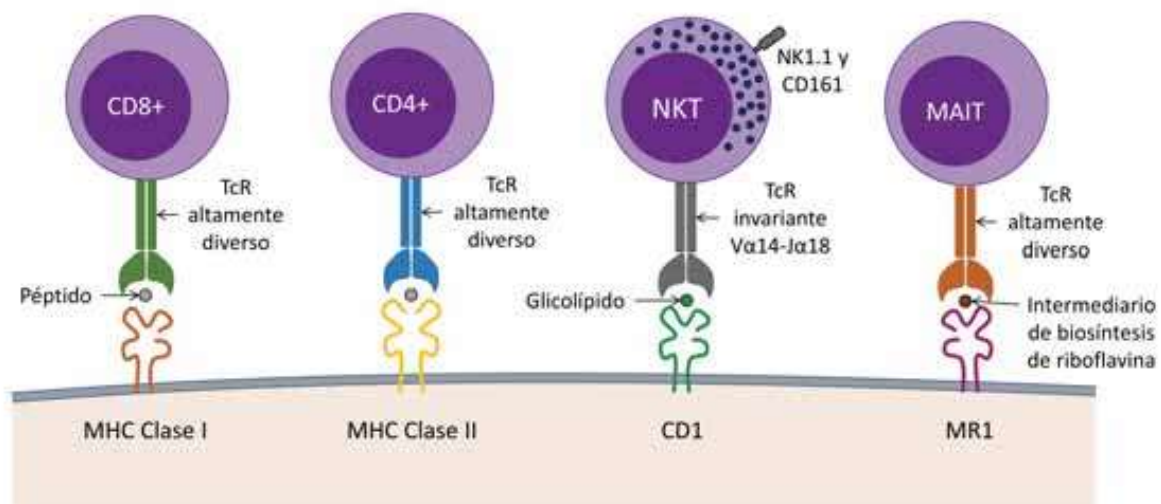
El 5 a 10% restante, corresponden a linfocitos  $T\gamma\delta$  entre los cuales se pueden distinguir linfocitos que reconocen fragmentos peptídicos unidos a moléculas MHC linfocitos  $T\alpha\beta$  que reconocen glicolípidos unidos a moléculas CD1 y, finalmente, linfocito  $T\gamma\delta$  que como los linfocitos B, pueden reconocer directamente diversas moléculas (particularmente compuestos fosforilados).

Los linfocitos  $T\gamma\delta$  se encuentran fundamentalmente en piel y mucosas (linfocitos intraepiteliales, que forman parte de la inmunidad innata) y se generan antes que los linfocitos  $T\gamma\delta$ , durante la ontogenia o diferenciación linfocitaria en el timo.

## 4.2. Subpoblaciones de linfocitos T

Entre los linfocitos  $T\alpha\beta$  se distinguen 4 grupos o subpoblaciones celulares (figura 10-10):

