

Materia Inmunología

Seminario 5

Linfocitos B:

Ontogenia, activación, mecanismos efectores de las inmunoglobulinas.

Año: 2024



*Universidad de Buenos Aires
Facultad de Medicina*

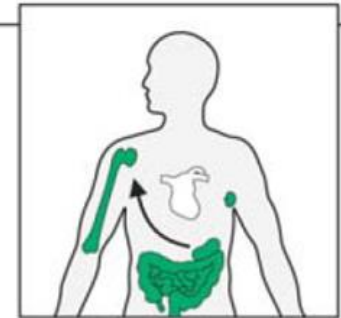
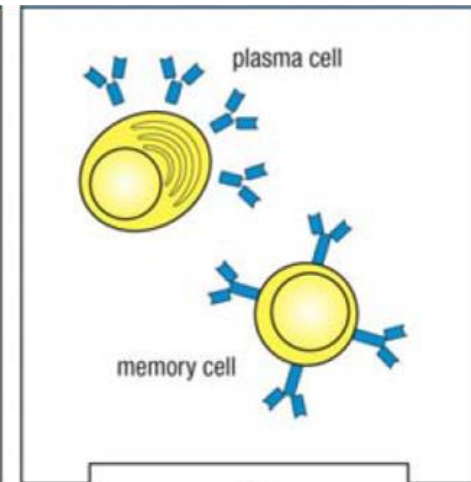
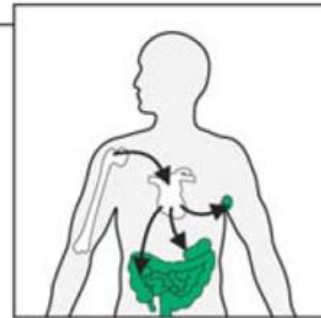
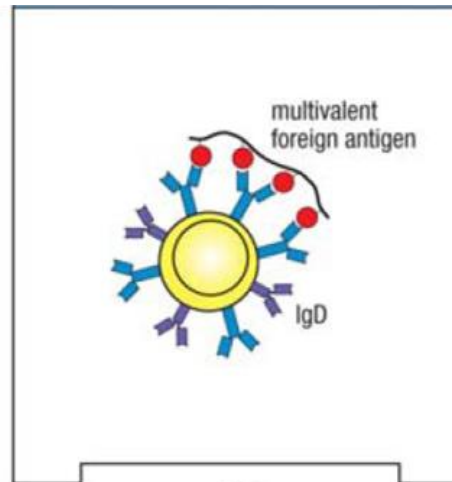
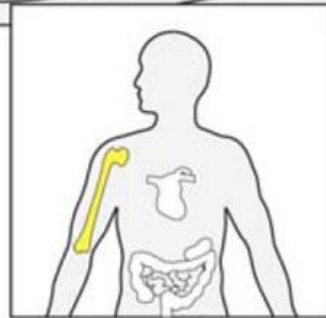
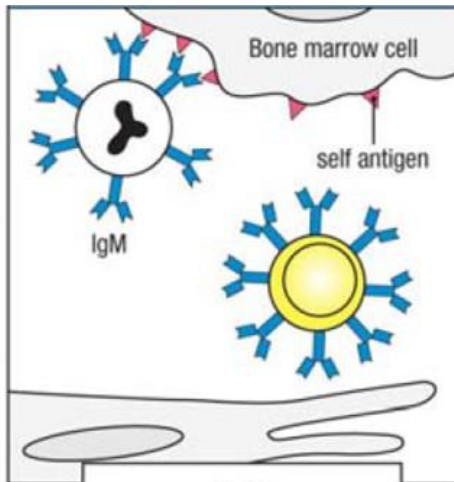
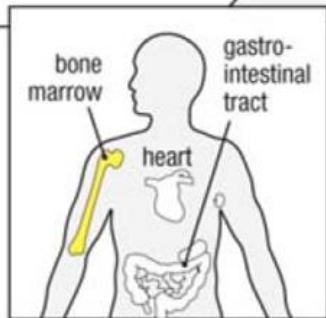
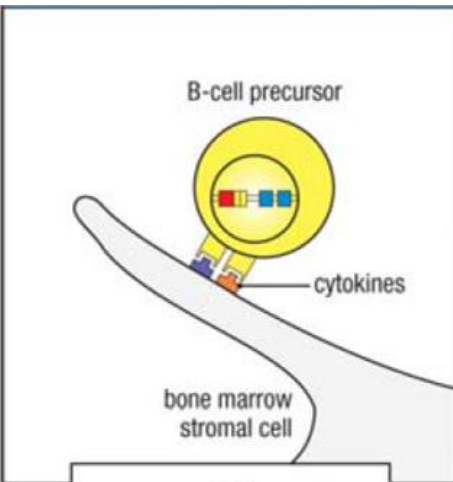
Ciclo de vida del linfocito B (LB)

Los LB surgen a partir de un precursor común en **médula ósea** (progenitor linfoide). Durante la ontogenia de los LB se producen los rearreglos a nivel del ADN para conformar la porción variable del BCR (**recombinación somática**).

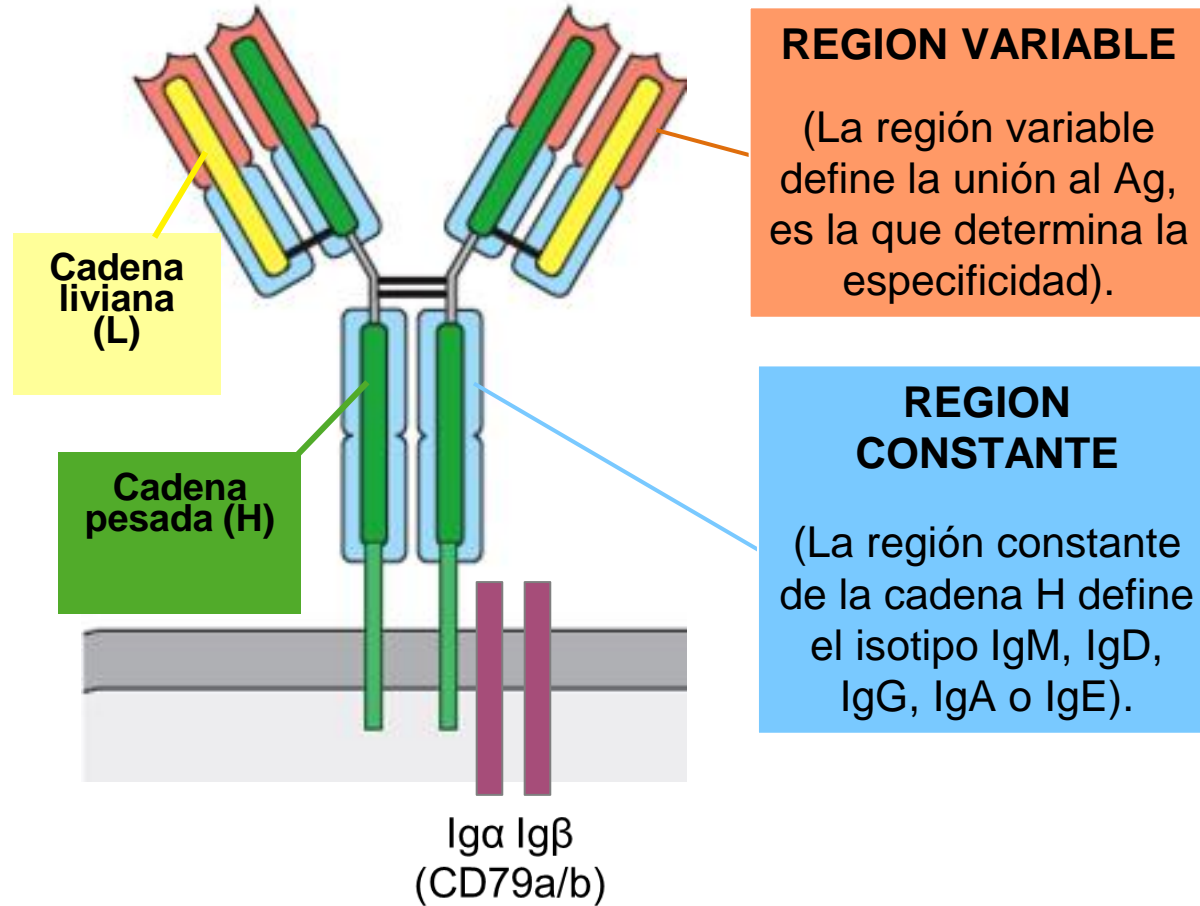
Luego de la recombinación somática, en la médula ósea se eliminarán del repertorio aquellos LB que porten BCR autorreactivos (**tolerancia central**). La maduración del LB se completa en el bazo.

Los **LB maduros naive** recirculan entre los órganos linfáticos secundarios y la circulación general.

Los linfocitos B activados se diferencian a **plasmocitos secretores de anticuerpos** o **LB de memoria**.



Estructura esquemática del BCR y de la inmunoglobulina que lo compone



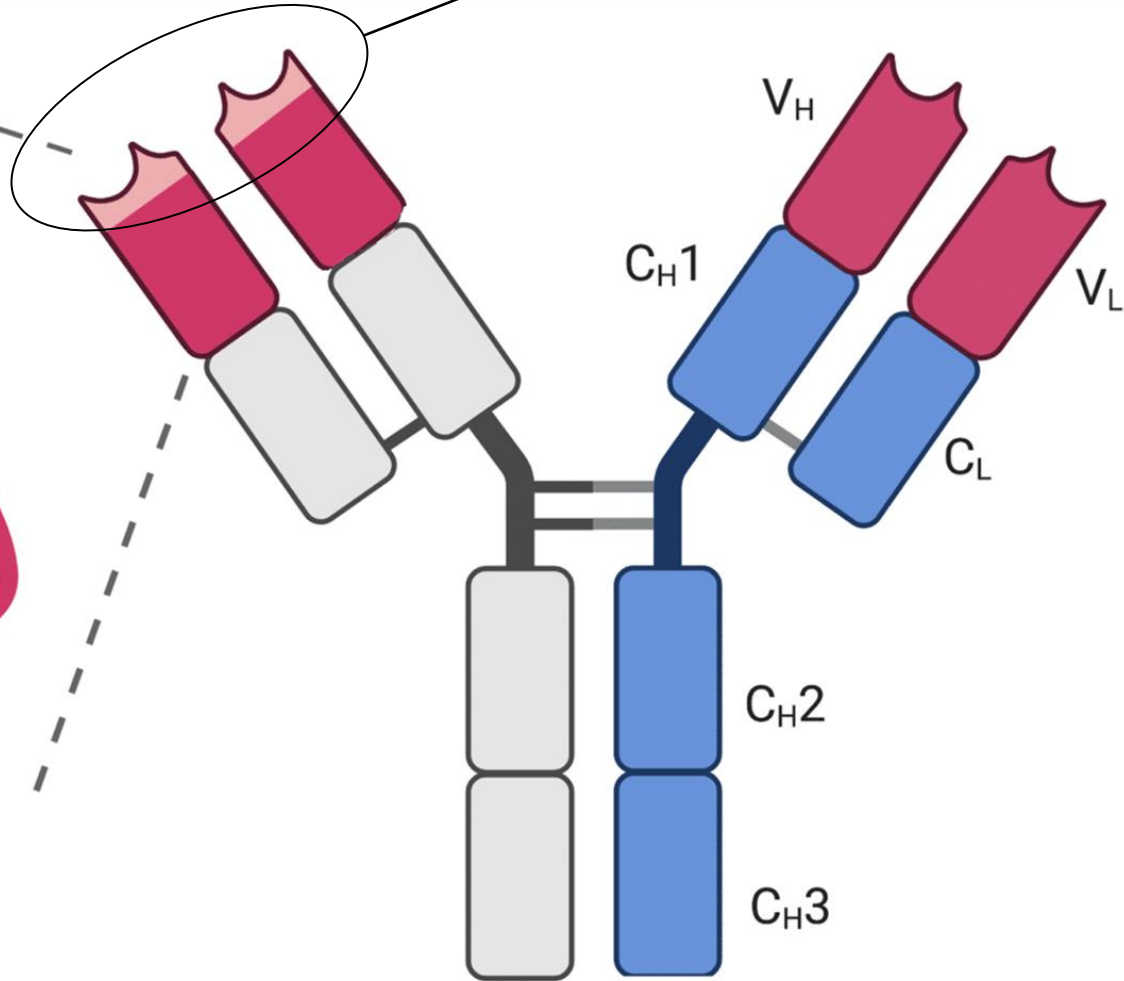
Las porciones hipervariables CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de las cadenas livianas y pesadas constituyen el **PARATOPE** de la inmunoglobulina.

Región variable de la cadena liviana

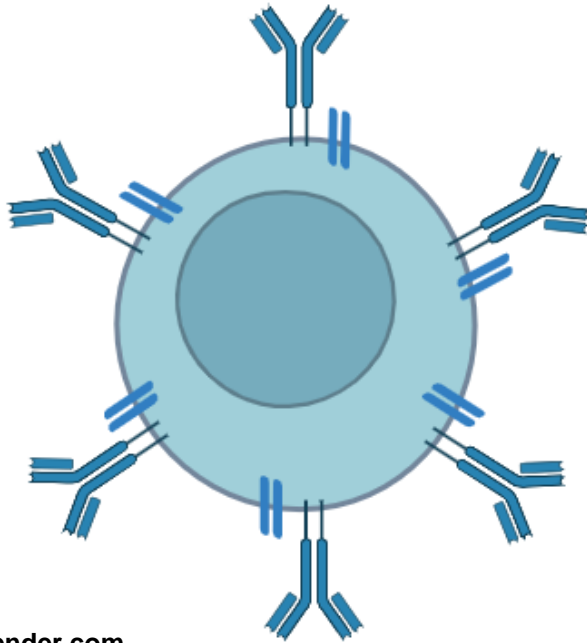
CDR3 CDR1 CDR2

N

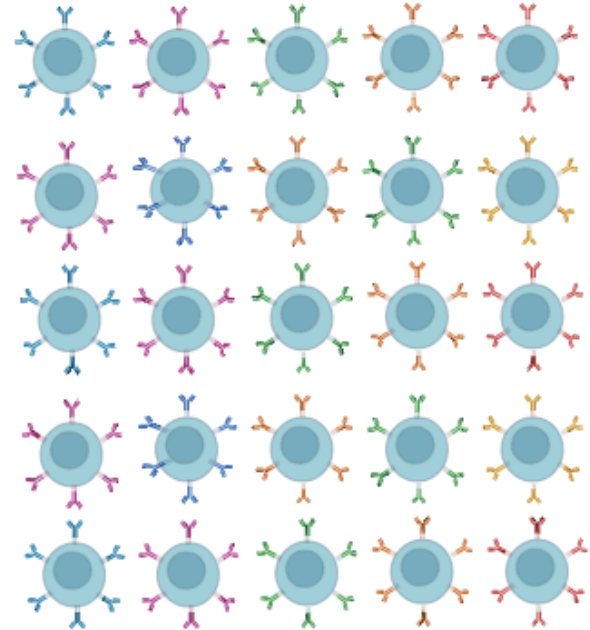
C



Todos los BCR que porta un linfocito B en su superficie tienen la misma especificidad.



Repertorio B

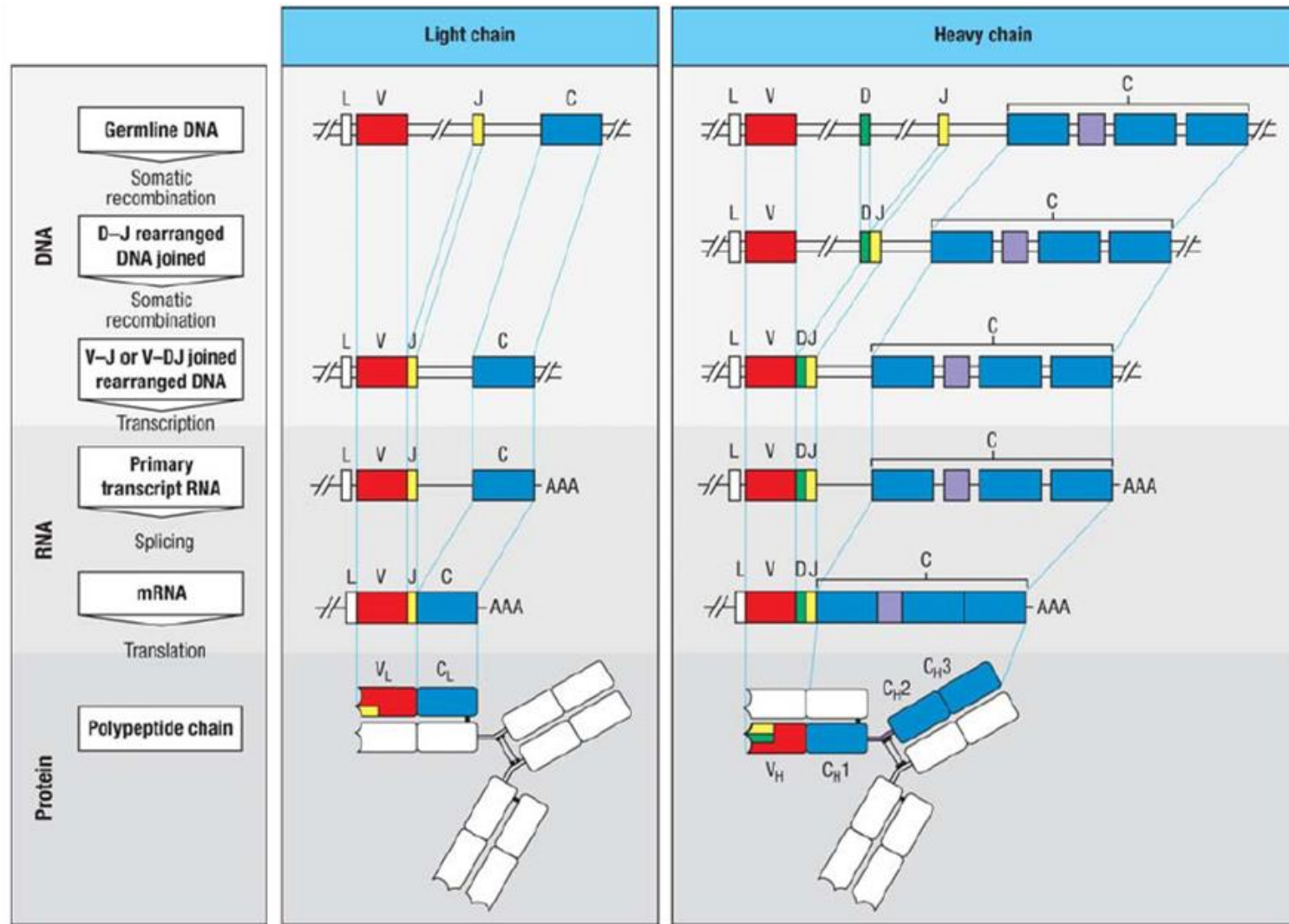


Created with BioRender.com

- Cada linfocito B exhibe en su superficie muchas moléculas de BCR, pero todas presentan la misma especificidad.
- Distintos linfocitos presentan BCR con diferentes especificidades.
- El conjunto de especificidades de todos los linfocitos B de un individuo constituye su repertorio B.

¿Cómo está codificada la información genética para generar tal diversidad de BCRs?

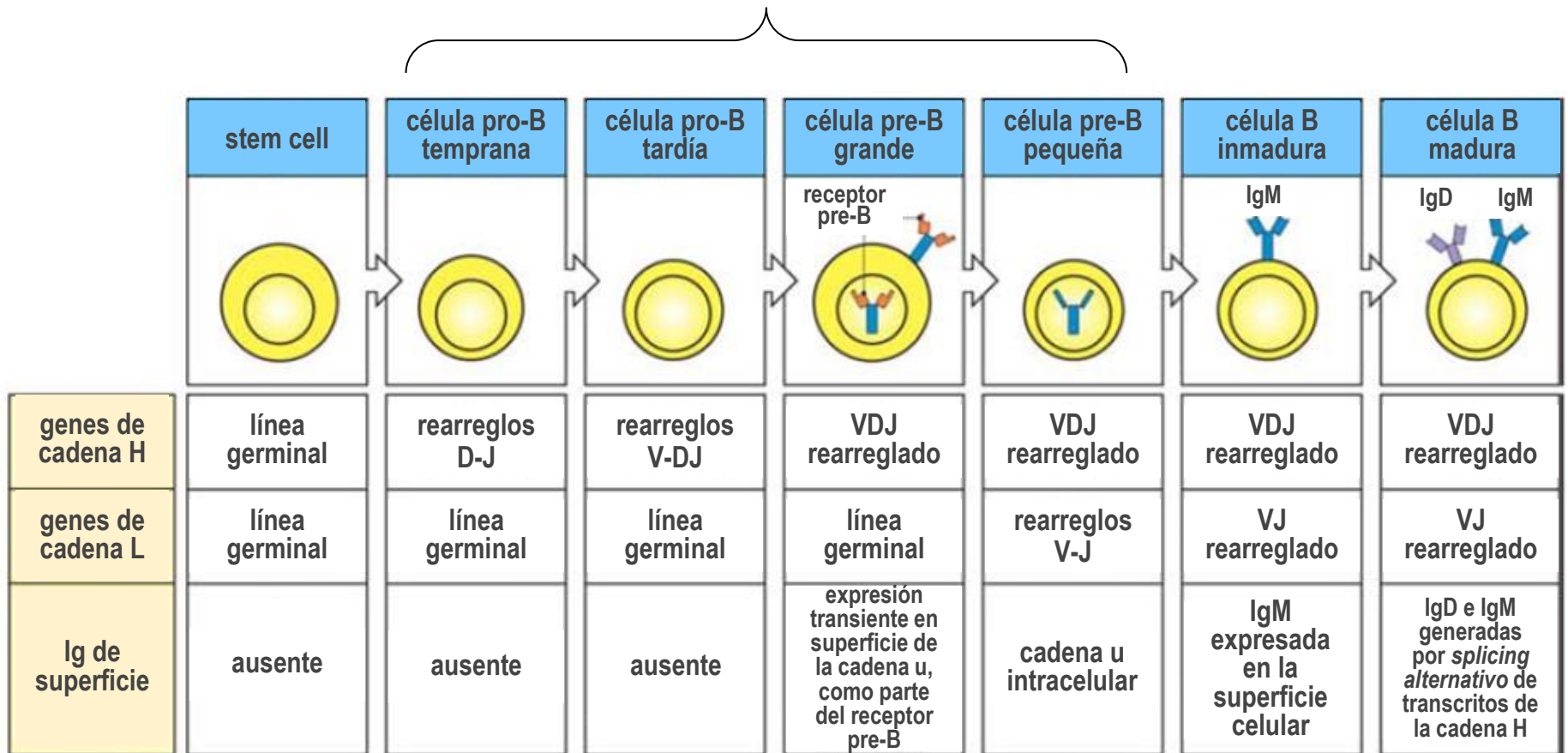
El gen que codifica para la porción variable de la Ig se conforma durante la ontogenia en la médula ósea: Recombinación somática.



