

El sistema inmune de los teleósteos (III): Respuesta inmune específica

Imanol Ruiz, Ana Belén Fernández, Ignacio de Blas

Laboratorio de Ictiopatología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza
c/ Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza (España)
e-mail: imaruiz@unizar.es

Introducción

El sistema inmune específico es un componente del sistema protector basado en una serie de cambios adaptativos que tienen lugar dentro de las poblaciones linfoides (linfocitos T y linfocitos B), dirigidos hacia la estructura molecular que provocó su estímulo. Esto permite al individuo sobrevivir y mantener su homeostasia en un medio que le es hostil por naturaleza.

Dentro del sistema inmune, esta respuesta engloba los mecanismos más complejos y desarrollados y se caracteriza por su especificidad y capacidad de memoria. En términos generales se habla de respuesta específica cuando nos referimos a la producción de anticuerpos, pero la inmunidad específica está compuesta por dos elementos: la respuesta humoral, mediada por anticuerpos y desarrollada básicamente en el medio extracelular, y la respuesta celular, mediada por linfocitos T y con acción intracelular. Casi todos los trabajos que estudian el sistema inmune de los peces se han centrado en la respuesta humoral, por lo que la celular permanece desconocida en muchos aspectos (Bernstein y cols, 1998).

Para algunos autores, las verdaderas células ejecutoras del sistema inmune específico son los linfocitos circulantes. Estas células presentan en sus correspondientes membranas celulares una serie de receptores capaces de reconocer ciertas moléculas antigénicas. Se cree que cada linfocito lleva impreso un número muy limitado de estos receptores por lo que su capacidad para reconocer determinantes antigénicos es también muy limitada. Cuando un linfocito entra en contacto con un antígeno al que es capaz de reconocer, sufre una serie de cambios tanto morfológicos como estructurales, que implican la proliferación de células mediante división por mitosis (Tatner, 1990), destinadas a reconocer a dicho antígeno. La respuesta podrá ser de tipo humoral, mediante la síntesis de moléculas de anticuerpo, o de tipo celular, dependiendo del tipo de linfocito de que se trate (Laird y Needham, 1988).

Respuesta humoral específica

Se produce a través mecanismos que constituyen una compleja red de células especializadas, proteínas, mensajes bioquímicos y genes, que aportan los medios necesarios para que el organismo responda específicamente a los antígenos, procedentes de agentes patógenos u otras sustancias extrañas, mediante anticuerpos efectores de alta especificidad y afinidad por el antígeno que ha inducido su producción.

Anticuerpos

Los anticuerpos producidos frente a los antígenos son proteínas del grupo de las inmunoglobulinas. Los peces son capaces de producir únicamente un tipo de estas inmunoglobulinas, la IgM, cuya estructura es generalmente un tetrámero del monómero H_2L_2 , compuesto por cuatro cadenas polipeptídicas, dos pesadas (H) y dos ligeras (L), en las que se presentan algunos dominios variables que interaccionan específicamente con el antígeno con el que se combinan (Havarstein y cols, 1988). No obstante, existe una considerable heterogeneidad inter e intraespecífica, pudiendo encontrar distintos tipos de cadenas pesadas y ligeras (Lobb y Olson, 1988).

Las inmunoglobulinas aparecen fundamentalmente en el plasma, el mucus y la bilis, aunque no se conocen bien los mecanismos por los cuales aparecen en el mucus y la bilis (Bradshaw y cols, 1971; Lobb y Clem, 1981). Se han encontrado diferencias funcionales entre inmunoglobulinas de secreciones mucosas y las del suero, que son otro ejemplo de la heterogeneidad intraespecífica. Las diferencias físico-químicas entre ellas son mínimas, pero han podido diferenciarse por anticuerpos monoclonales (Rombout y cols, 1993). Por otra parte, se han detectado altos niveles de anticuerpos específicos en bilis y mucus tras infecciones orales o por inmersión, en las que no aparecían anticuerpos en suero. Todo ello, hace pensar en la posibilidad de que los peces tengan un sistema inmune de mucosas, comparable al de los mamíferos, que constituiría una importante línea defensiva primaria (St. Louis-Cormier y cols, 1984).

Las inmunoglobulinas pueden actuar como moléculas solubles efectoras en el suero y como receptores de superficie de linfocitos B. Los mecanismos por los cuales los anticuerpos ejercen su función antimicrobiana son varios. En las infecciones víricas son capaces de unirse a la superficie del virus e impedir así la infección de las células. En las infecciones bacterianas, pueden mediar la protección por dos vías: mediante su unión a la membrana de la bacteria, que induce la fijación del complemento y su desencadenamiento por la vía clásica, lo que finalmente resulta en la lisis bacteriana, o mediante el recubrimiento de la partícula de forma que actúan como opsoninas y facilitan el reconocimiento por las células fagocíticas. Como receptores de células B, participan en el reconocimiento del antígeno para la producción de anticuerpos (Bernstein y cols, 1998).