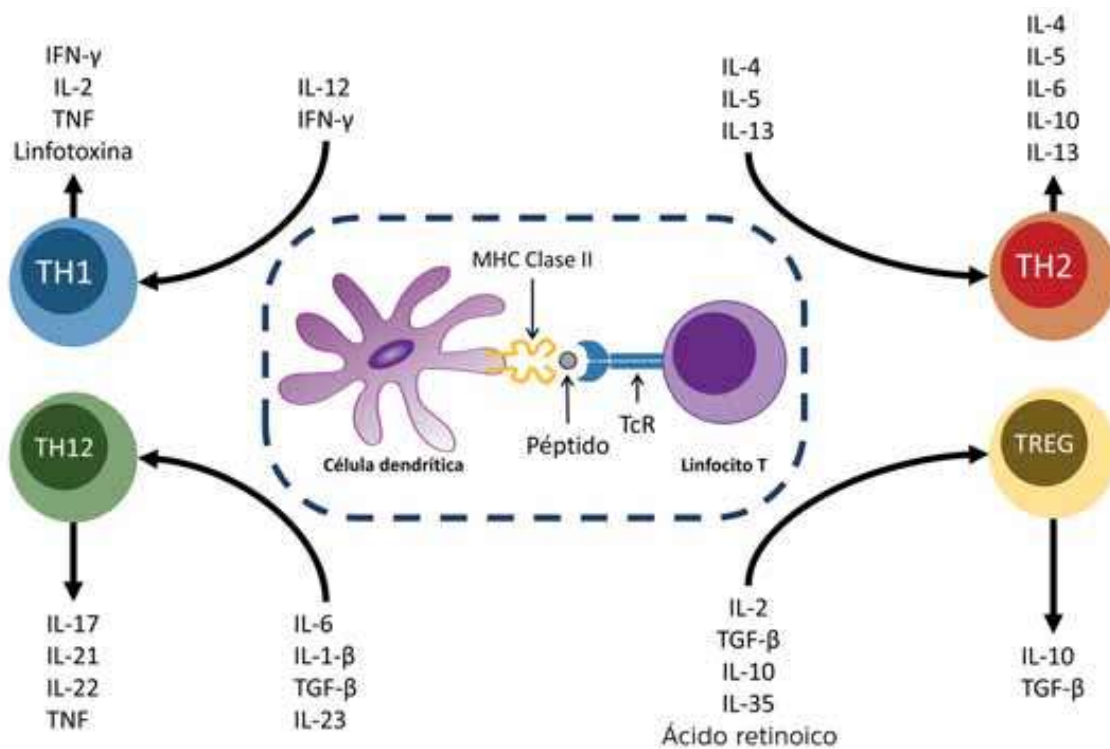
- Linfocitos  $T\alpha\beta$  CD8+, que reconocen fragmentos peptídicos unidos a moléculas MHC de clase I. La molécula CD8 actúa como co-receptor linfocitario, transduciendo una señal accesoria de coestimulación, al reconocer una región conservada de la molécula MHC de clase I.
- Linfocitos  $T\alpha\beta$  CD4+, que reconocen antígenos peptídicos unidos a moléculas MHC de clase II. La molécula CD4 actúa como co-receptor linfocitario, transduciendo una señal accesoria de coestimulación, al reconocer una región conservada de la molécula MHC de clase II.
- Linfocitos NKT, que reconocen antígenos lipídicos unidos a moléculas de presentación llamadas CD1.
- Linfocitos MAIT (Mucosal Associated Invariant T cell) que residen en hígado y en el intestino y reconocen intermediarios metabólicos de Riboflavina o Ácido Fólico unidos a moléculas presentación MR1 (Moléculas “MHC-I Related” o “MHC-I like”).



**Figura 10-10. Esquema del TcR de subpoblaciones linfocitarias  $T\alpha\beta$  y sus respectivas moléculas presentadoras de antígeno, en la membrana de células presentadoras.**

Ahora bien, los distintos linfocitos T sintetizan y secretan un grupo particular de citoquinas que les confieren la capacidad de: activar distintas poblaciones celulares (función “helper”, de colaboración o ayuda); inhibir o suprimir subpoblaciones celulares (función supresora o reguladora) y destruir o eliminar un grupo particular de células (función citotóxica). Sin embargo, aun cuando todos los linfocitos T efectores realizan estas tres funciones, ellos se clasifican en subpoblaciones distintas, en conformidad a la función que realizan con mayor eficiencia. De esta manera se distinguen linfocitos Th (T helper, de colaboración