Recombinasa V(D)J: es el complejo de enzimas que lleva a cabo la recombinación somática. Los componentes linfoides específicos de la recombinasa son RAG-1 y RAG-2. Los genes que codifican para **RAG1 y RAG2** son esenciales para la recombinación V(D)J y se expresan en los linfocitos en desarrollo, sólo mientras los linfocitos participan en el ensamblaje de sus receptores antígenicos.

¿Cuándo sucede la recombinación somática en los linfocitos B?

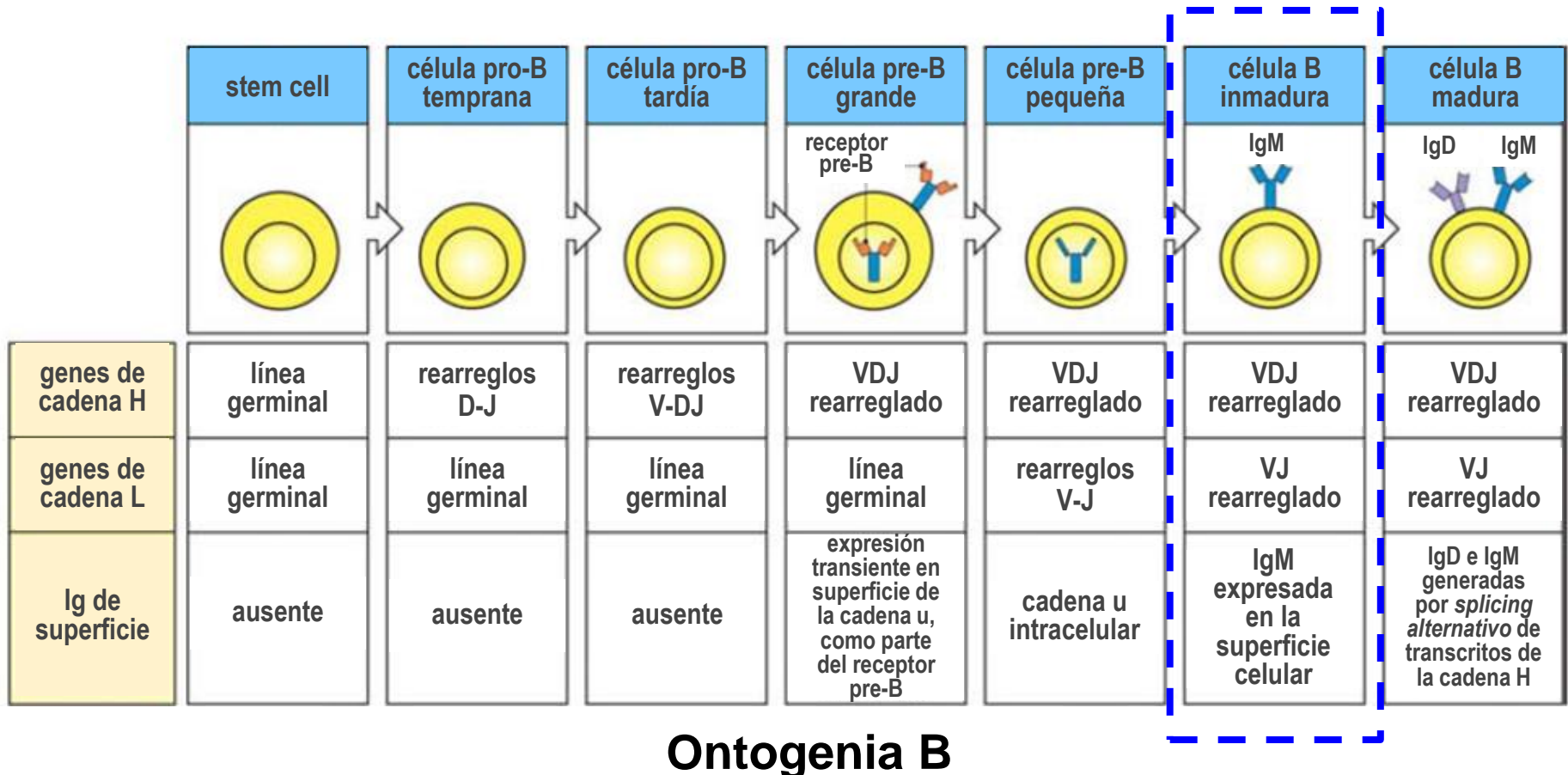
Recombinación somática B: reordenamiento de los genes que codifican para la porción variable del BCR.



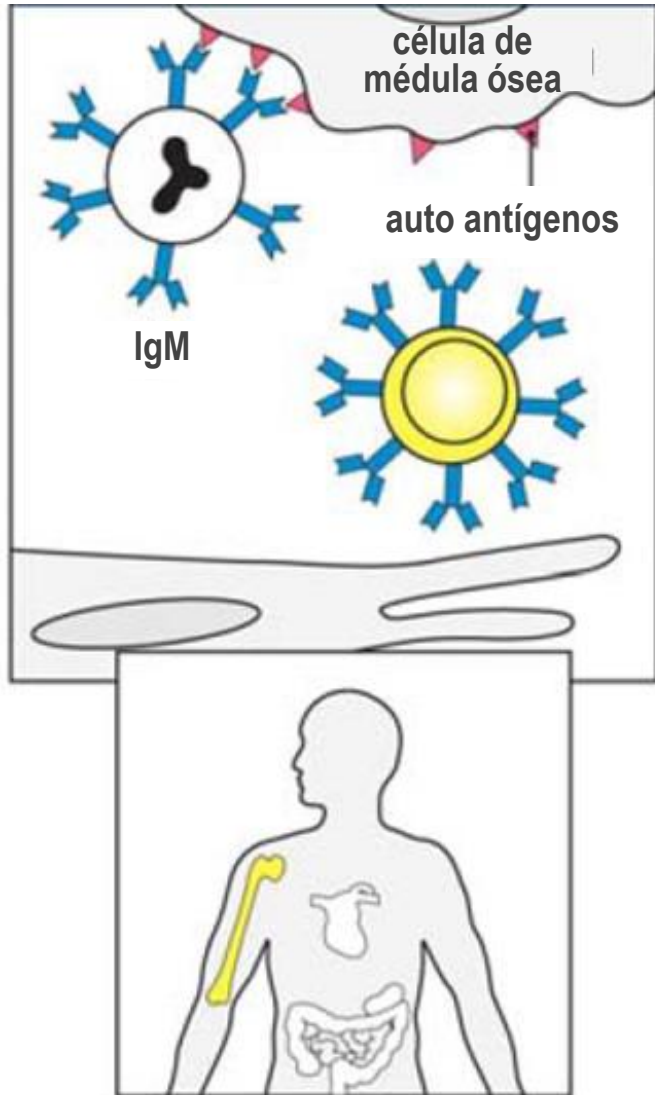
Ontogenia B

Una vez que se produjeron los rearreglos de los genes de la porción variable de las cadenas pesada y liviana, se va a expresar en la membrana el BCR de isotipo IgM y comienza el estadio de B inmaduro.

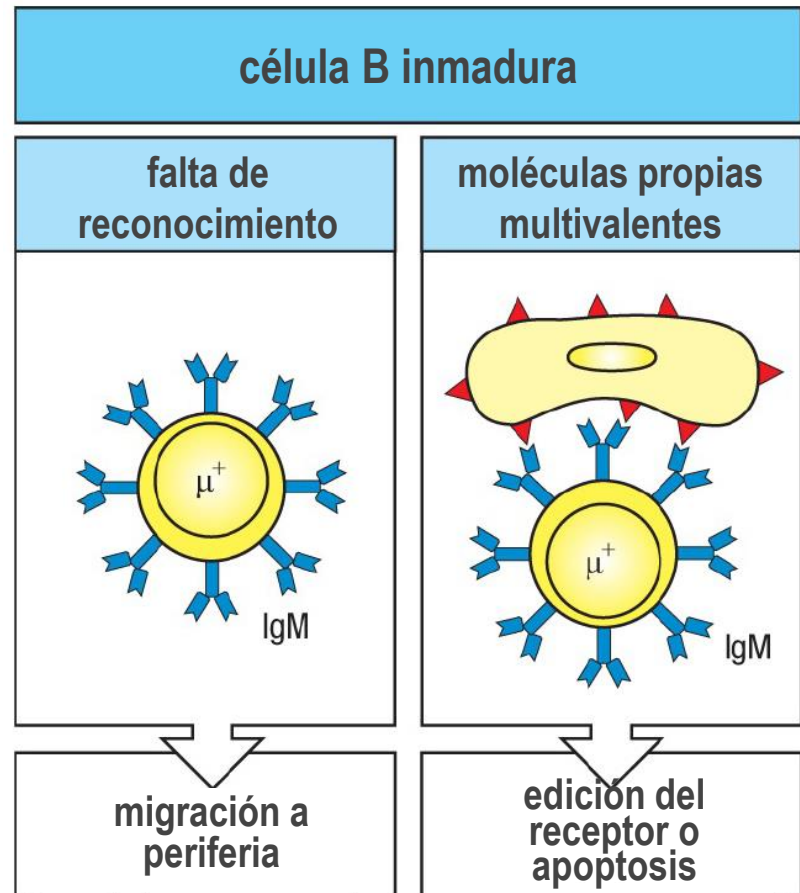
Tolerancia central



Tolerancia central



Durante el estadio de linfocitos B inmaduros, aquellos linfocitos que reconocen auto-antígenos son eliminados del repertorio B por edición del BCR o por apoptosis en la médula ósea.

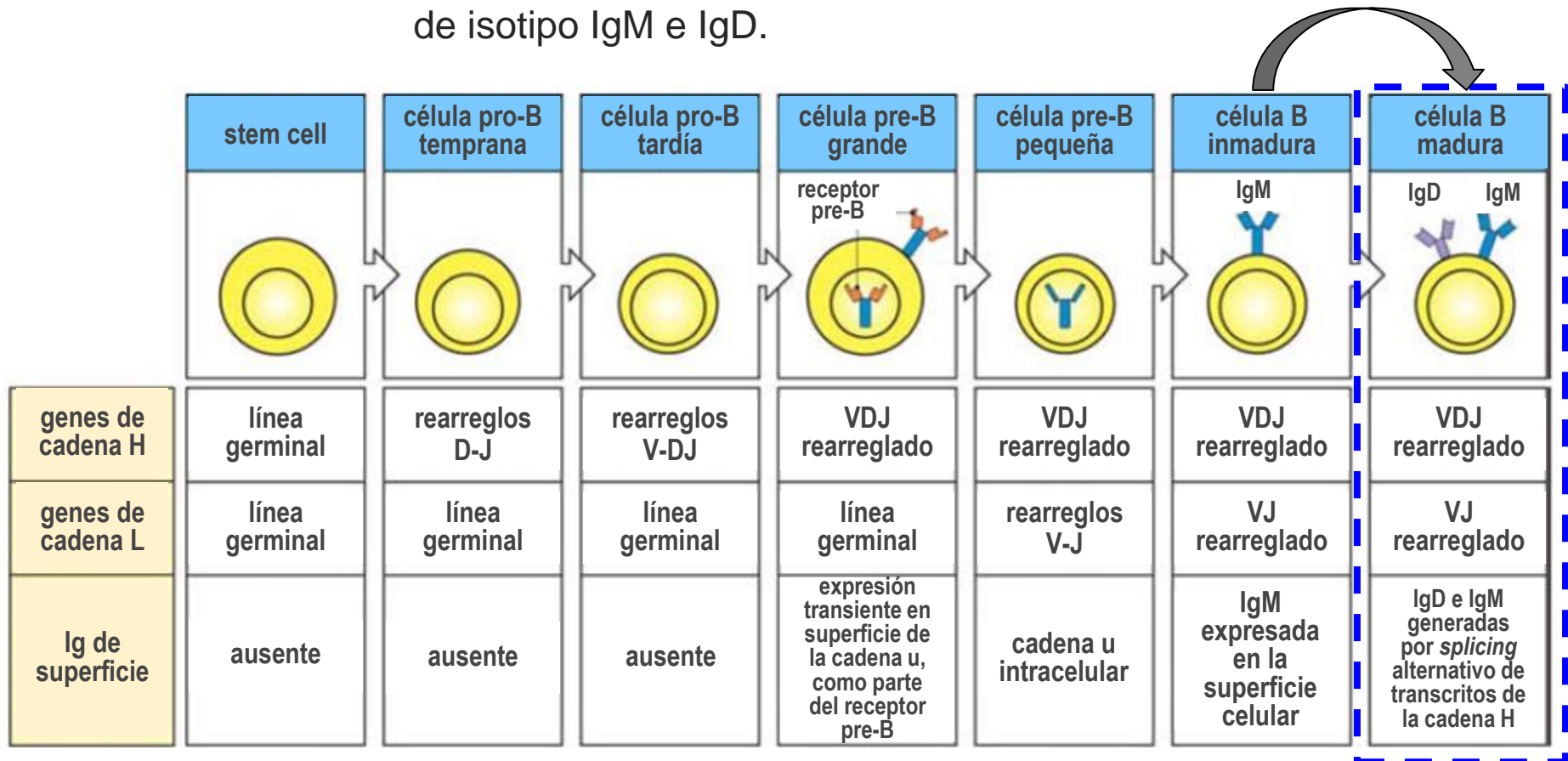


Los LB que emigran de la médula ósea hacia la periferia, aún no están funcionalmente maduros y se denominan **linfocitos B transicionales**.

Durante el estadio transicional aquellos LB que reconozcan autoantígenos periféricos morirán por apoptosis (tolerancia periférica).

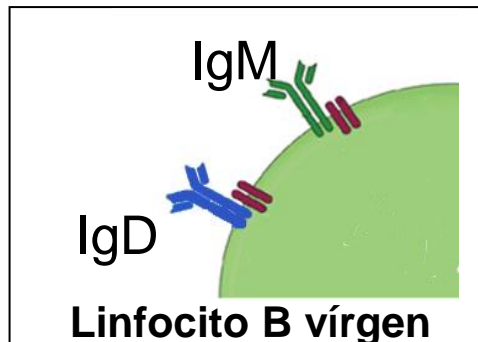
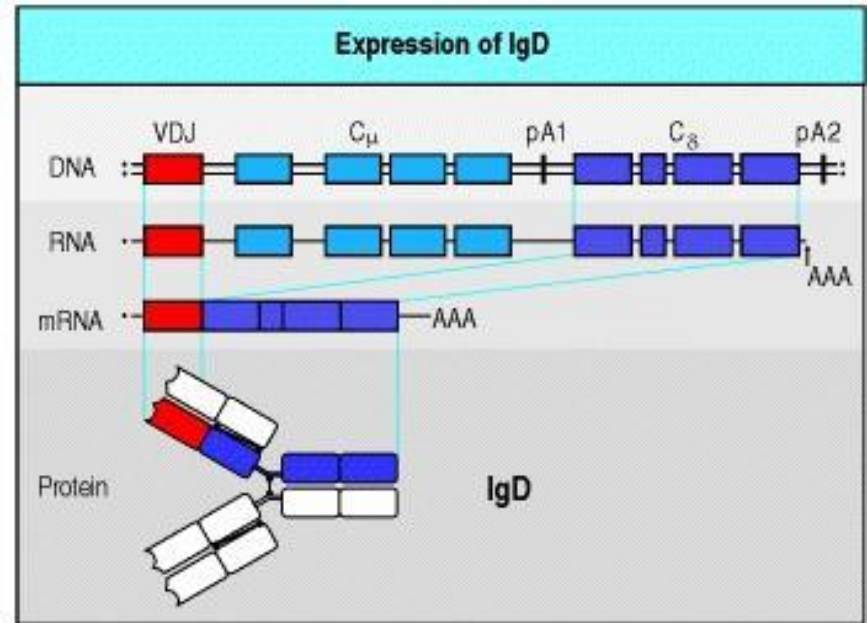
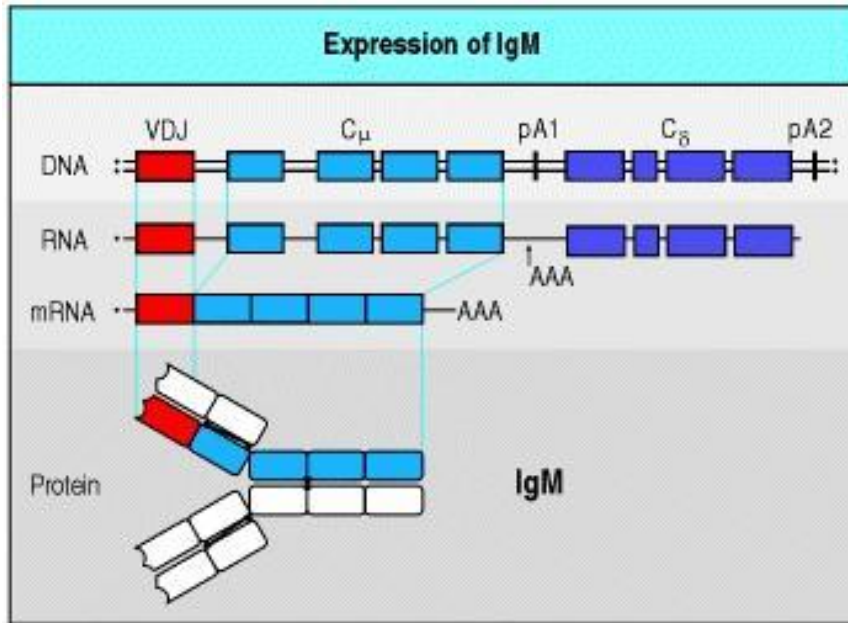
En el bazo los linfocitos completan su maduración. Emigrarán a la circulación general como linfocitos B maduros y vírgenes, con BCRs de isotipo IgM e IgD.

LB transicionales (Bazo)



Ontogenia B

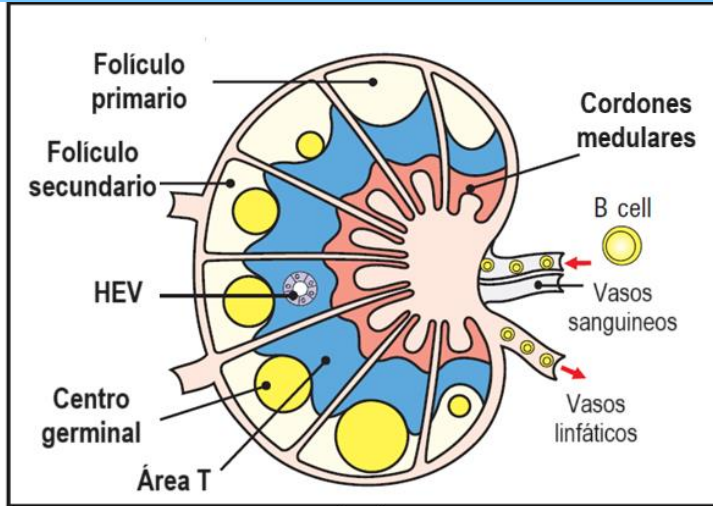
Los linfocitos B maduros y vírgenes expresan en su superficie IgM e IgD como consecuencia de *splicing* alternativo



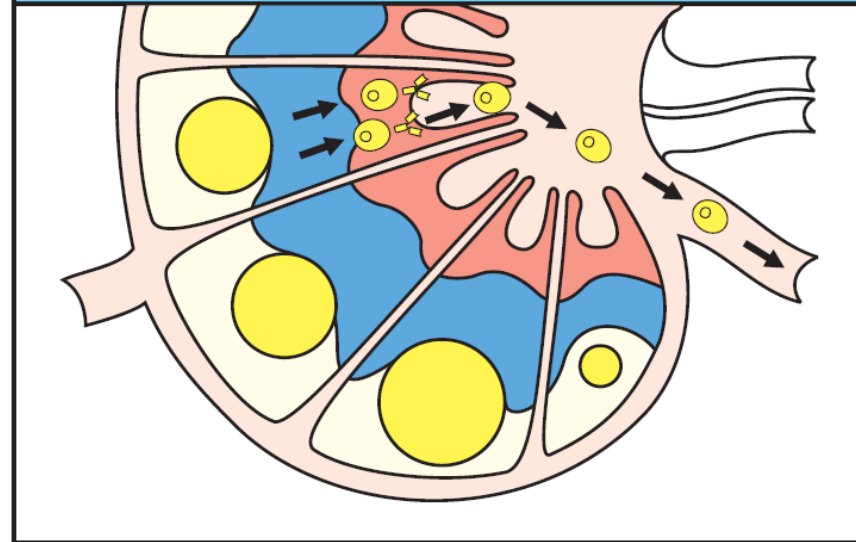
IgM e IgD expresan la misma porción variable (misma especificidad) pero distinta porción constante de la cadena pesada.