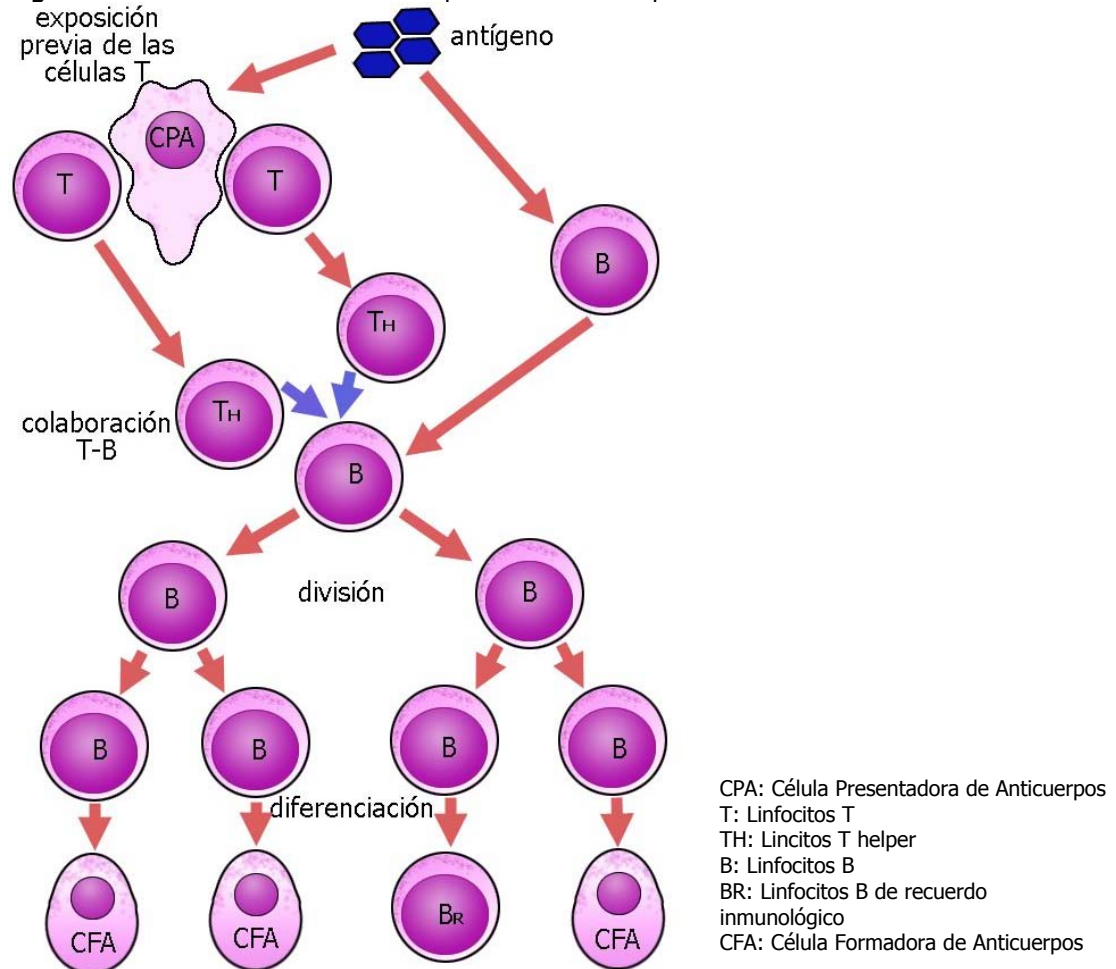
Según su actividad biológica, los anticuerpos pueden clasificarse en: anticuerpos aglutinantes, producidos frente a antígenos particulados en los que induce la formación de agregados, probablemente menos tóxicos y más fáciles de fagocitar; anticuerpos precipitantes, que precipitan antígenos de naturaleza soluble, y son importantes como antitoxinas; y anticuerpos neutralizantes, que neutralizan la acción del agente patógeno, mediante su unión a la membrana (De Kinkelin y cols, 1991).

Producción de anticuerpos

Básicamente se produce siguiendo el mismo proceso que en mamíferos. Las células presentadoras de antígeno (principalmente macrófagos), captan el antígeno y lo procesan para presentarlo en el contexto del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) tipo II, a los receptores de antígeno de los linfocitos T, y de esta forma se activan (figuras 1 y 2). Los linfocitos B se activan por la unión del antígeno entero a los receptores de superficie que son inmunoglobulinas. Así, en las células B activadas, se desencadena la proliferación y secreción de anticuerpos, para lo que es necesaria en ocasiones la asociación con las células T activadas. La colaboración entre estos tipos celulares requiere gran proximidad entre ellos, por lo que las interacciones se

producen en órganos linfoides como bazo y riñón (Vallejo y cols, 1992; Austyn y Wood, 1993).