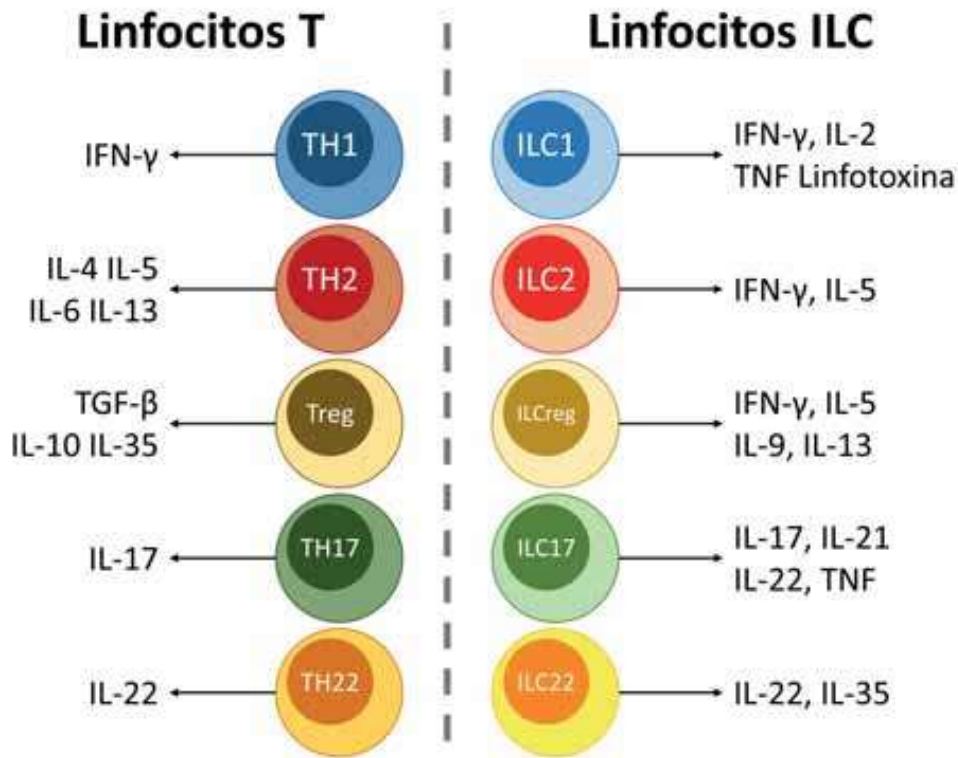
o ayuda), linfocitos Treg (T reguladores o T supresores) y linfocitos Tc (T citotóxicos) (Figura 10-11).



**Figura 10-11. Diferenciación de subpoblaciones celulares T helper, en presencia de distintas citoquinas.** a) En presencia de IL-12 e IFN- $\gamma$ , se generan linfocitos Th1 que secretan IL-2, IFN- $\gamma$ , TNF y Linfotóxina. b) Las citoquinas IL-4, IL-6, e IL-13 inducen la diferenciación de la subpoblación Th2, que secreta IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13. c) La presencia de IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-23 y de TGF- $\beta$ , activa la diferenciación de linfocitos Th17, que secretan IL-17, IL-21 e IL-22. d) Finalmente, en presencia de TGF- $\beta$ , IL-2, IL-10, IL-35 y ácido retinoico, se induce la diferenciación de linfocitos T reguladores, que secretan IL-10 y TGF $\beta$  (Transforming Growth Factor Beta).

La figura 10-12 esquematiza las citoquinas características de Linfocitos T helper y sus homólogos de la inmunidad innata (ILC: Innate Lymphoid Cells).





**Figura 10-12. Linfocitos T helper y sus homólogos ILC, de la inmunidad innata (“ILC: Innate Lymphoid Cells”)**

## 5. CÉLULAS LINFOIDES DE LA INMUNIDAD INNATA

Las células linfoides de la inmunidad innata (ILC: “Innate lymphoid cells”) constituyen una nueva subfamilia de linfocitos que se distingue de los linfocitos T y linfocitos B de la inmunidad adquirida, porque carecen de un receptor clonotípico que reconoce epítopos antigénicos y porque su desarrollo es independiente de la maquinaria de recombinación génica y de la expresión de los genes Rag1 y Rag2 (Rag: recombination activating gene).