Activación de los linfocitos B2 vírgenes

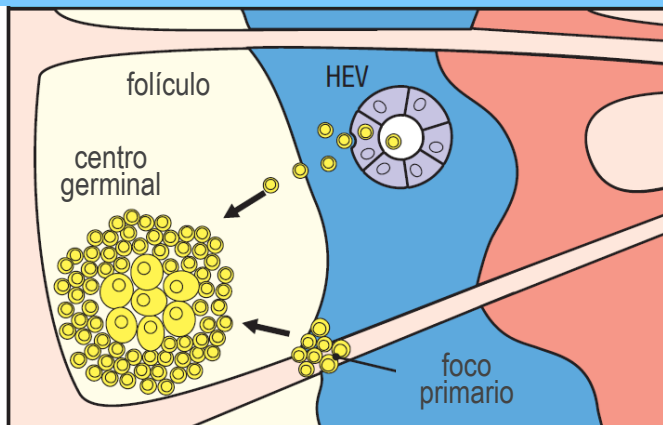
Los linfocitos B vírgenes ingresan a los OLS por vía hemática (HEV: vénulas de endotelio alto) y salen de ellos a través de vasos linfáticos eferentes



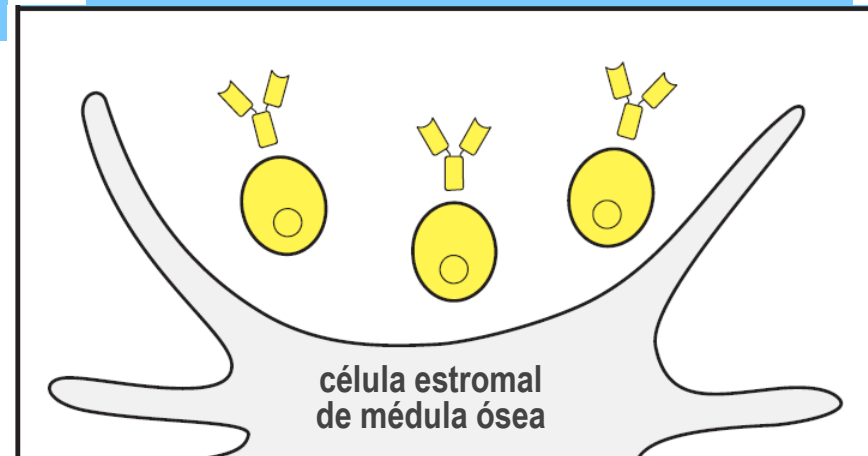
Las células plasmáticas migran a los cordones medulares o salen por vía linfática eferentes



LB que encuentran Ag en los folículos linfoides, forman un FOCO de proliferación PRIMARIO. Algunas proliferan y migran hacia el interior del folículo para formar el centro germinal.



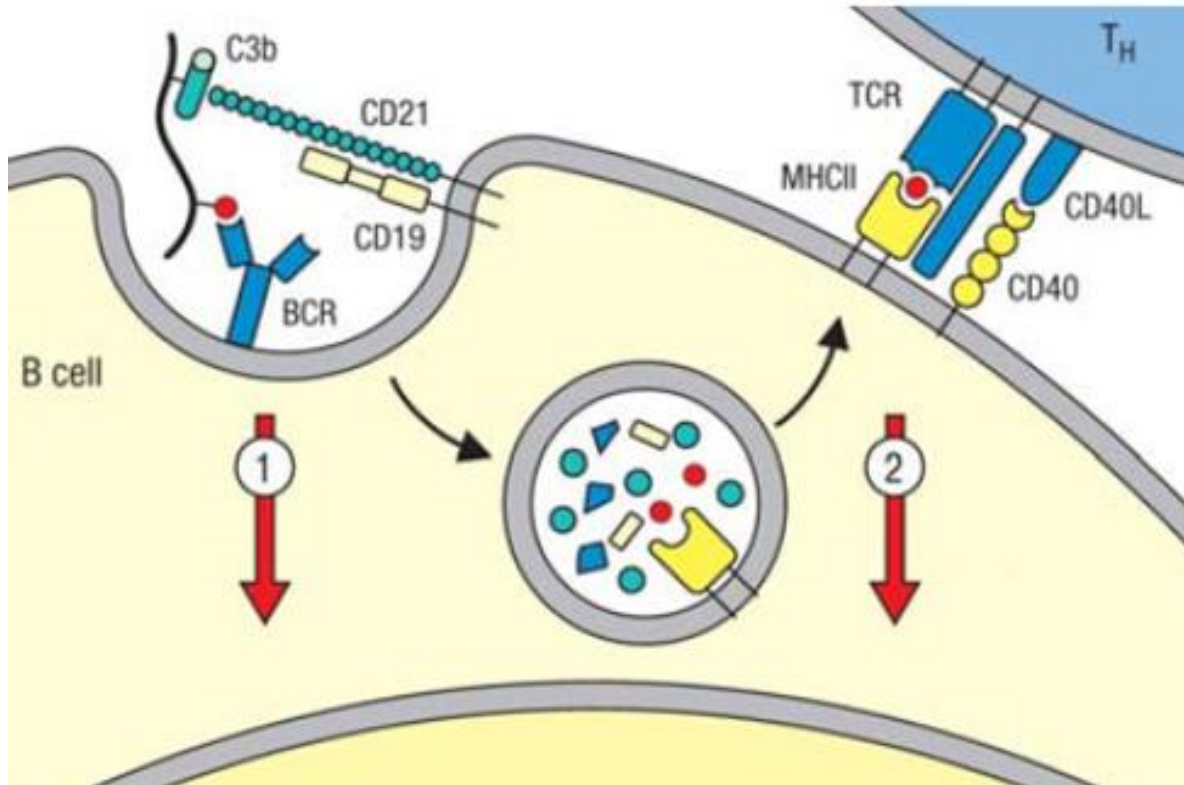
Las células plasmáticas migran a médula ósea



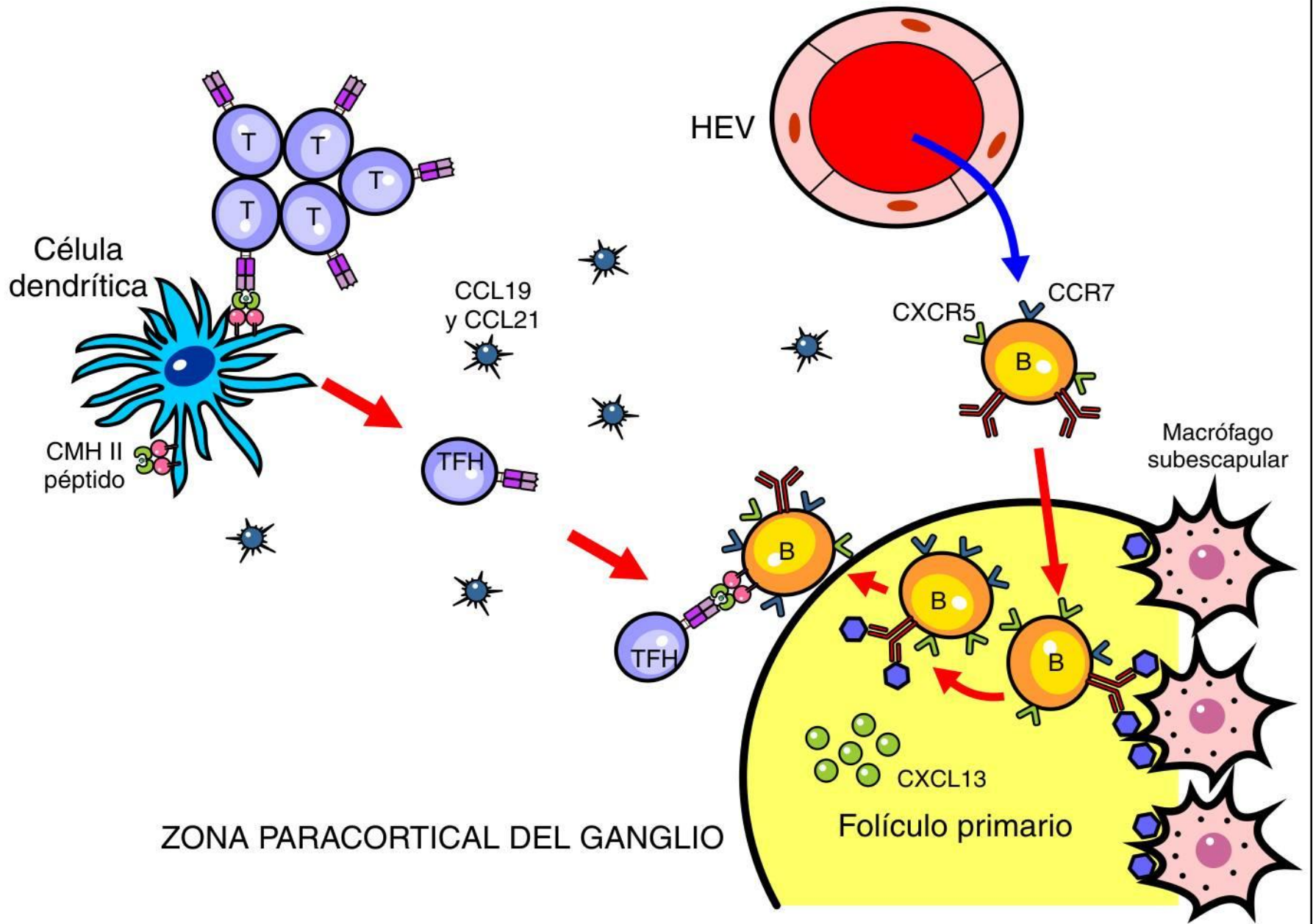
Activación de los linfocitos B2 vírgenes

El linfocito B requiere dos señales para su activación:

1. Reconocimiento antigénico a través del BCR.
2. Señales brindadas por el LTfh (colaboración T-B).

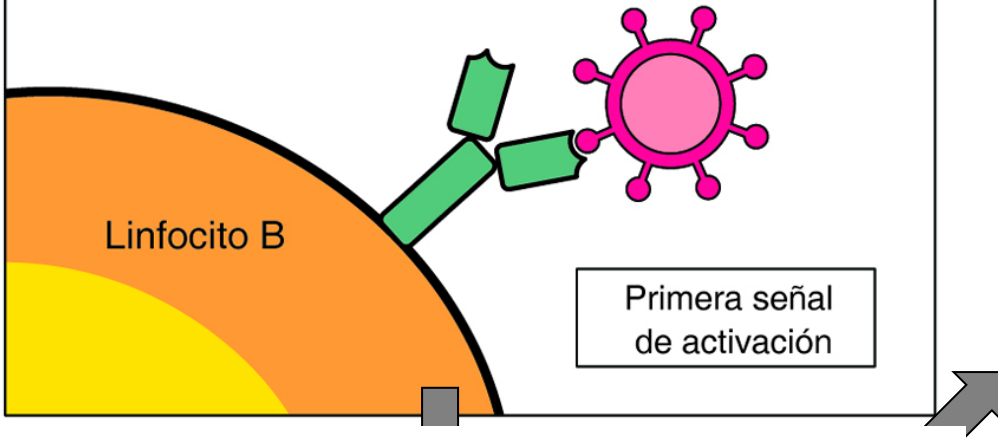


Colaboración T-B

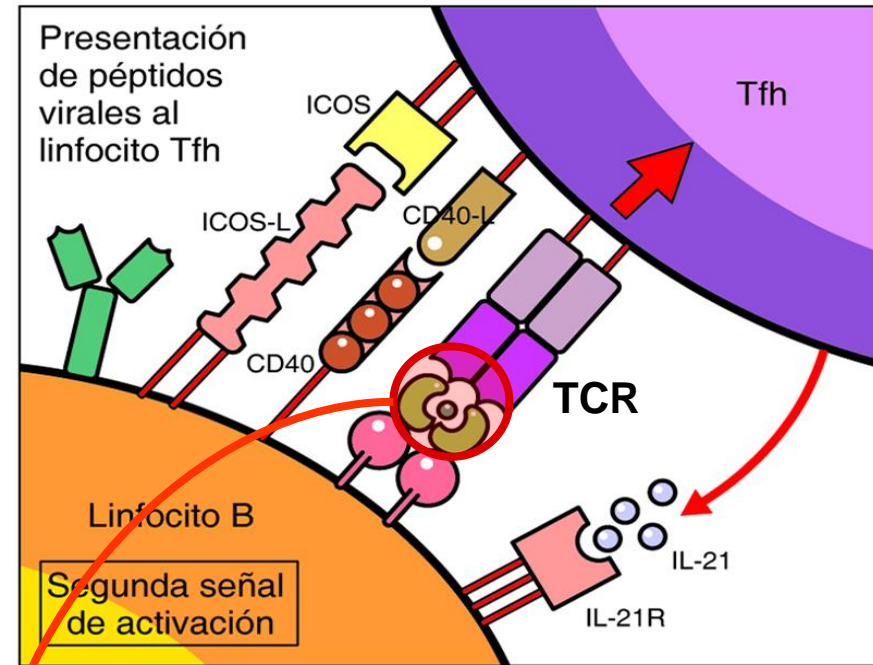
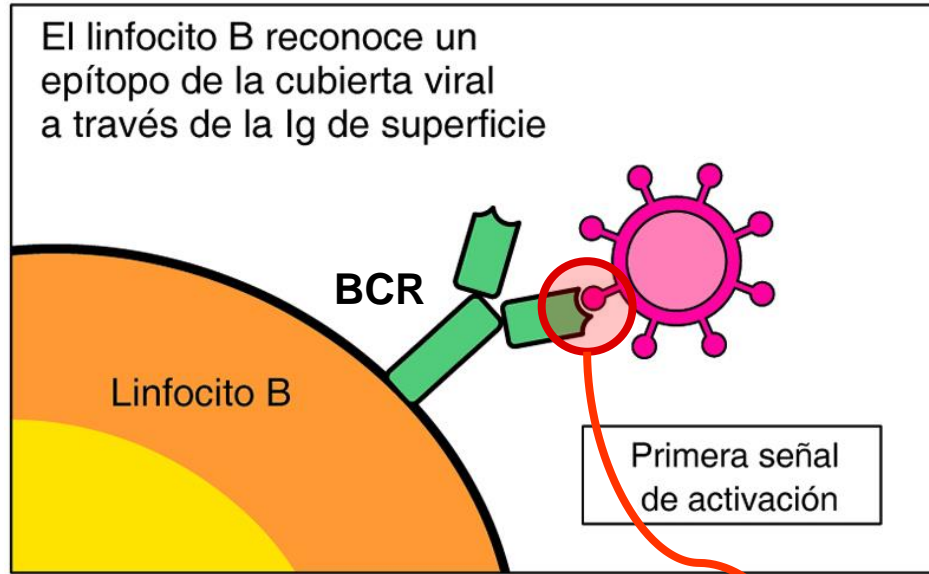


Colaboración T-B

El linfocito B reconoce un epítopo de la cubierta viral a través de la Ig de superficie



Colaboración T-B

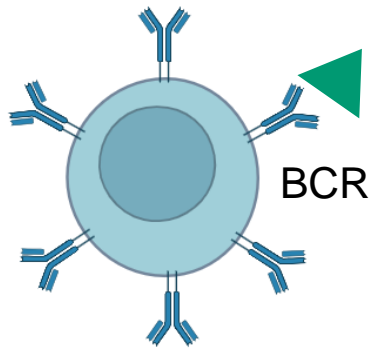


El **epítipo reconocido por la Ig** de superficie (BCR) es diferente (en la mayoría de los casos) del **epítipo reconocido por el receptor T** pero ambos epítipes pertenecen al mismo antígeno (reconocimiento ligado: *linked recognition*)

El reconocimiento ligado también es la base de:

- La respuesta a haptenos
- Vacuna conjugadas (Seminario vacunas)

Haptenos, antigenicidad e inmunogenicidad



hapteno

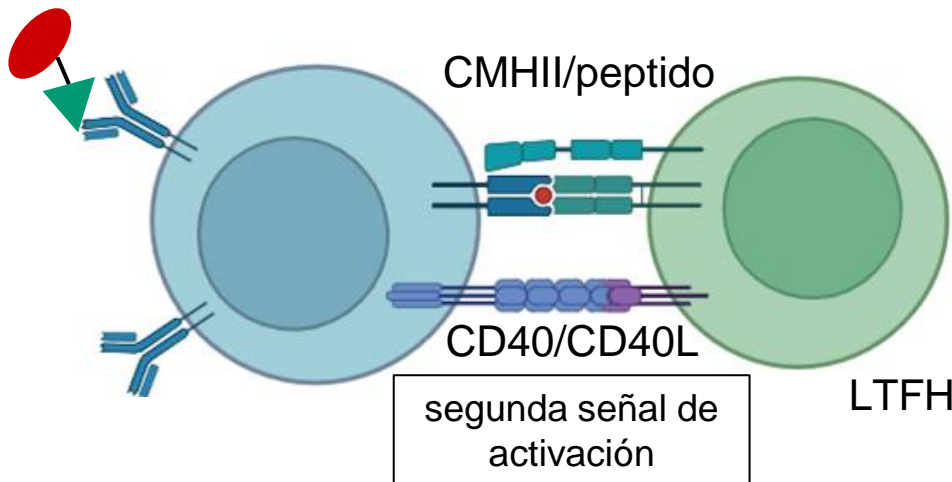
El **hapteno** es una **molécula antigénica** (puede ser reconocida por el BCR) pero **no inmunogénica** (no induce su activación) ya que no puede ser presentada en contexto CMH y por lo tanto los LB no pueden recibir la segunda señal de activación brindada por los LTfh (a menos que se asocie a una proteína transportadora/carrier).

Linfocito B

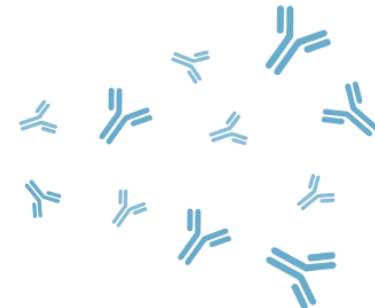
hapteno
conjugado a una
proteína
transportadora

primera
señal de
activación

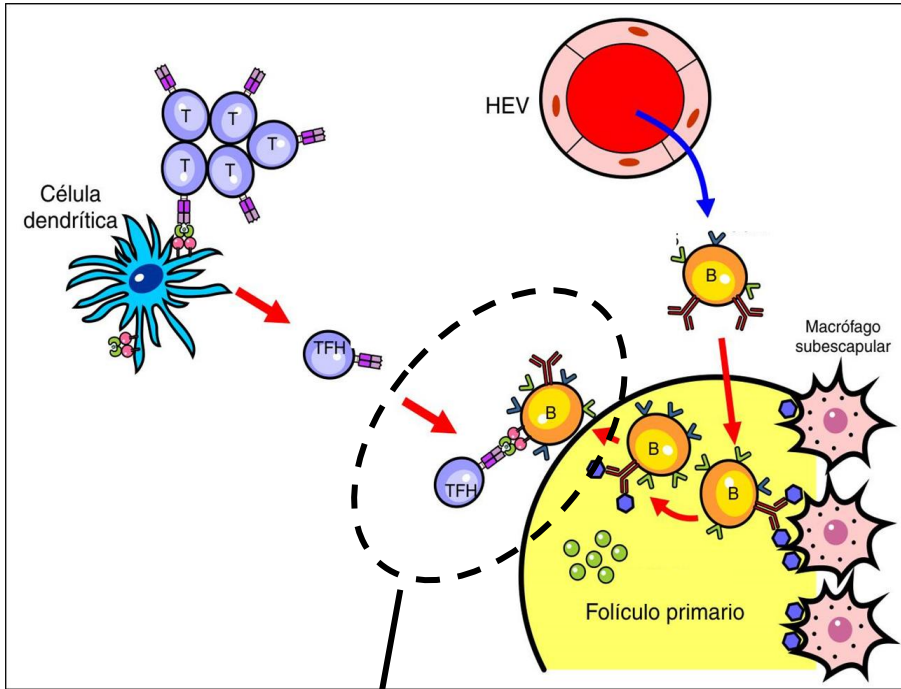
Algunos ejemplos que
veremos en la cursada:
hipersensibilidad a
penicilina, heparina, entre
otros.



Producción de anticuerpos
contra el hapteno

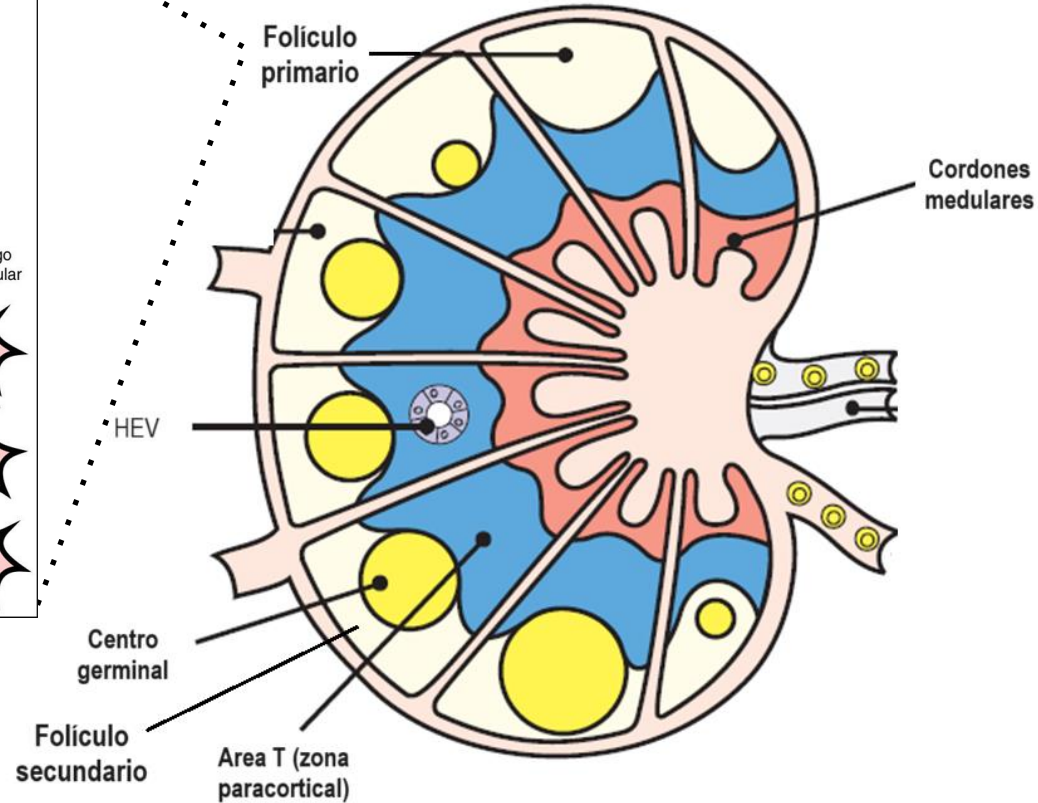


Activación de los linfocitos B2 vírgenes

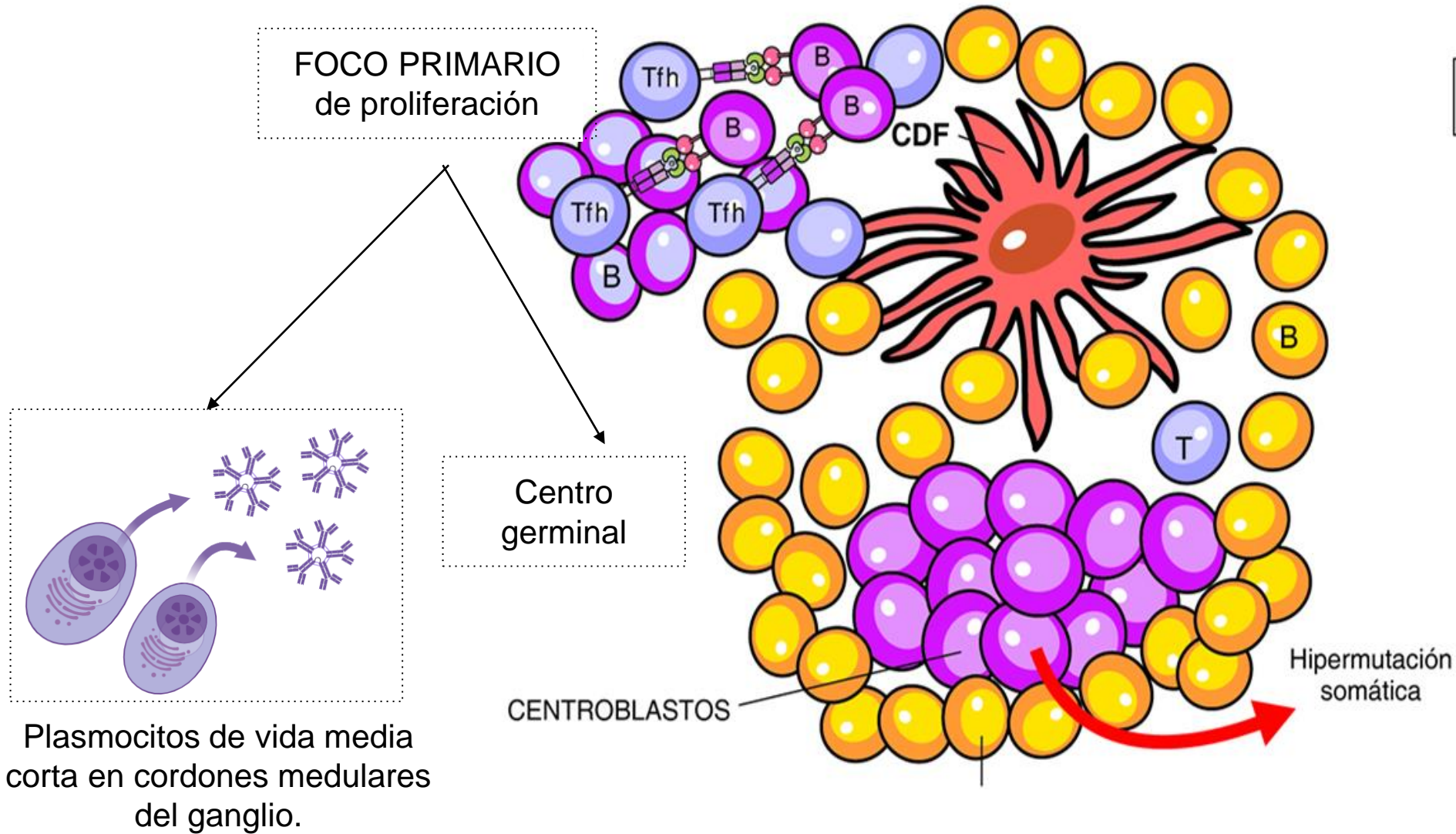


Una vez que el LB2 se activó (señal 1 + 2), se produce un primer foco de proliferación (**foco primario**), luego:

- Algunos LB abandonan el foco primario y se dirigen a **los cordones medulares** del ganglio donde se diferencian a **plasmocitos de vida media corta productores de IgM**.
- Otros LB migran al interior del folículo donde continuarán proliferando para dar lugar al **centro germinal**. Los folículos en los que se han formado centros germinales se conocen como **folículos secundarios**.



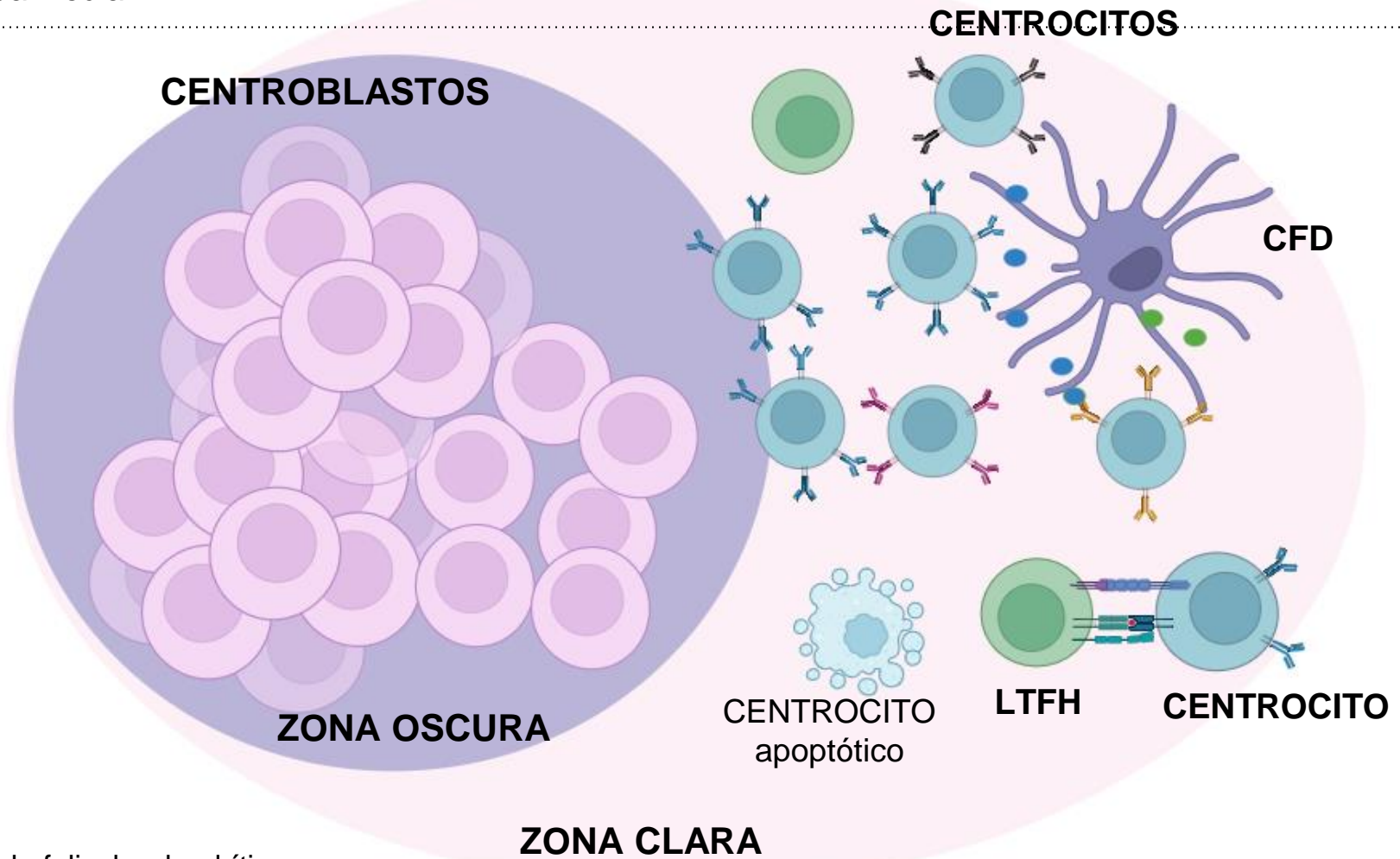
Activación de los linfocitos B2



Centro germinal

En el **centro germinal**, los LB activados, proliferan y sufren una modificación de la afinidad de la porción variable de su Ig (BCR) a través del proceso de **Hipermutación Somática (HMS)**. Aquellos que porten BCRs con mayor afinidad por el antígeno, serán seleccionados y podrán sobrevivir. Esto permitirá que la afinidad de los Acs a producirse, aumente a medida que transcurre la respuesta inmune (**Maduración de la afinidad**).

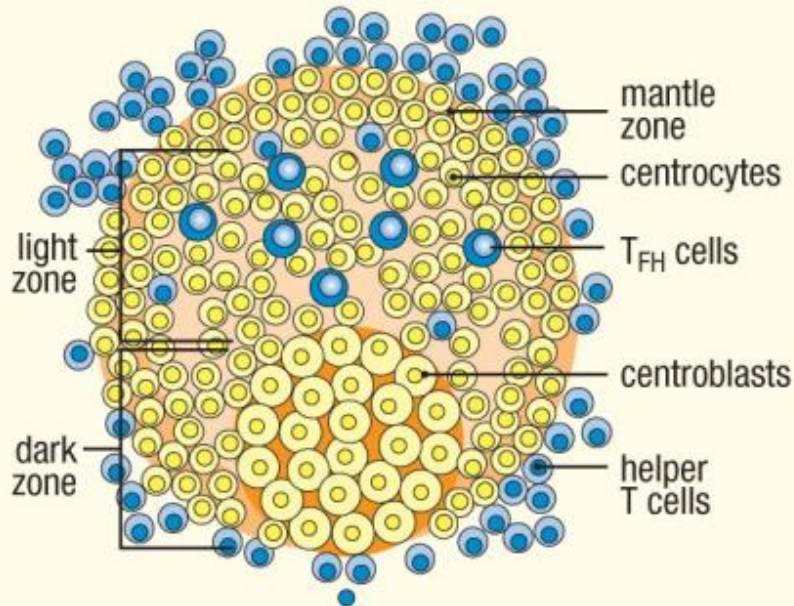
Además, dentro del centro germinal, las células B se diferencian a linfocitos B de memoria o a plasmoblastos, que tras su migración a médula ósea o a lámina propia de subepitelios, podrán diferenciarse en plasmocitos de larga vida media.



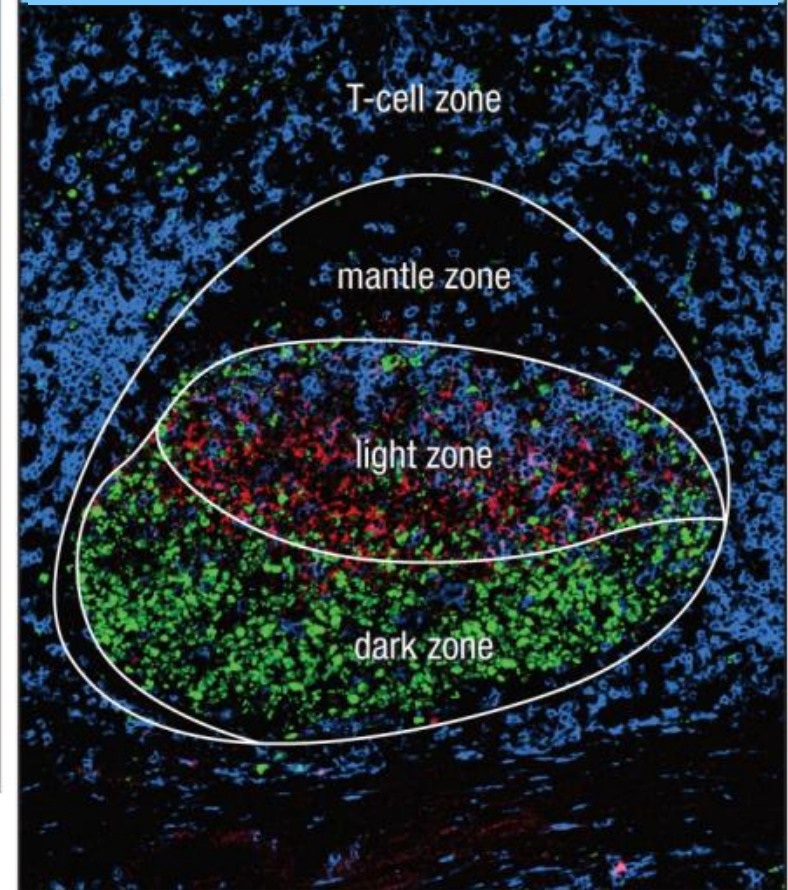
CFD: célula folicular dendrítica

Centro germinal

Representación esquemática de un folículo con centro germinal



Centro germinal donde se observan células T, células dendríticas foliculares y células B proliferantes



Verde: marcador de proliferación Ki67

Rojo: Células Foliculares Dendríticas (CFD)

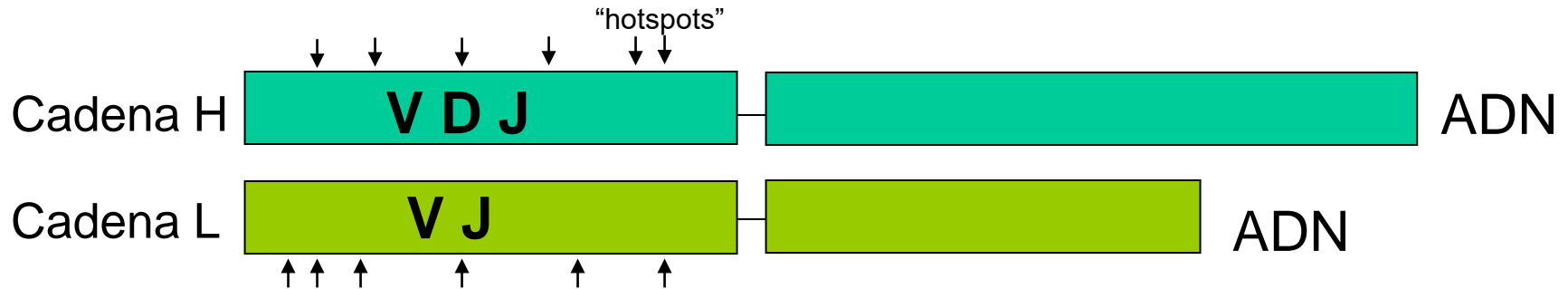
Azul: LT CD4

En la zona oscura se ubican los centroblastos, estos poseen una alta tasa de proliferación.

En la zona clara se ubican los centrocitos, los LTFH y las CFD.

Hipermutación somática

Introducción de mutaciones en los genes de la porción variable de la Ig. Este proceso es iniciado por la **enzima AID** (activation-induced cytidine deaminase).



La tasa de mutación en los genes VJ y VDJ es notablemente alta.

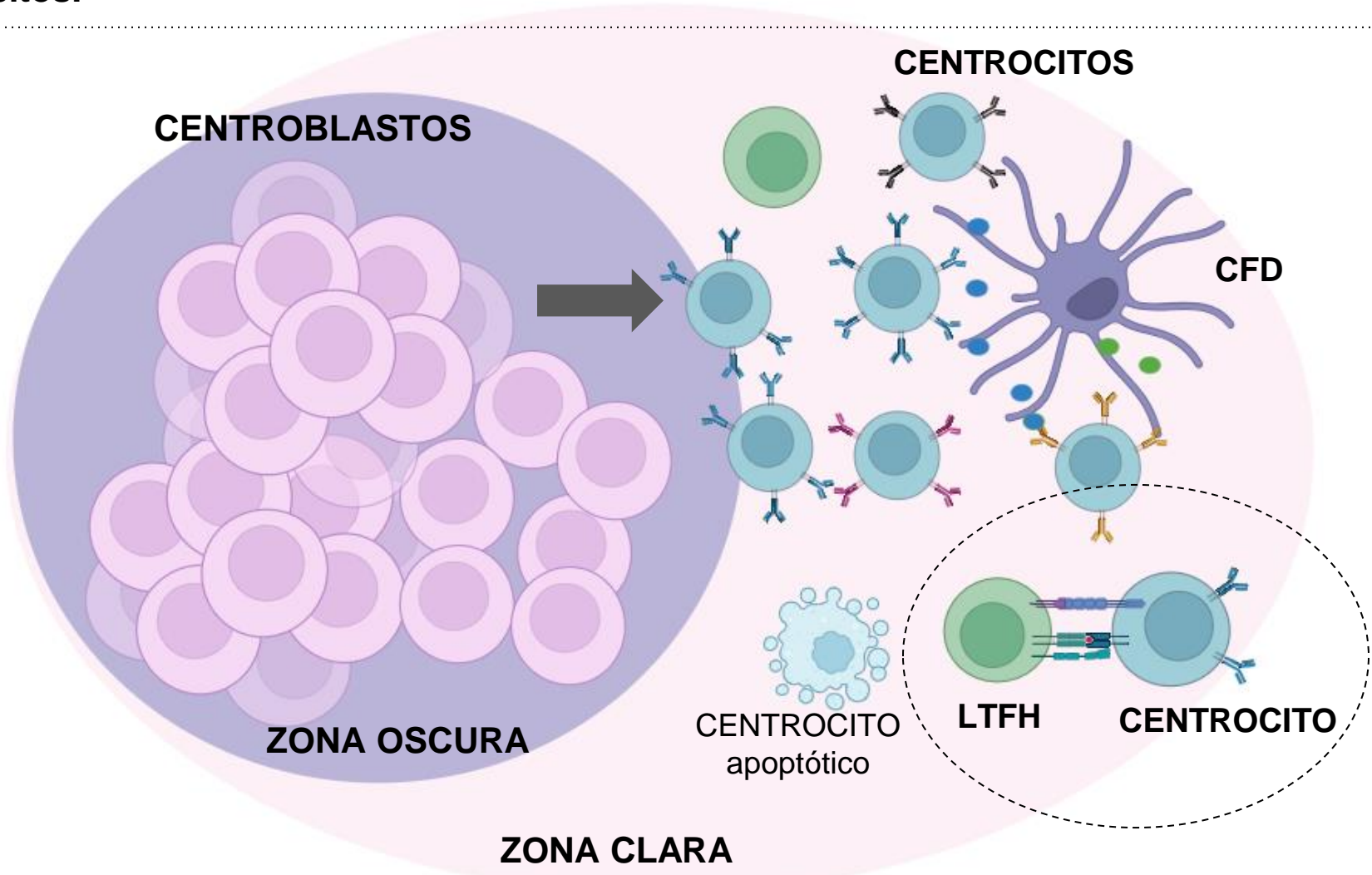
(La tasa de mutaciones en esta zona es de 1 cambio cada 1000 pares de bases por división celular, mientras que la tasa de mutación en el resto del ADN es de 1 cada 10^{10} pares de bases en cada división celular).