Morfológicamente, las ILCs se parecen a linfocitos T y linfocitos B y se desarrollan a partir de un progenitor linfoide común (CLP: Common lymphoid progenitor), que expresa CD127 (también conocido como el receptor IL-7R $\alpha$ ).

Además, las células ILC maduras expresan moléculas de superficie y moléculas efectoras de subpoblaciones de linfocitos T diferenciados y cuya expresión encuentra bajo el control de factores de transcripción específicos, lo que apoya su similitud con sus homólogos celulares de la inmunidad adquirida. Sin embargo, a diferencia de la respuesta linfocitaria que requiere de varios días o semanas para completar la diferenciación celular, las ILC son células efectoras tempranas de la respuesta inmune, y que responden en pocas horas, luego de su activación.

Las células linfoides ILC de la inmunidad innata (ILC: Innate Lymphoid Cells), constituyen, entonces, una nueva familia de células efectoras linfoides, que parecen constituir el homólogo innato, de linfocitos T efectoras diferenciados.

Se han identificado, hasta ahora, 3 grupos de ILCs, llamadas ILC1, ILC2 e ILC3, sobre la base de la expresión de citoquinas y el requerimiento de factores de transcripción específicos, que resultan esenciales para su diferenciación y que, hasta ahora, se habían asociado al desarrollo de los linfocitos T helper (Th1, Th2 y Th17 respectivamente).

Las ILC1 producen citoquinas del tipo Th1 como IFN- $\gamma$  y TNF e incluye a las células NK convencionales (cNK) y otras células productoras de IFN- $\gamma$ .

Las células ILC2 producen citoquinas del tipo Th2 como IL-5, IL-9 e IL-13 e incluye células como los nuocitos, natural helper cells e innate helper 2 cells.

Las células ILC3 secretan citoquinas del tipo TH17, y comprende distintas subpoblaciones fenotípicas, incluyendo células LTi (lymphoid tissue inducer) y células que expresan el receptor NCR (natural cytotoxicity receptor) y producen citoquinas del tipo Th17 (como IL-17A e IL-22).

Existe una notable similitud entre los factores de transcripción específicos requeridos para el desarrollo y diversificación de distintos grupos de células ILC, y aquellos requeridos para la diferenciación de linfocitos T helper.

Las ILCs promueven la inmunidad innata contra diversos patógenos en el intestino.

- (a) Las ILC1s promueven la inmunidad innata contra patógenos intracelulares como ***Toxoplasma gondii***, produciendo TNF e IFN- $\gamma$  en respuesta a IL-12 producida por células dendríticas, promoviendo el subsecuente reclutamiento de células inflamatorias mieloides.
- (b) En la infección con parásitos helmintos (***N. brasiliensis*** o ***T. muris***), las ILC2s producen IL-13 en respuesta a IL-25, IL-33 y TSLP, derivadas de células epiteliales, aumentando la contractibilidad de la musculatura lisa y la producción de mucus por las células caliciformes ("goblet cells").
- (c) Las ILC3s producen IL-17 e IL-22 en respuesta a IL-23 e IL-1 $\beta$  derivadas de células dendríticas y que promueven la inmunidad innata contra hongos y bacterias extracelulares como ***C. rodentium*** y ***C. albicans***. IL-17 e IL-22 promueven el reclutamiento de neutrófilos en el intestino y la producción de péptidos antimicrobianos por las ILCs.

Las ILCs son amplificadas en diversas enfermedades inflamatorias que afectan la función de la barreras epiteliales contribuyendo así al desarrollo de patología. En la dermatitis atópica aumenta el número de células ILC2s y las células ILC3

son amplificadas en las lesiones de los individuos con psoriasis y producen IL-22, que probablemente contribuye al desarrollo de acantosis o engrosamiento de la piel que caracteriza a esta enfermedad. Las células ILC que producen IL-17-pueden aumentar la inflamación de la piel y las ILCs que producen IFN- $\gamma$  e IL-17 pueden contribuir al desarrollo de enfermedades inflamatorias intestinales en ratones. Finalmente células ILCs que producen IFN- $\gamma$  se encuentran claramente amplificadas en el tejido intestinal inflamado de pacientes que sufren de la enfermedad de Crohn's. La tabla 10-1 muestra las citoquinas y factores de transcripción expresados por células ILC.