Si la mutación:

- Genera un codón stop → muerte al no expresar BCR
- Altera el *folding* de la Ig → muerte al no expresar BCR
- Modifica el paratope → selección de la célula B por el Ag

Centro germinal

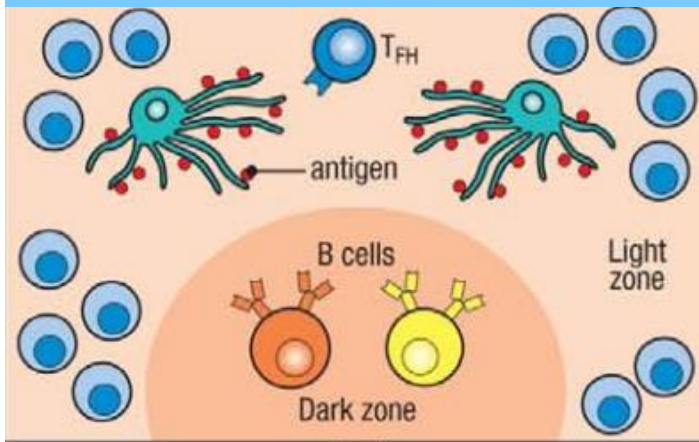
Luego los **centroblastos** reducirán su tasa proliferación, aumentan la expresión de inmunoglobulina de superficie y migrarán a la zona clara, cerca de las CFD, diferenciándose a **centrocitos**.



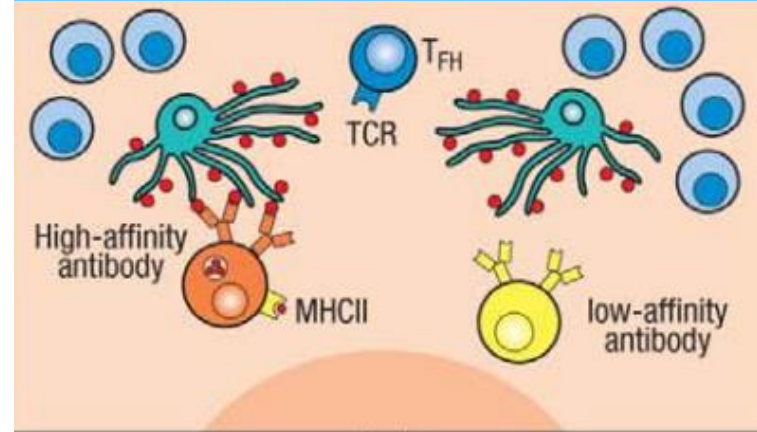
Los **centrocitos** deben recibir señales de activación (brindadas por los LTFH) para sobrevivir.

La selección de los LB con BCR de mayor afinidad depende de las señales brindadas por el LTFH. Colaboración T-B.

En la zona oscura los centroblastos sufren HMS



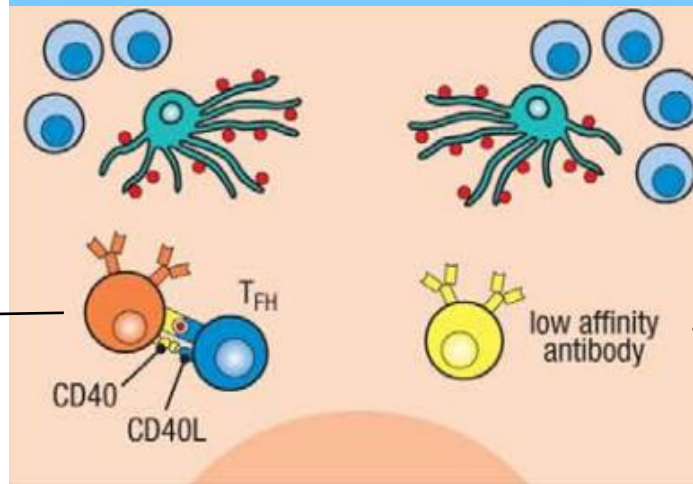
Los centrocitos con BCR de mayor afinidad podrán captar al Ag que está unido a la superficie de las CFD y presentarlo en CMH II.



Los centrocitos que sobreviven podrán:

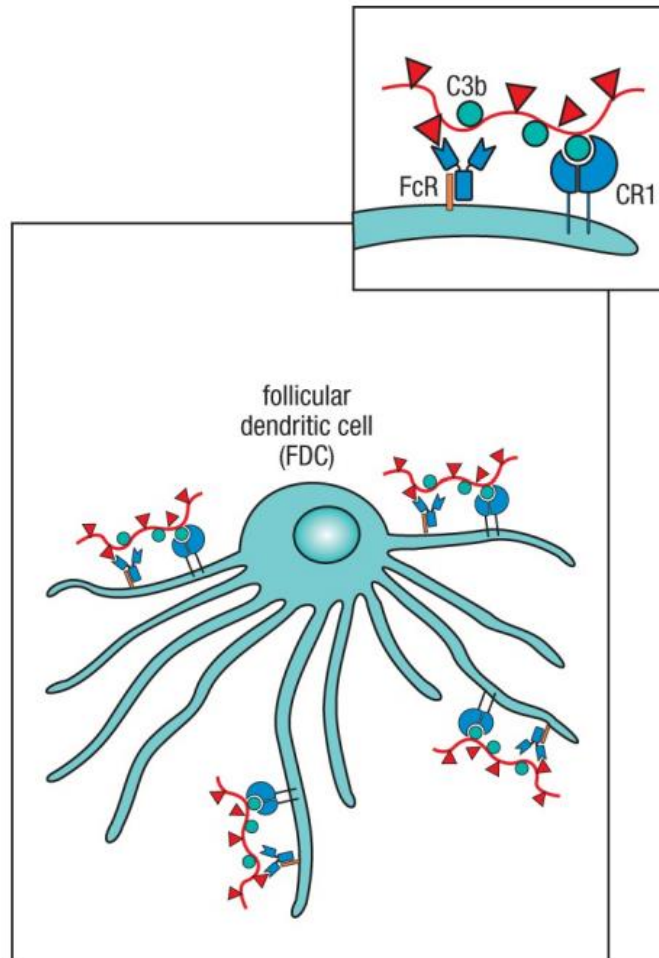
- volver a ingresar a la zona oscura y continuar madurando la afinidad del BCR; o
- diferenciarse a plasmoblasto o LB memoria.

Los centrocitos que presentan sobre CMH II a los TFH reciben señales que promueven su supervivencia.



Aquellos centrocitos que no establezcan colaboración T-B morirán por apoptosis.

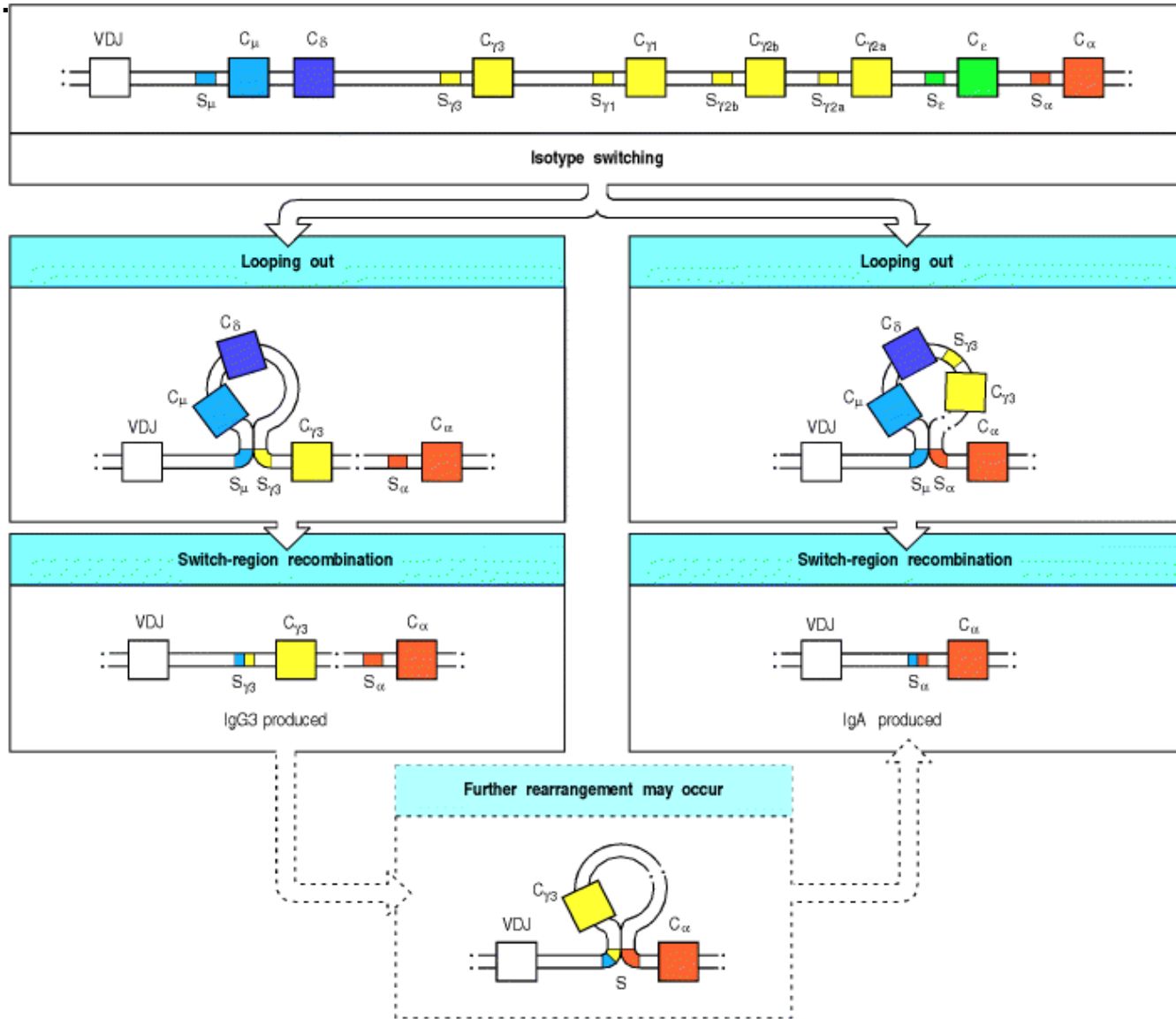
Los antígenos son retenidos en la superficie de la **CFD (Célula Folicular dendrítica)** en forma de complejos antígeno:anticuerpo:complemento unidos a los receptores Fc y a los receptores del complemento CR1 o CR2 en la superficie del FDC.



No tiene origen hematopoyético, son células estromales especializadas. Producen CXCL13.

Cambio de clase o switch de isotipo

Luego de la activación, los LB cambian el isotipo de la Ig que sintetizarán, como consecuencia de la **recombinación de su ADN**. Este proceso también es iniciado por la enzima **AID**.

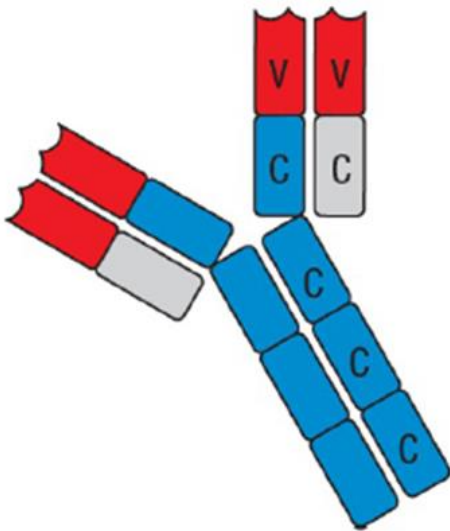


¿Dónde ocurre el cambio de clase?

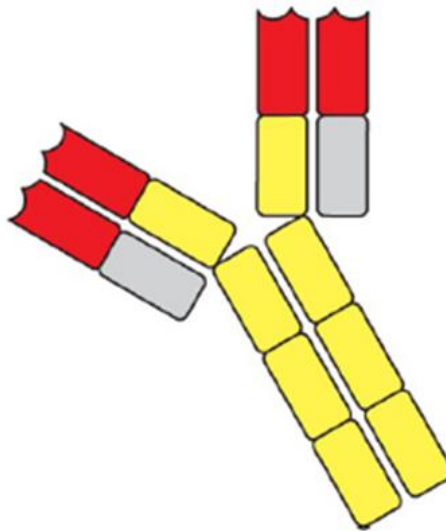
La evidencia más reciente sugiere que la mayor parte del cambio de clase ocurre, luego de la activación del linfocito B (señal 1 + señal 2), y antes de su entrada al centro germinal.

Zonas de la molécula de inmunoglobulina que se modifican por los procesos de hipermutación somática y cambio de isotipo

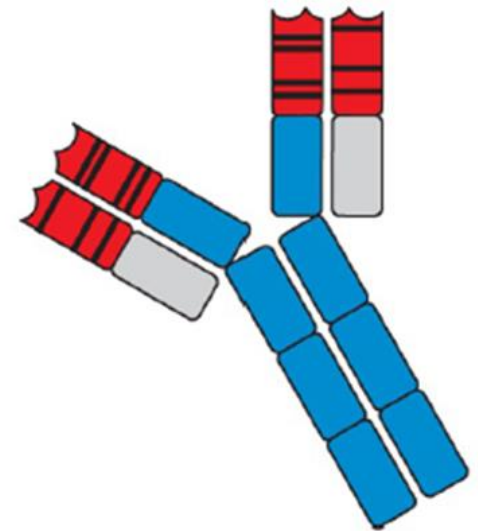
IgM del linfocito virgen



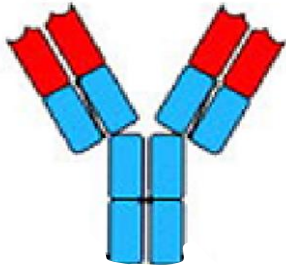
Cambio de isotipo



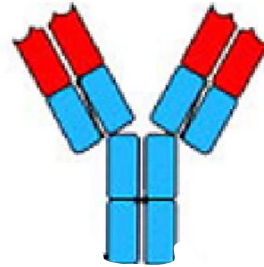
Hipermutación somática



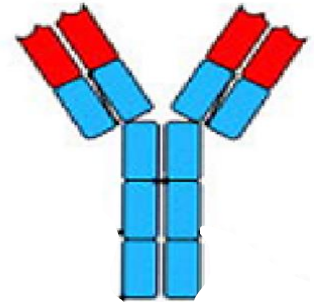
La porción constante de la Ig define el isotipo o clase



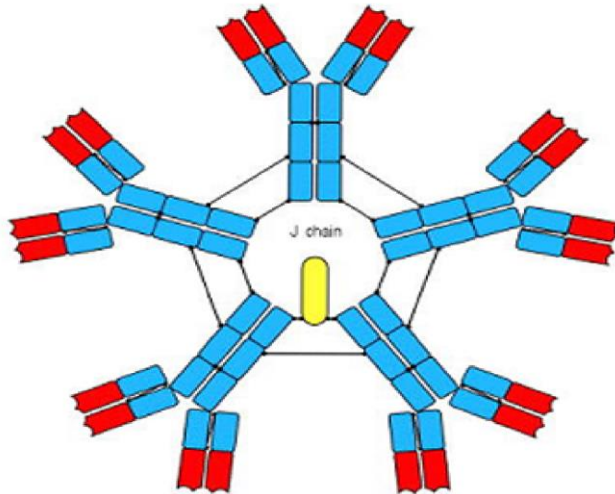
IgG



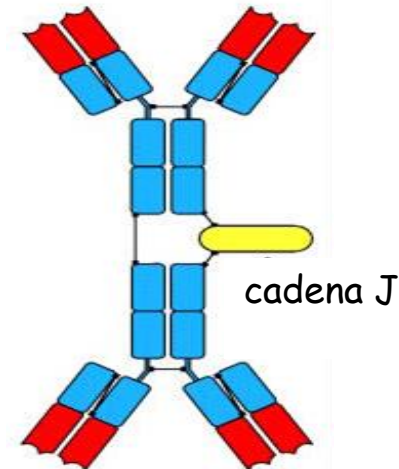
IgD



IgE



IgM



IgA

La Ig de membrana (parte del BCR) es siempre monomérica

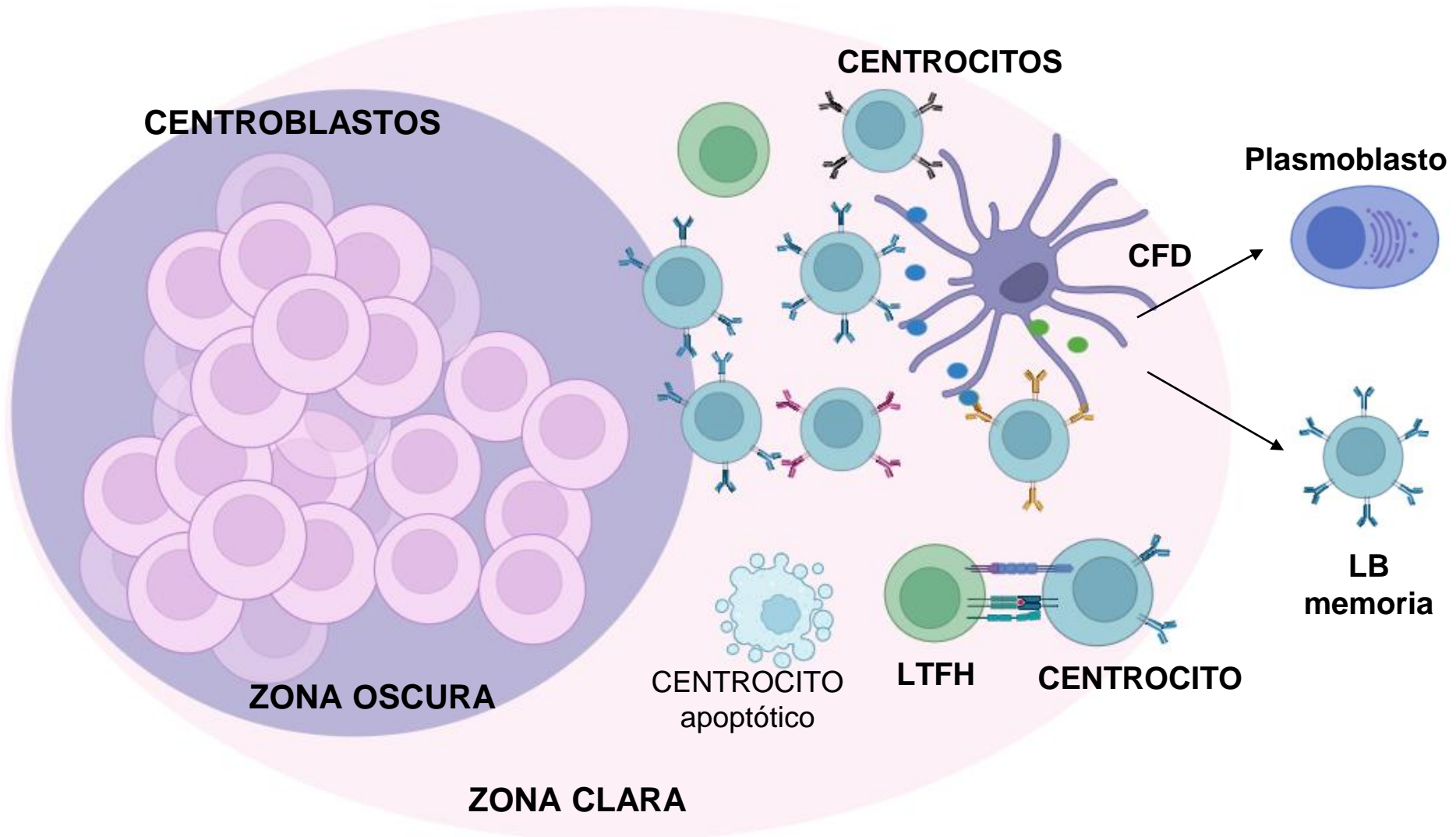
Cambio de clase o switch de isotipo

Las citoquinas influyen sobre el cambio de clase de las Ig.

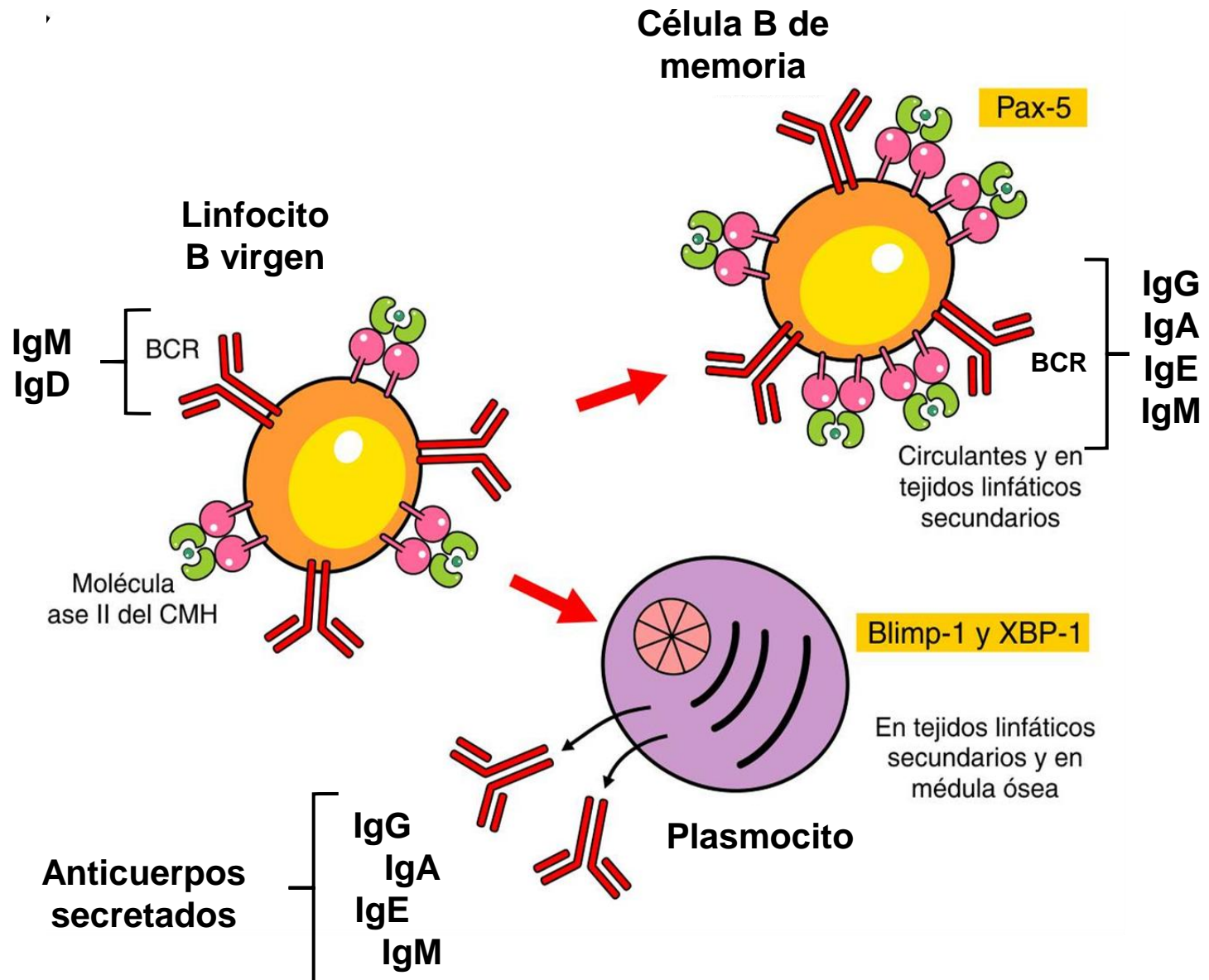
CITOQUINAS	ISOTIPO
IL-4	IgE, IgG
IFN- γ	IgG
TGF- β	IgA
IL-21	IgG, IgA
IL-13	IgG e IgE
IL-10	IgG (Coopera con TGF- β para inducir el switch a IgA)

La selección de una región C particular durante el cambio de clase no es aleatoria sino que está regulada por las citoquinas producidas por las células TFH y otras células durante la respuesta inmune.

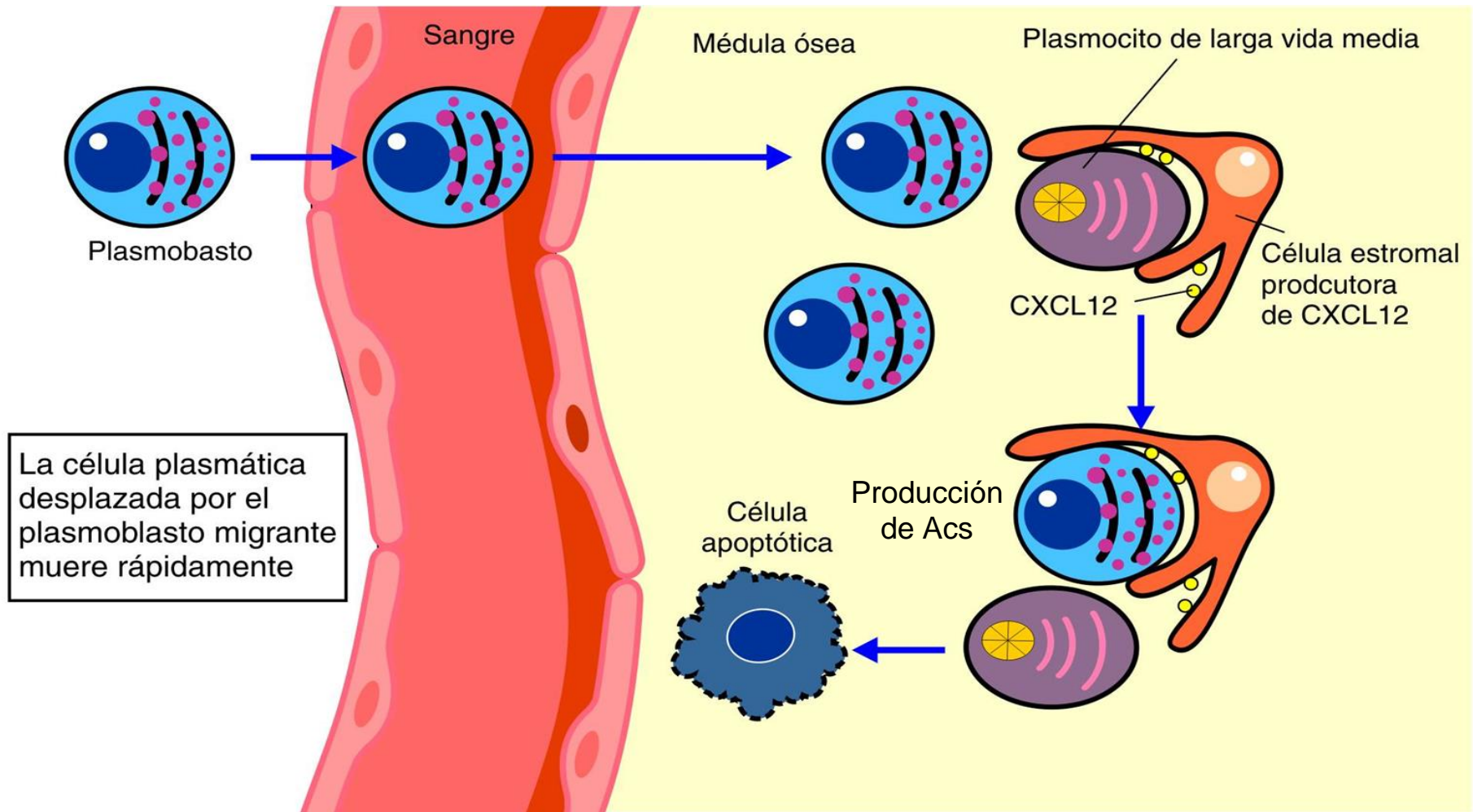
Del centro germinal egresarán plasmoblastos y células B de memoria



Algunas diferencias entre linfocitos B vírgenes, plasmocitos y células B de memoria

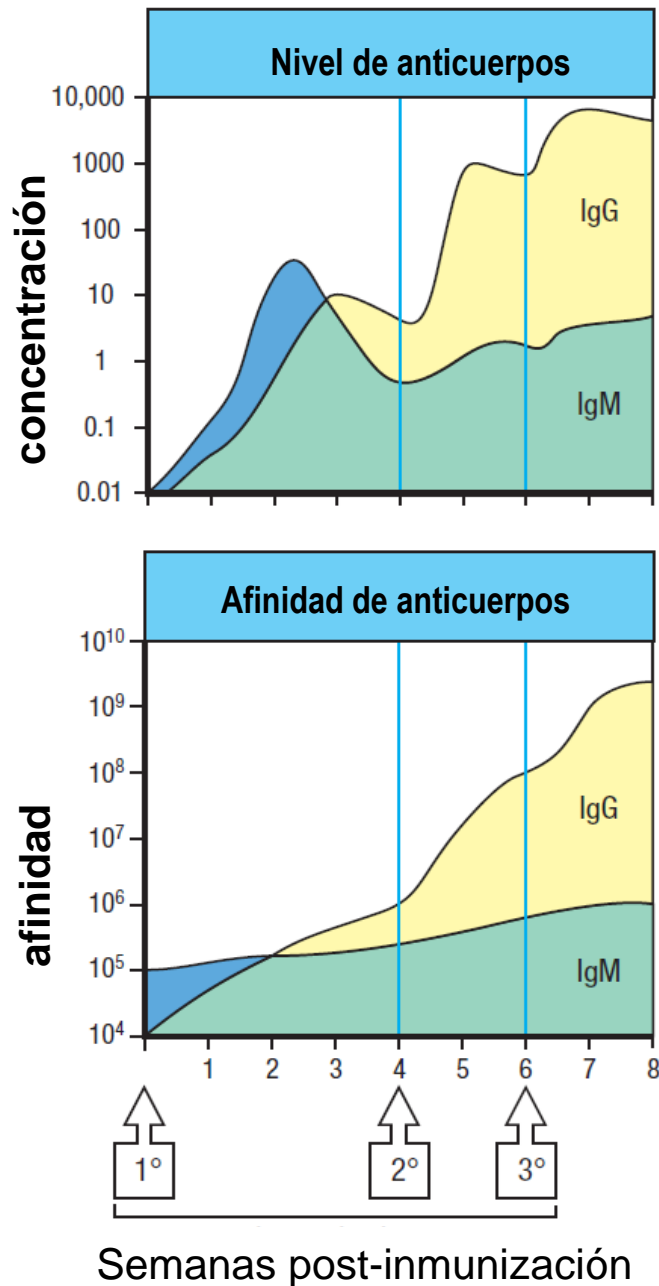


Diferenciación de plasmoblastos a plasmocitos de vida media larga en la médula ósea



Tal como se verá en el Seminario de mucosas, aquellos plasmoblastos activados en tejidos linfoides asociados a mucosas se diferenciarán a plasmocitos en los tejidos mucosos donde secretarán anticuerpos.

Cambios en los anticuerpos específicos que se observan con las sucesivas inmunizaciones

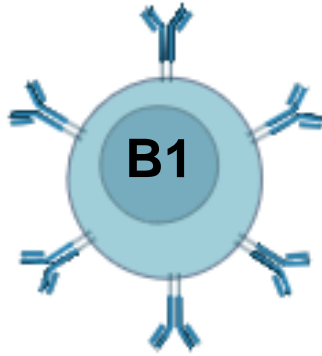


- ✓ Aumento en la concentración sérica
- ✓ Cambio en el isotipo de IgM a IgG u otros isotipos
- ✓ Aumento en la afinidad, más notable en IgG (u otros isotipos) que en IgM

Respuesta humoral primaria y secundaria

	Primaria	Secundaria
Tiempo requerido	5-10 días	1-3 días
Intensidad	menor	mayor
Isotipos	IgM > IgG	IgG, IgA, IgE, IgM
Afinidad de los anticuerpos	baja	alta
Inmunógeno	hidratos de carbono, lípidos, proteínas, glico- y lipo-proteínas.	proteínas, glico- y lipo-proteínas.

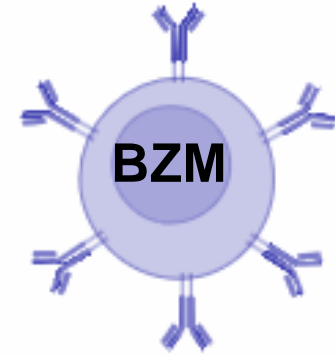
Linfocitos B capaces de activarse sin colaboración de células T CD4⁺



Se localizan mayoritariamente en cavidad peritoneal y pleural

Isotipos preponderantes de Acs secretados: IgM, IgA. En menor medida: IgG

Sin aparente exposición a Ags, pueden producir también anticuerpos naturales



Se localizan en zona marginal del bazo

Isotipo preponderante de Acs secretados: IgM. En menor medida: IgG

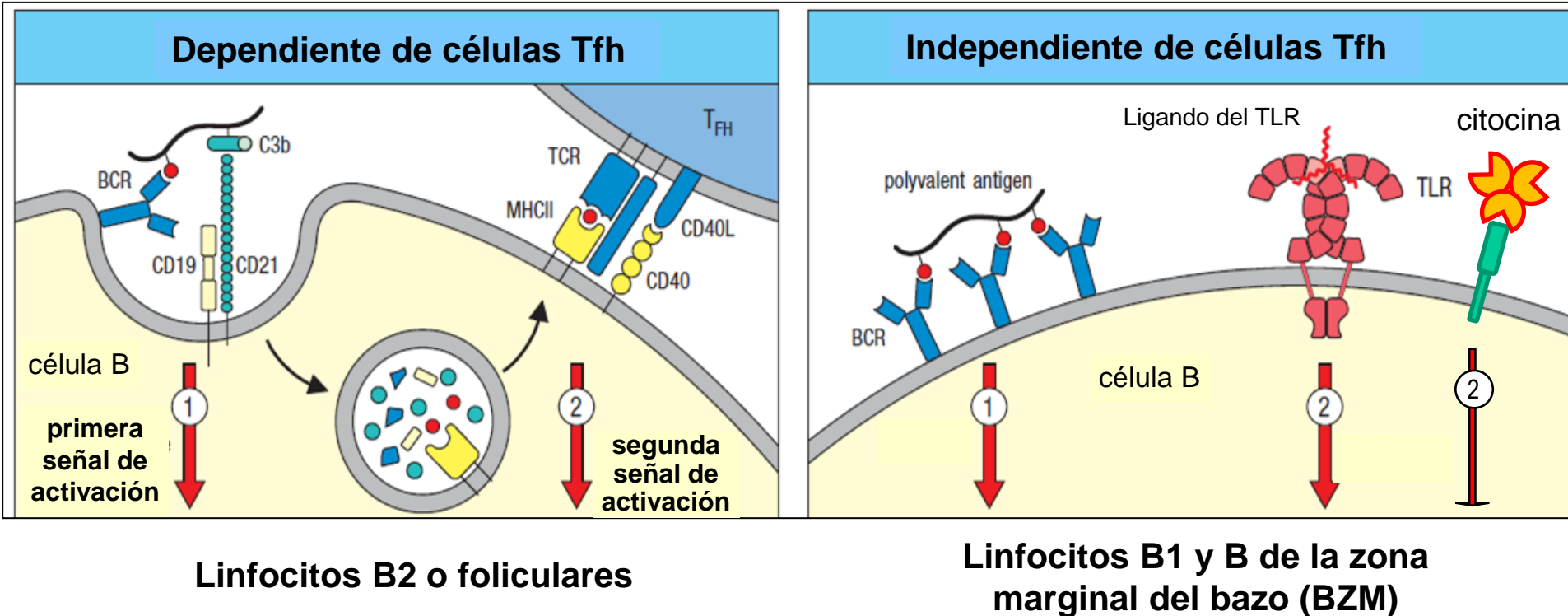
Producen Acs rápidamente en respuesta a la estimulación por su Ag (3-4 días)

Los Acs que producen son polirreactivos de baja afinidad

Estas células alcanzan su madurez a los 2 años de edad

Son relevantes en la protección frente a bacterias capsuladas: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*

Dos formas de activación de los linfocitos B



Los linfocitos B, de manera análoga a los linfocitos T, también requieren para su activación señales accesorias además de la activación a través del receptor antigénico.

Anticuerpos naturales

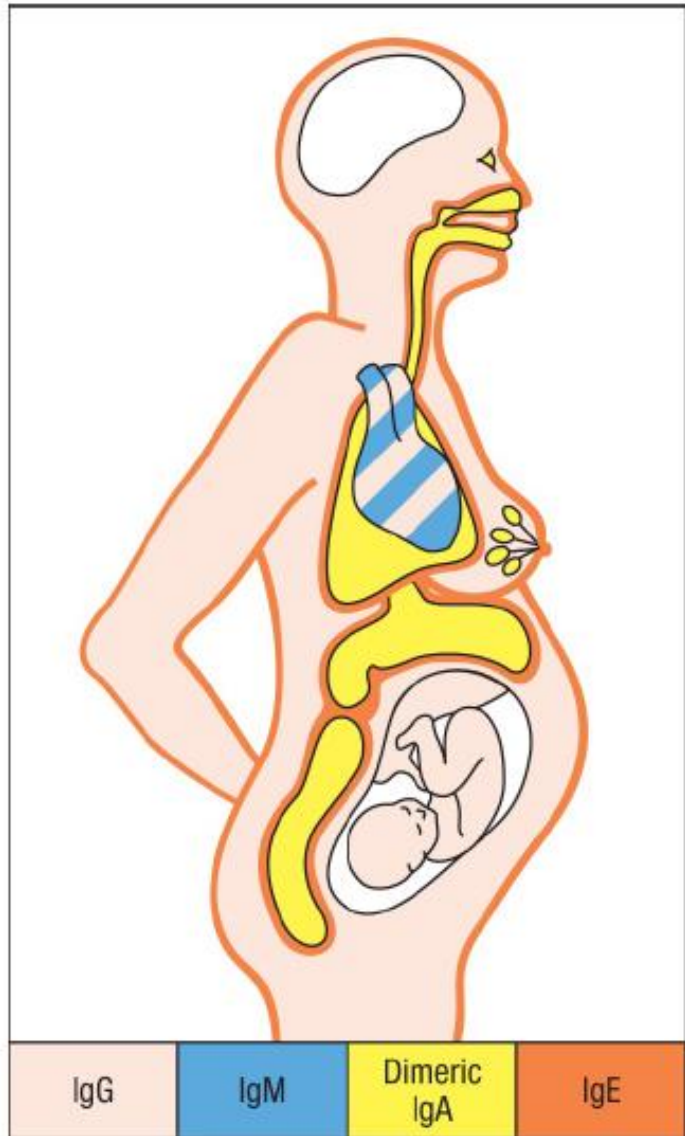
- Se secretan sin exposición previa al microorganismo.
- Isotipo IgM más frecuente.
- Anticuerpos de baja afinidad y poli-reactivos.
- Anticuerpos dirigidos contra epítopes antigénicos repetitivos.
- Producidos principalmente por las B1.

Ej: polisacáridos comunes a muchos patógenos, fosfatidilcolina, fosforilcolina, LPS

Proteínas virales: hemaglutinina del virus Influenza

Distribución y función de los distintos isotipos de anticuerpos

Distribución de los distintos isotipos de Igs



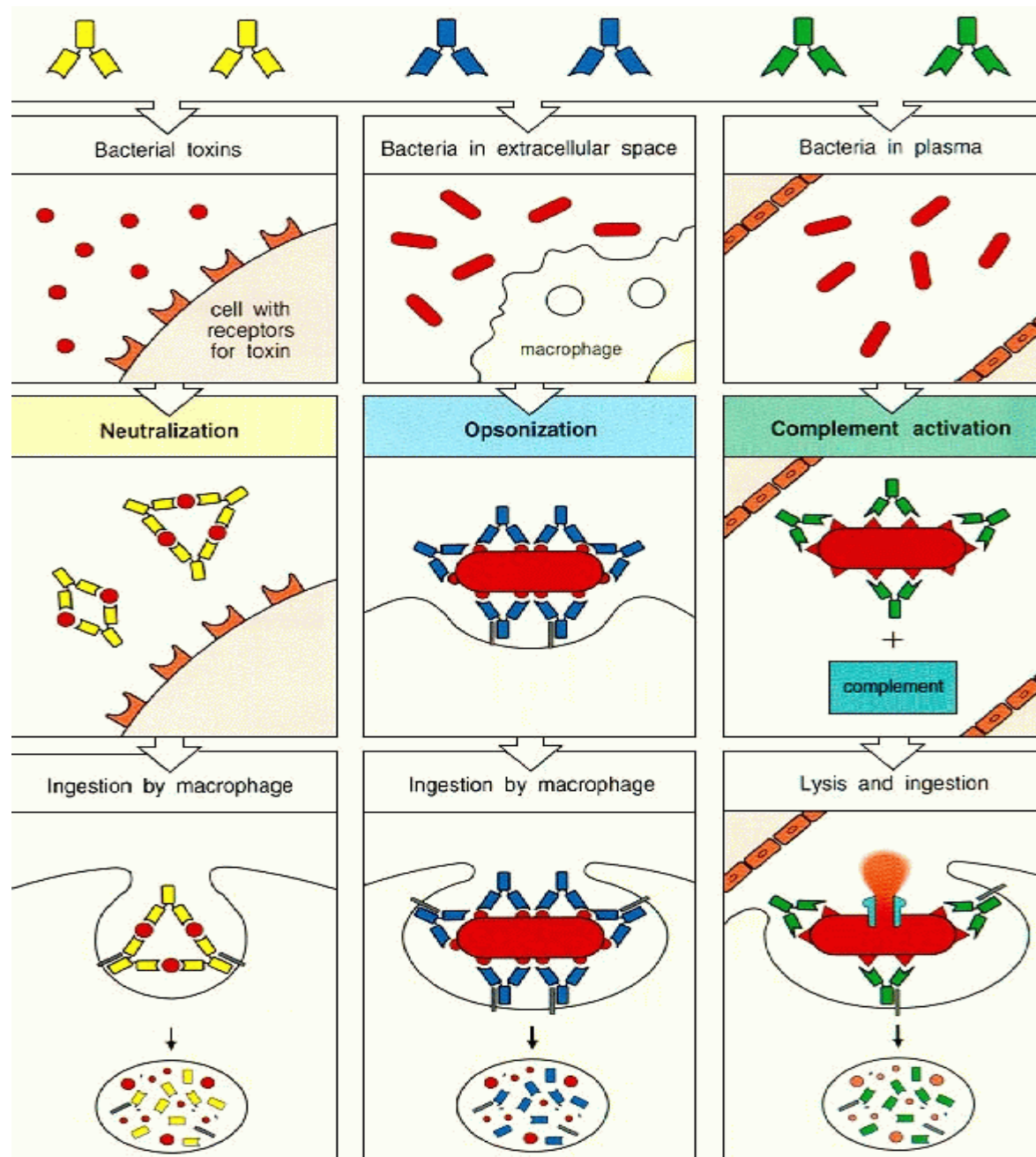
- La IgG y la IgM predominan en la sangre (para simplificar se muestran en el corazón).
- La IgG es el principal isotipo en el líquido intersticial.
- La IgA dimérica predomina en las secreciones de los epitelios, incluida la leche materna.
- El feto recibe IgG de la madre mediante transporte transplacentario.
- La IgE se encuentra principalmente asociada a los mastocitos justo debajo de las superficies epiteliales (especialmente del tracto respiratorio, el tracto gastrointestinal y la piel).