**Tabla 10-1. Citoquinas y factores de transcripción expresados por células ILC**

Estímulo por citoquinas	Diferenciación en subpoblación ILC	Expresión de Factores de transcripción	Citoquinas secretadas
IL-12, IL-15	ILC1 (como NK, controlan bacterias intracelulares)	T-bet	IFN $\gamma$ , IL-2, TNF, Linfotóxina
IL-12, IL-12, IL-15 e IL-18, IL-25, IL-33, TSLP (ThymicStromal Lymphopoietin)	Incluye ILC2, NK y helperlikeILC2. (son estimuladas por unión de receptor de activación NK2GD)	GATA3, EOMES (eomesodermin) NK (T-bet)	INF $\gamma$ , IL-5, IL-9, IL-13 Amphiregulinis a growth factor). Responden a infecciones por helmintos activando macrófagos y eosinófilos e hiperplasia de células caliciformes
IL-1, $\beta$ , IL-6, IL-23 y de TGF- $\beta$	ILC3	ROR $\gamma$ t,	IL-17, IL-21, IL-22, TNF. Activan granulocitos y controlan bacterias extracelulares y hongos

ROR, Retinoic-acid-receptor related Orphan Receptor

## 6. MEMORIA INMUNOLÓGICA E INMUNIDAD DE ENTRENAMIENTO (“Trained Immunity”)

La memoria inmunológica se ha definido tradicionalmente como una característica fundamental de la inmunidad adquirida.

Cuando linfocitos T o B se encuentran por primera vez con el antígeno, ellos se activan. proliferan y diferencian en células efectoras y células de memoria que conservan el mismo receptor linfocitario y responden de manera más rápida y con mayor intensidad frente a un segundo encuentro con el mismo antígeno (concepto de memoria inmunológica).

Sin embargo esta capacidad ha sido extendida a linfocitos de la inmunidad innata (células NK e ILC2), células epiteliales y células mieloides como monocitos y macrófagos activados por  $\beta$  glucanos que adquieren una mayor actividad fagocítica y alta producción de citoquinas, promoviendo protección contra ciertos patógenos.

En enfermedades respiratorias alérgicas, luego del encuentro con el alérgeno el epitelio pulmonar se daña y libera las alarminas IL-25 e IL-33 que activan células ILC2 que, además de proliferar y producir citoquinas de tipo Th2 y adquieren características similares los linfocitos de memoria, lo que ha conducido a proponer el concepto de “**inmunidad de entrenamiento**” (“**trained immunity**”) para describir esta respuesta más eficiente y más rápida “memory like” de la inmunidad innata y distinguirla de la memoria inmunológica propia de linfocitos T y linfocitos B.

## 7. LECTURAS SUGERIDAS

Biram A. Shulman, Z. 2020. T cell help to B cells: Cognate and atypical interactions in peripheral and intestinal lymphoid tissues. *Immunol. Reviews.*296: 36-47.

Bluestone, J. A, and Anderson, M. 2020. Tolerance in the Age of Immunotherapy. *N Engl J Med* 383: 1156-1166.

Josefowicz, S. Z., Lu, Li Fan, Rudensky, A. Y. 2012. Regulatory T cells: mechanisms of differentiation and function. *Annu Rev Immunol* 30:531-564.

Bhaskaran, P. P., Zou M, Schneider E, Jayaraman S, Huehn J. 2019. Microbiome dependent regulation of Tregs and Th17 cells in mucosa. *Front Immunol* 10: 1-17.

Faigebaum, D. C. David C. and June, C. H.. 2019. Cytokine Storm *N. Engl. J. Med,* 383:225-227.