Principales características de los isotipos de Igs

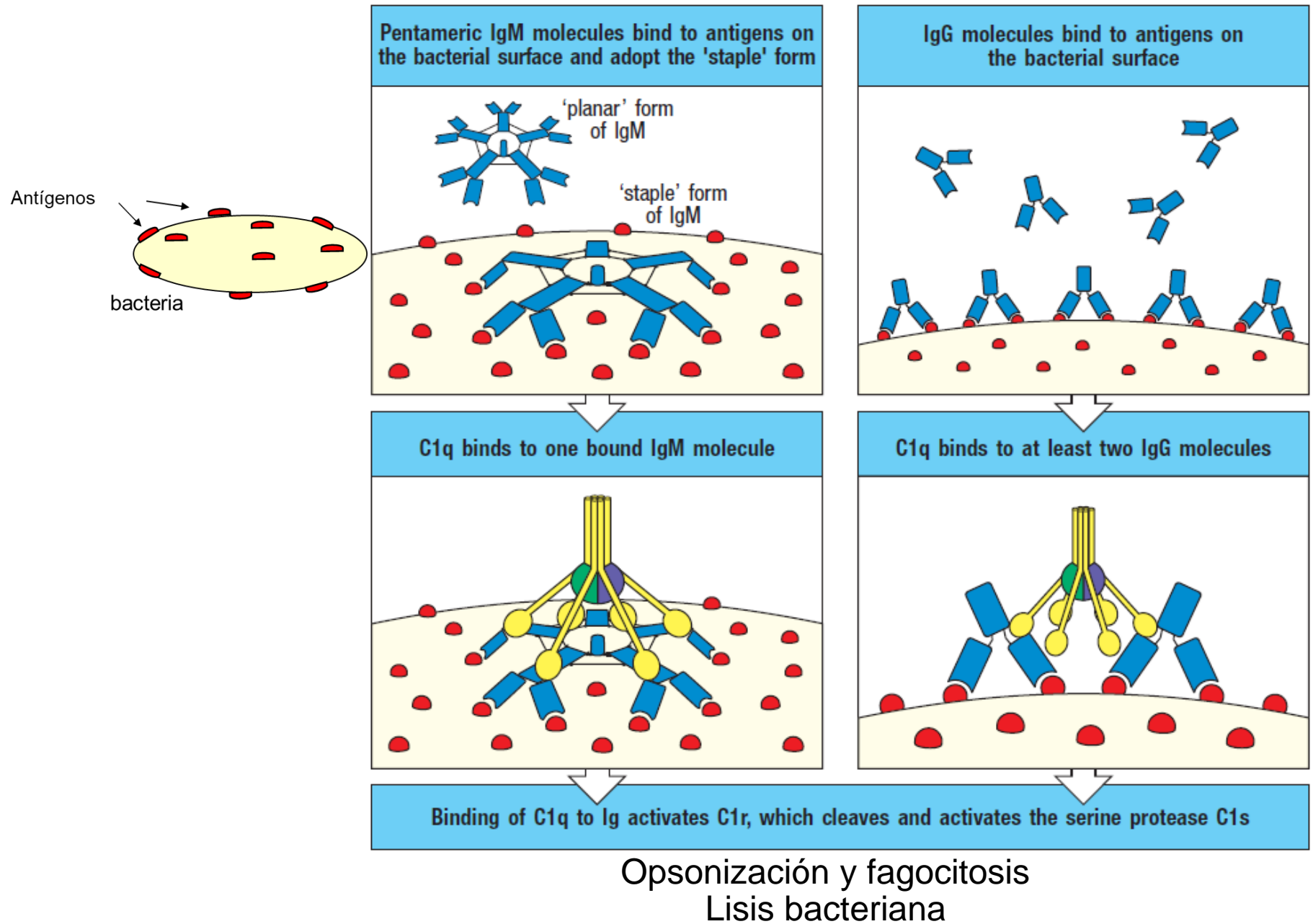
Función	IgM	IgD	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA	IgE
neutralización	+	–	++	++	++	++	++	–
opsonización	+	–	++	*	++	+	+	–
capacidad de mediar citotoxicidad NK	–	–	++	–	++	–	–	–
sensibilización de mastocitos	–	–	+	–	+	–	–	+++
activación del complemento	+++	–	++	+	+++	–	+	–

Distribución	IgM	IgD	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA	IgE
transporte a través del epitelio	+	–	–	–	–	–	+++ (dimer)	–
transporte a través de la placenta	–	–	+++	+	++	+/-	–	–
difusión a sitios extravasculares	+/-	–	+++	+++	+++	+++	++ (monomer)	+
concentración media en suero (mg/ml)	1.5	0.04	9	3	1	0.5	2.1	3×10^{-5}

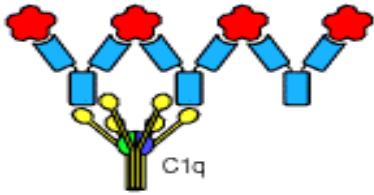
Funciones efectoras de los anticuerpos



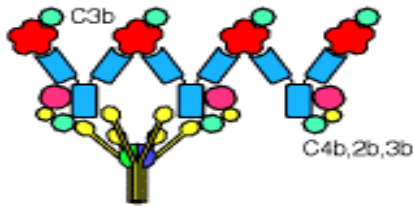
IgM e IgG y activación de la vía clásica del complemento



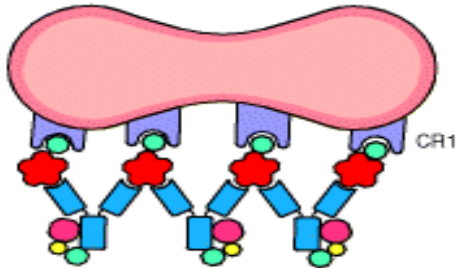
Formación de CI solubles pequeños en circulación y activación del complemento



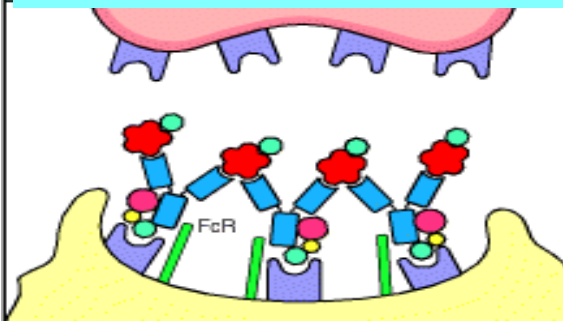
Unión covalente de C3b al CI



Unión del CI al CR1 del eritrocito por reconocimiento de C3b



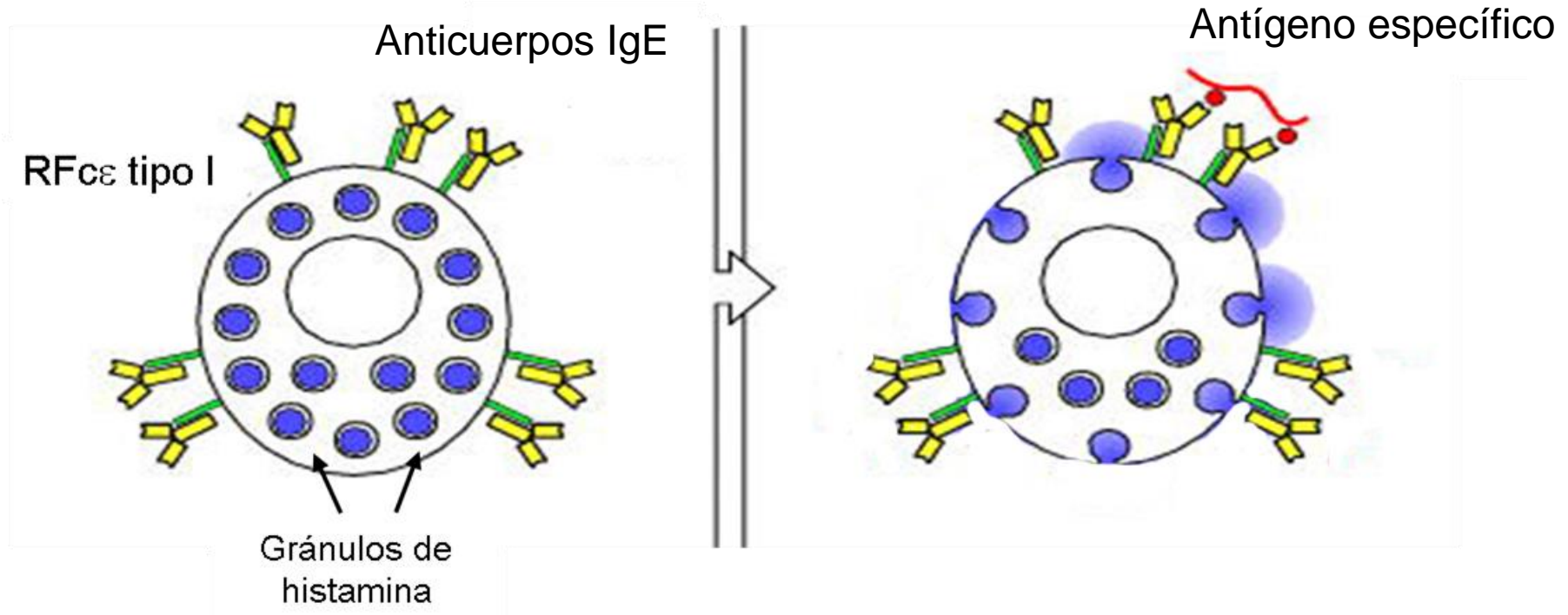
Remoción de los CI por los macrófagos esplénicos y hepáticos



Formación de complejos inmunes durante la respuesta humoral y su depuración a través del sistema mononuclear fagocítico.

Los complejos inmunes (CI) de mayor tamaño pueden ser depurados por los macrófagos esplénicos y hepáticos a través de los RFcγ y receptores CR1, CR3 y CR4, sin la mediación de los eritrocitos

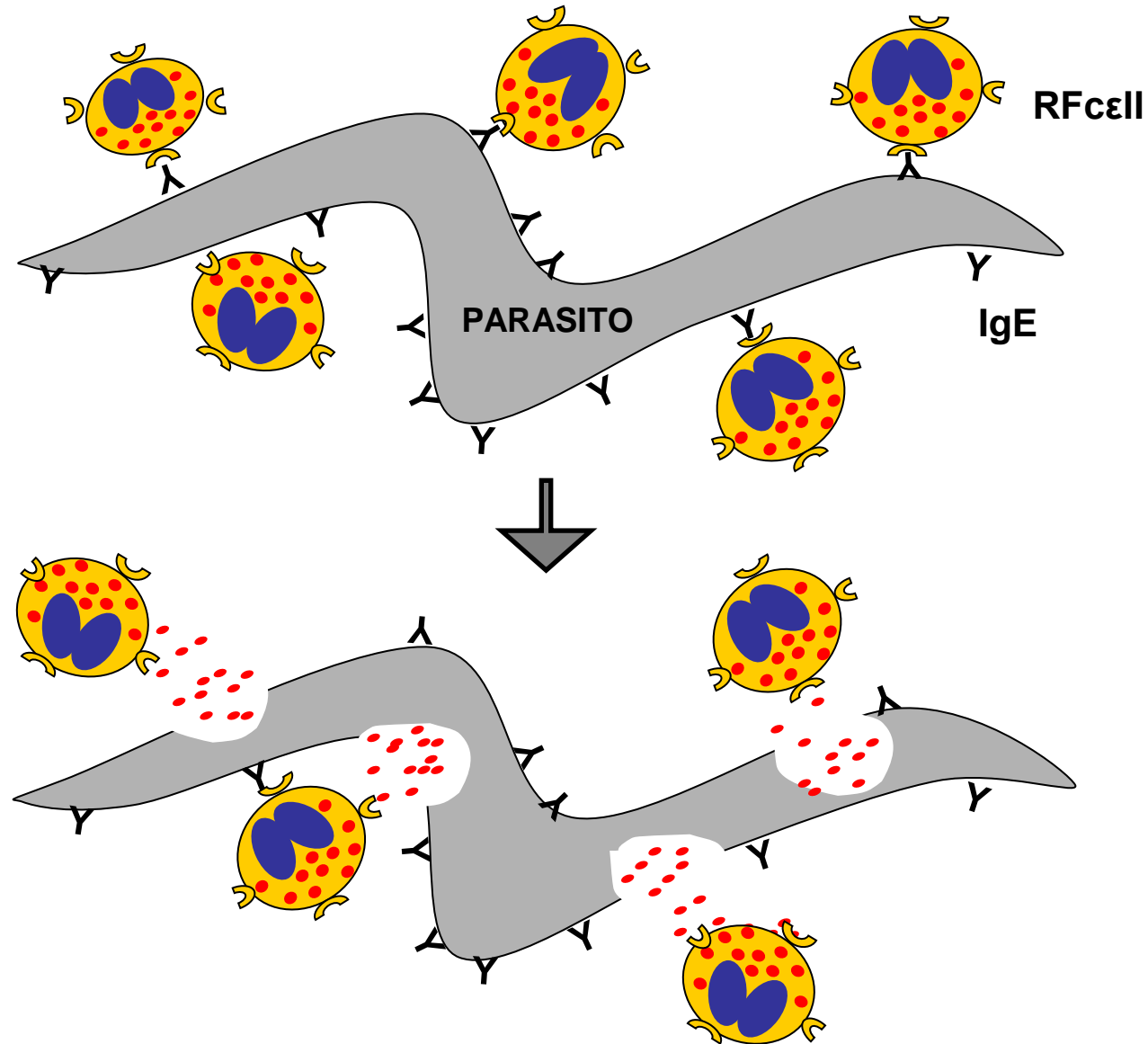
IgE y degranulación del mastocito



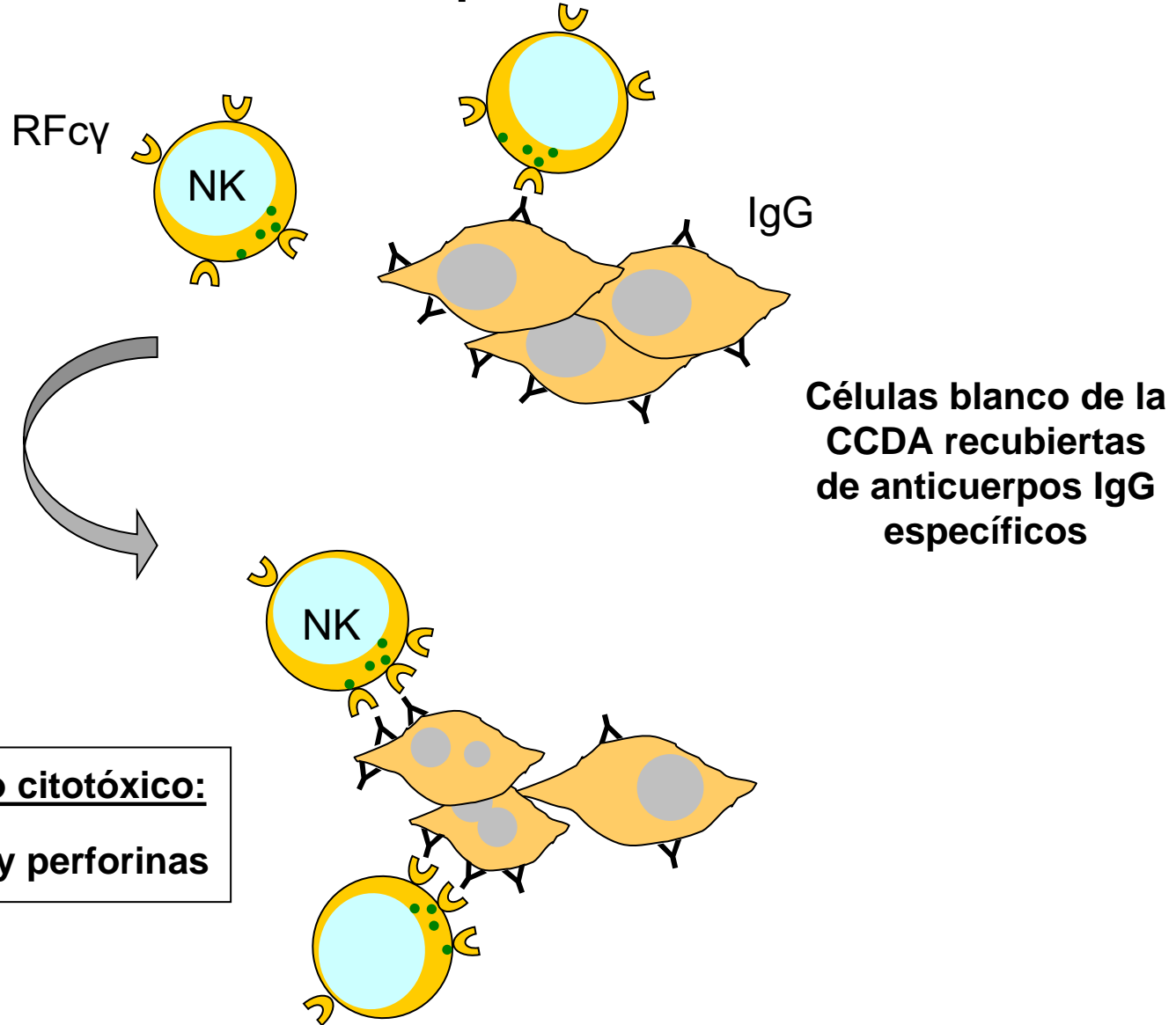
Los FcεRI de los mastocitos de individuos sanos (no atópicos) se encuentran asociados a anticuerpos IgE de diversas especificidades.

El entrecruzamiento de los FcεRI a consecuencia del reconocimiento del antígeno induce la activación del mastocito y su degranulación

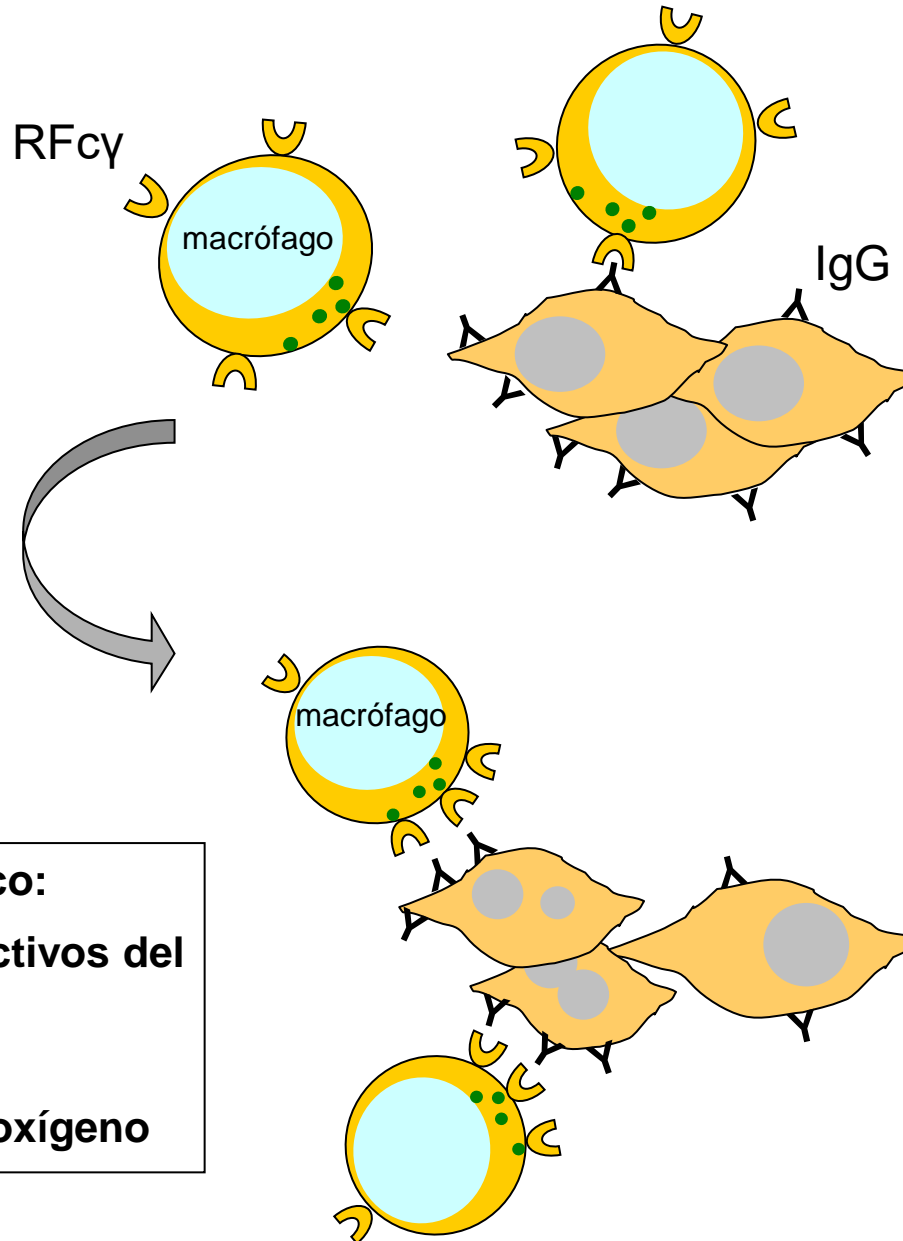
IgE y citotoxicidad celular dependiente de Acs (CCDA) mediada por eosinófilos (también por monocitos y plaquetas)



IgG y citotoxicidad celular dependiente de Acs (CCDA) mediada por células NK



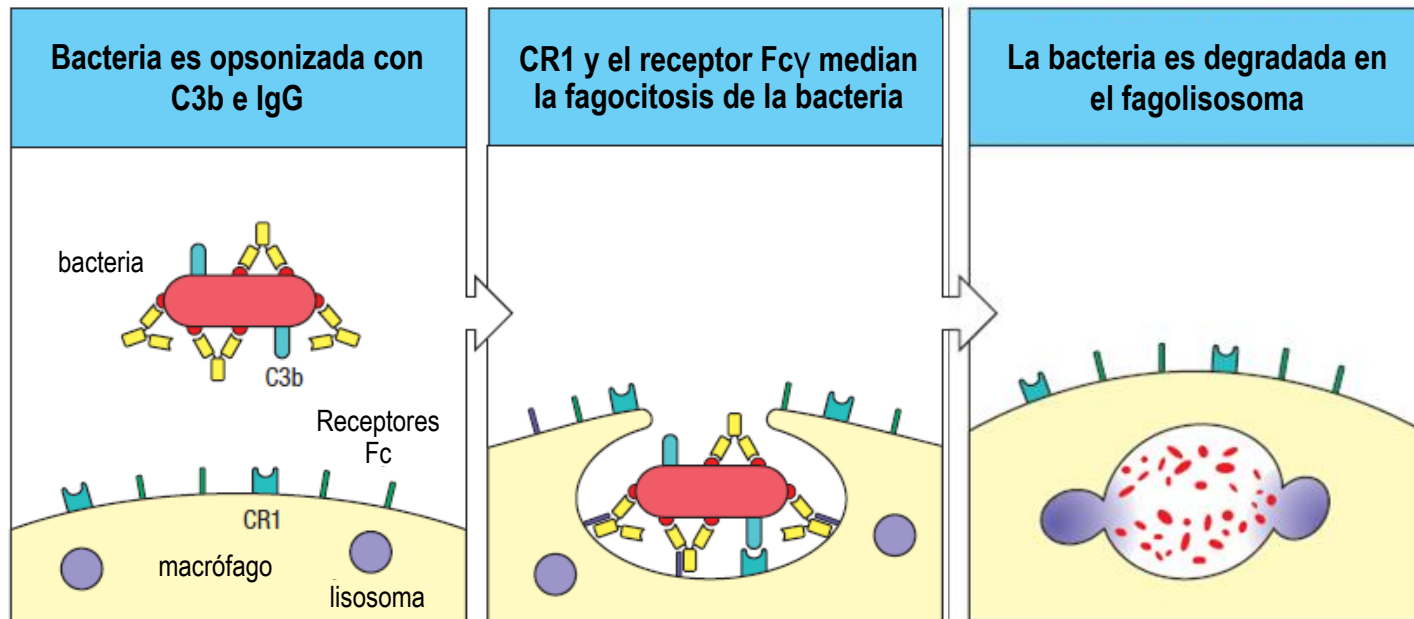
IgG y citotoxicidad celular dependiente de Acs (CCDA) mediada por células de estirpe mieloide (neutrófilos, monocitos, macrófagos)



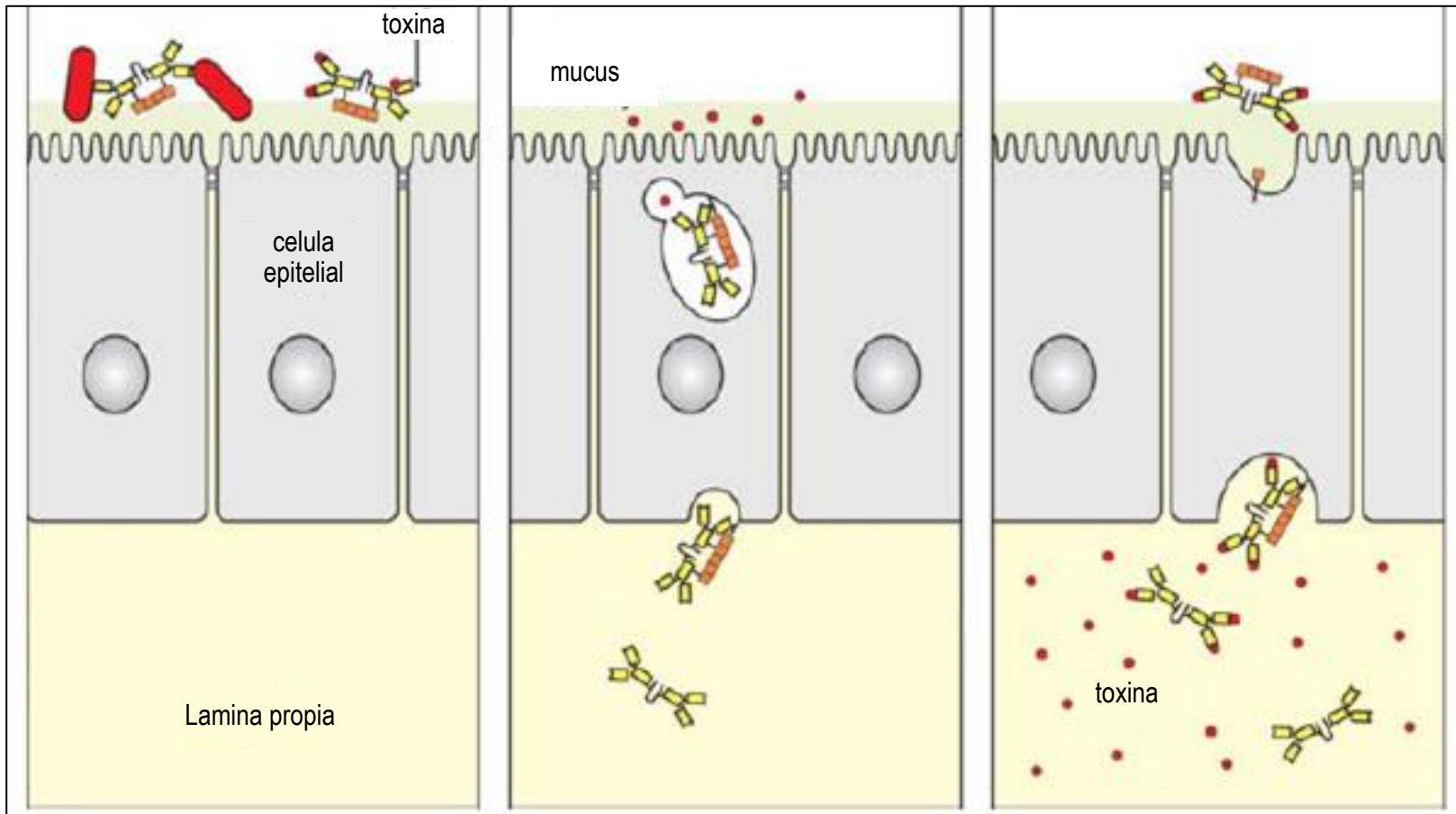
Mecanismo citotóxico:

- * Intermediarios reactivos del oxígeno
- * Mecanismos independientes del oxígeno

IgG y fagocitosis mediada por anticuerpos mediada por células de estirpe mieloide (neutrófilos, macrófagos)



Funciones efectoras de la IgA

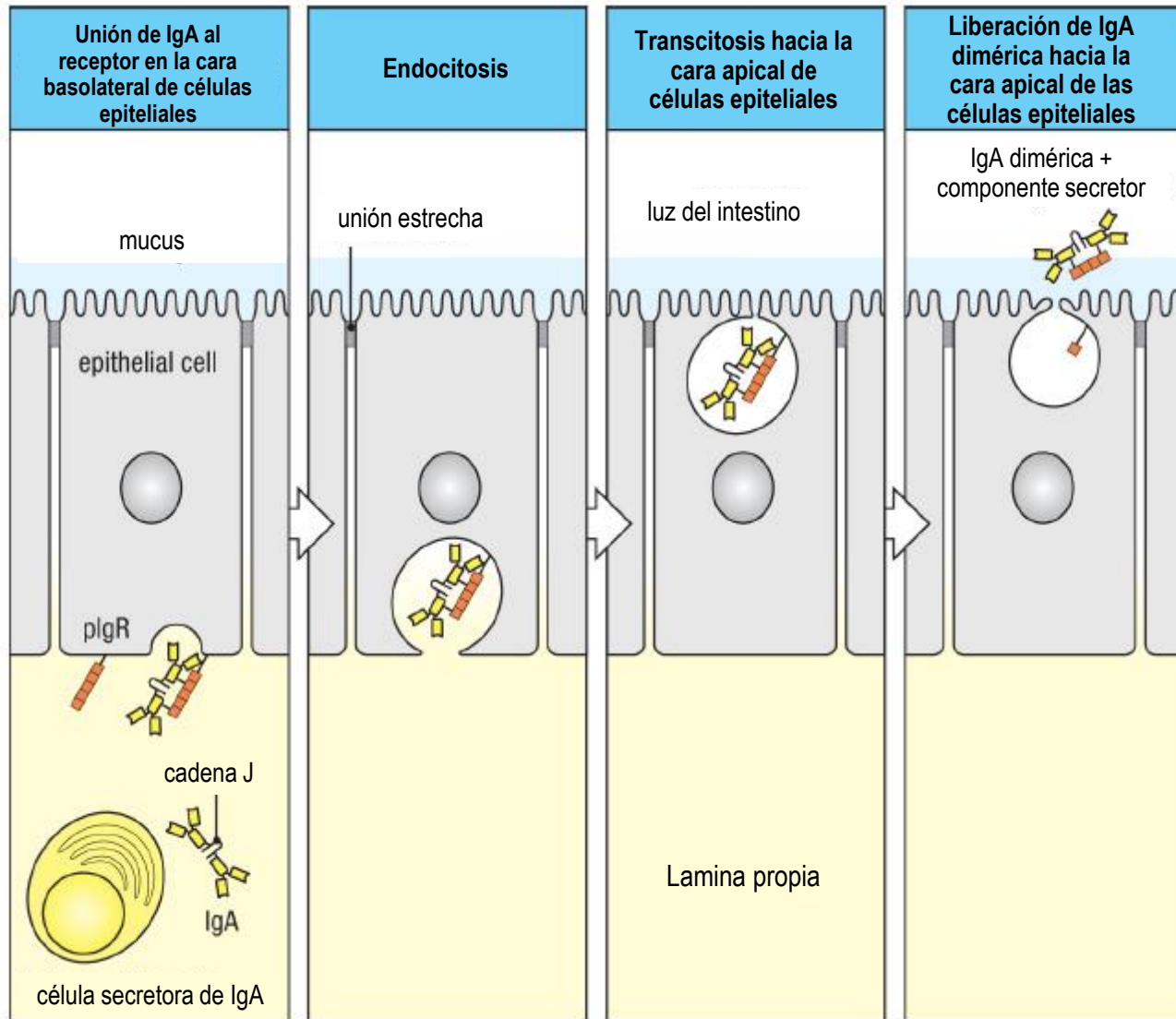


Neutralización en el
lumen del epitelio
mucoso

Neutralización
intracelular
(endosomas)

Neutralización en la
lámina propia

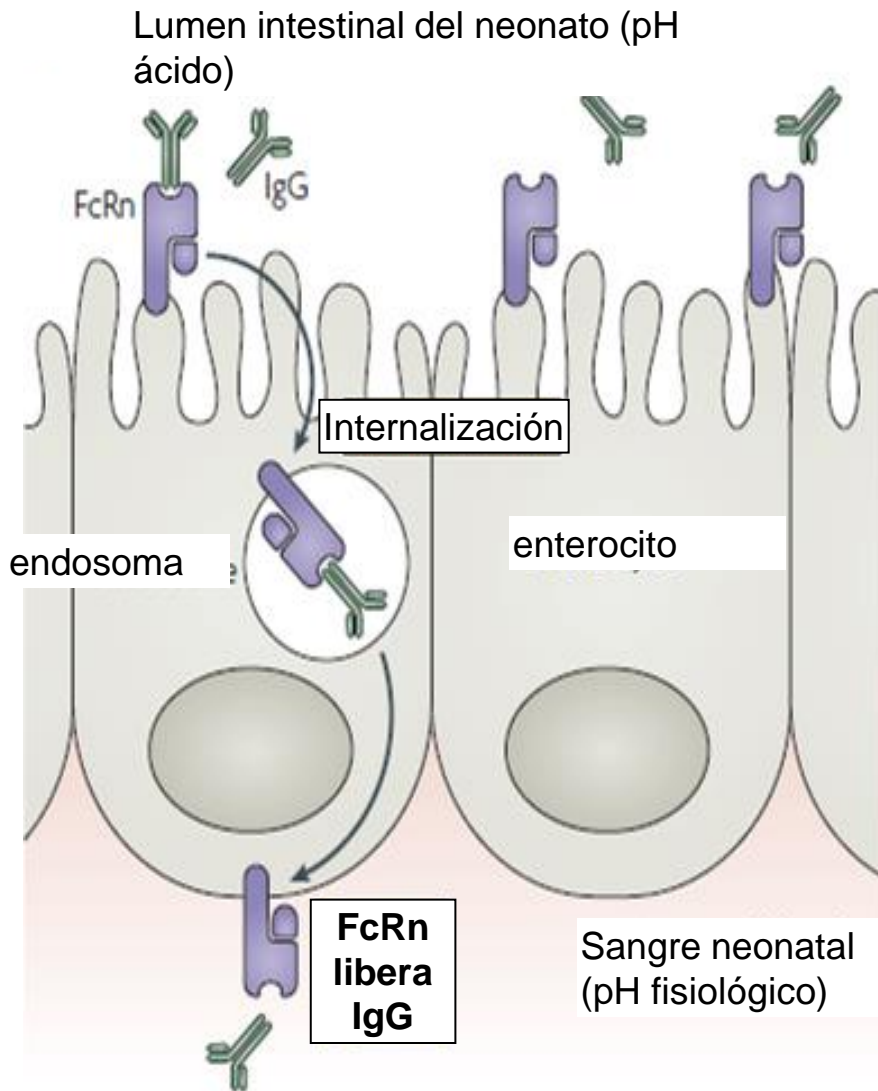
Transporte de IgA a través del epitelio



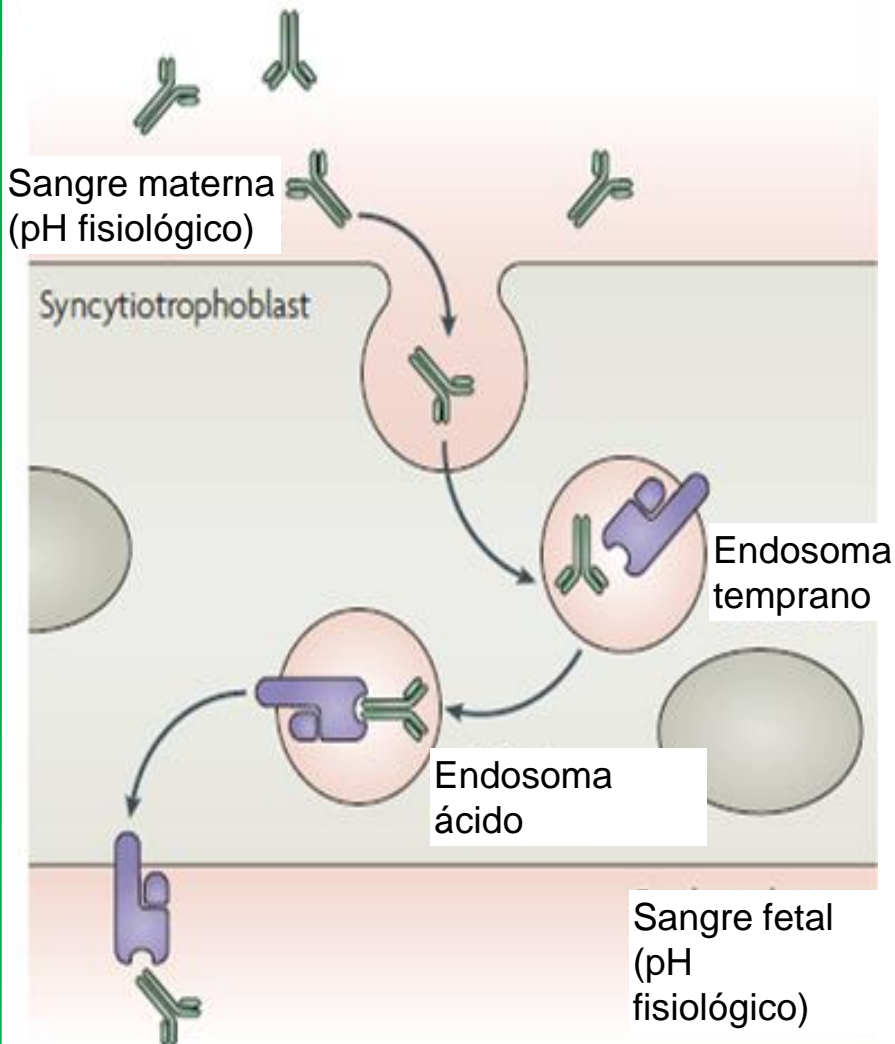
Polymeric immunoglobulin receptor (pIgR)

Receptor neonatal para IgG (FcRn)

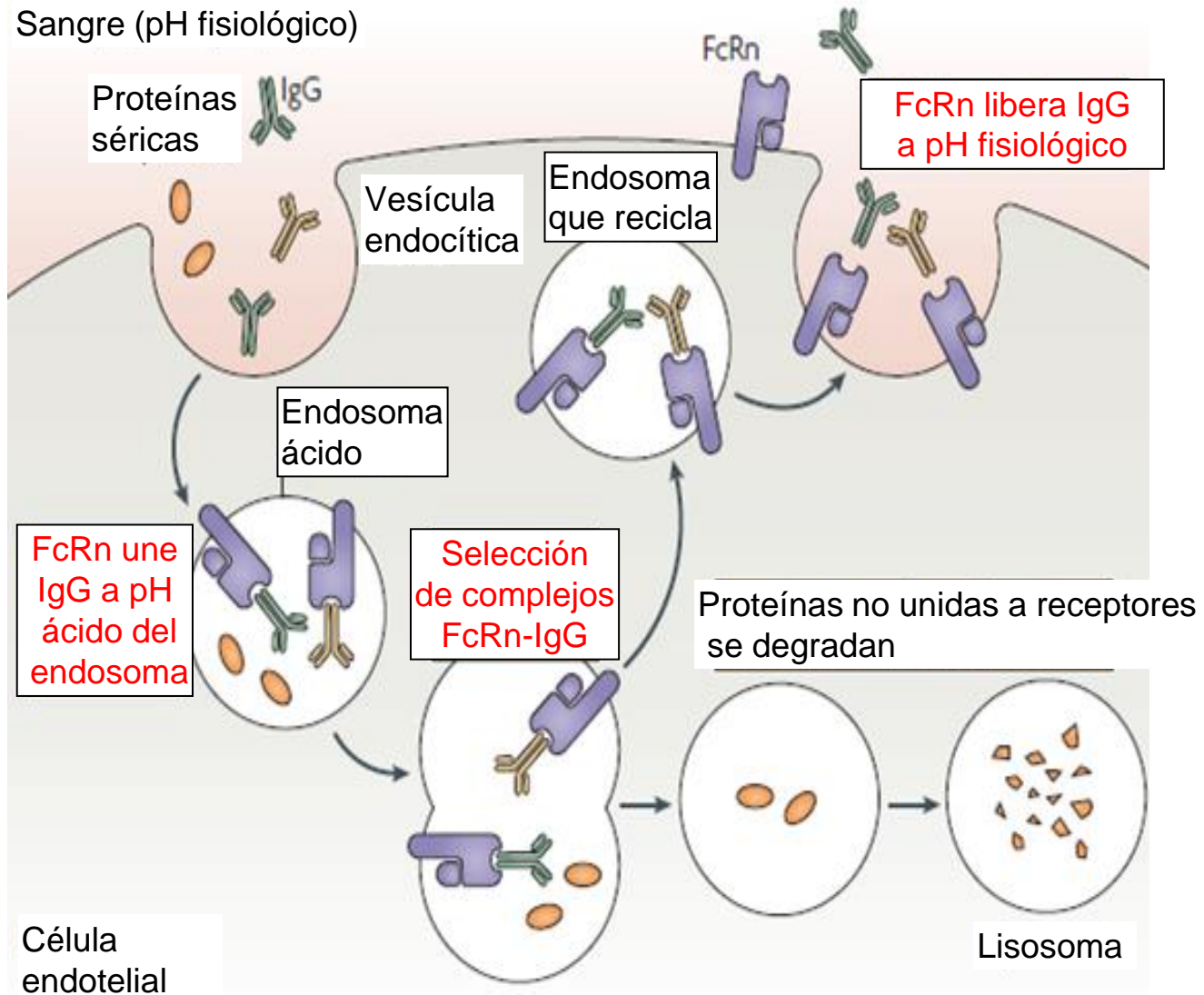
NIÑO LACTANTE:
captación de IgG desde lumen intestinal



VIDA FETAL:
Captación de IgG de sangre materna



VIDA ADULTA: regulación de la vida media de la IgG



Gracias!