Hua, Z., Hou, B. 2020. The role of B cell antigen presentation in the initiation of CD4+ T cell response *Immunol.* 296:24-35.

Inoue T, Moran I, Shinnakasu R, Phan TG, Kurosaki T. 2018. Generation of memory B cells and their reactivation. *Immunol Rev.* 283:138-149.

Dhenni, R., Phan, T. G. 2020. The geography of memory B cell reactivation in vaccine induced immunity and in autoimmune disease relapses *Immunol. Reviews.* 296:62-86.

Weisel F, Shlomchik M. 2017. Memory B cells of mice and humans. *Annu Rev Immunol.* 35:255-284.

- Cancro MP. 2020. Age-associated B cells. *Annu Rev Immunol.* 38: 315-340.
- Shinnakasu R, Kurosaki T. 2017. Regulation of memory B and plasma cell differentiation. *Curr Opin Immunol.* 45:126-131.
- Masopust D, Soerens AG. 2019. Tissue-resident T cells and other resident leukocytes. *Annu Rev Immunol.* 37:521-546.
- Nutt SL, Hodgkin PD, Tarlinton DM, Corcoran LM. 2015. The generation of antibody-secreting plasma cells. *Nat Rev Immunol.* 15:160-171.
- Biram A, Davidzohn N, Shulman Z. 2019. T cell interactions with B cells during germinal center formation, a three-step model. *Immunol Rev.* 288:37-48.
- Chen K, Magri G, Grasset EK, Cerutti A. 2020. Rethinking mucosal antibody responses: IgM, IgG and IgD join IgA. *Nat Rev Immunol.* 20: 427-441.
- Wing, J. B., Lim, E. L., | Sakaguchi, S. 2020. Control of foreign Ag-specific Ab responses by Treg and Tfr. *Immunological Reviews.* 296:104-119.
- Wing JB, Tanaka A, Sakaguchi S. 2019. Human FOXP3(+) Regulatory T cell heterogeneity and function in autoimmunity and cancer. *Immunity.* 50:302-316.
- Frasca, D., Blomberg, B.B., Garcia, D. Keilich, S. R. Haynes, L. 2020. Age-related factors that affect B cell responses to vaccination in mice and humans. *Immunological Reviews.* 296:142-154.
- Vivier E., Artis, d., Colonna, m., Diefenbach,A., Di Santo, J. P., Eberl, G., Koyasu, S., Locksley, R. M., McKenzie, A. N. J.,Mebius, R. E., Powrie, F., Spits, H. 2018. Innate Lymphoid Cells ten years ON *Cell* 164: 1054-1066.
- Eberl, G., Colonna, M., [...], and Andrew N.J. McKenzie, A, N. J., 2015. Innate Lymphoid Cells: a new paradigm in immunology.*Science* 348: 6237.
- Gérard Eberl<sup>1</sup>, Marco Colonna<sup>2</sup>, James P. Di Santo<sup>3</sup>, and Andrew N.J. McKenzie. 2015. Innate Lymphoid Cells: a new paradigm in immunology 348:6237-6279.
- Déchanet-Merville, J., Prinz, I. 2020. From basic research to clinical application of  $\gamma\delta$  T cells. *Immunol Reviews* 298: 5-9.
- Hartigan, C. R., Sun, H., Ford, M. L. 2019. Memory T-cell exhaustion and tolerance in transplantation. *Immunol. Reviews* 292: 225-242.
- Fischer, M. A., Golovchenko, N. B., Edelblum, K., L. 2020.  $\gamma\delta$  T cell migration: Separating trafficking from surveillance behaviors at barrier surfaces. *Immunol. Reviews* 298: 165-180.

Burnett<sup>1</sup>, D. L., Reed, J., H., Christ, D., Goodnow, C. C. 2019. Clonal redemption and clonal anergy as mechanisms to balance B cell tolerance and immunity. *Immunol. Reviews* 292: 261-275.