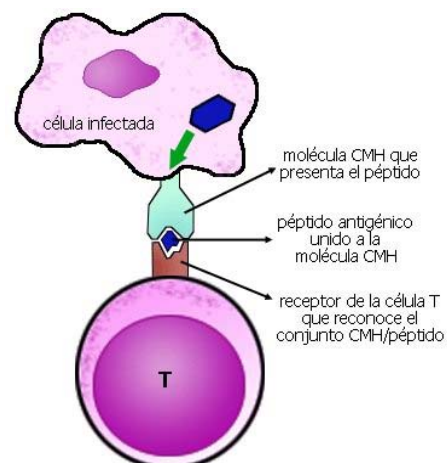
Figura 1. Colaboración celular en las respuestas de anticuerpos.



La primera evidencia de la existencia de CMH en peces fue en 1990 en carpa, y desde entonces se ha demostrado en gran variedad de especies, incluido el salmón Atlántico y la trucha arco iris, la existencia de genes y moléculas del CMH tipo I (Grimholt y cols, 1993), asociado a la respuesta celular y tipo II, asociado a la humoral (Hordvik y cols, 1993).

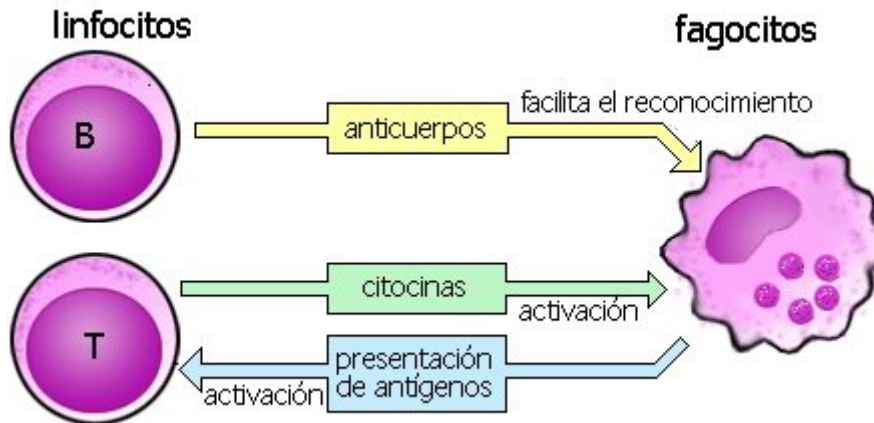
El CMH II son moléculas localizadas generalmente en la superficie de las células presentadoras de antígeno. Su función es presentar antígenos extracelulares procedentes de bacterias, virus, etc, en forma de péptidos. La célula importa en vacuolas el antígeno y las moléculas de CMH unidas a la membrana, sobre las que se distribuyen los péptidos procedentes del antígeno, y que son de nuevo exportadas a la superficie celular para ser presentados a los linfocitos T que colaboran con los linfocitos B en la producción de anticuerpos.

Figura 2. Presentación del antígeno a las células T (CMH: Complejo Mayor de Histocompatibilidad).



La activación de los linfocitos se inicia por la unión del antígeno a receptores específicos. Los receptores de los linfocitos B son formas de los anticuerpos secretados por la propia célula unidos a la membrana, y son capaces de reconocer gran variedad de antígenos (haptenos, grandes proteínas, carbohidratos, etc.) (figura 3). En contraste, las células T sólo son capaces de reconocer pequeños péptidos, por lo que necesitan que las células presentadoras de antígeno, lo procesen y lo presenten bajo esa forma. Existen antígenos T-dependientes, que inducen la respuesta humoral mediante la colaboración de linfocitos T (Miller y cols, 1987; Vallejo y cols, 1992), y antígenos T-independientes, que son moléculas suficientemente grandes capaces de estimular directamente a los linfocitos B (Miller y cols, 1987).

Figura 3. Proceso de activación de linfocitos.



El fundamento de la respuesta inmune adaptativa es la selección de clones. Cada linfocito expresa sólo un tipo de receptor y sólo es capaz de responder a uno, o una cantidad limitada de antígenos. Sólo las células con los receptores apropiados se estimulan por un antígeno y se expanden clónicamente, lo que permite la regulación precisa de la respuesta inmune y la generación de una respuesta adaptativa y específica (Miller y cols, 1994).

Memoria inmunológica

El hecho de que se pueda inmunizar o vacunar a los peces frente a varios procesos, pone de manifiesto la presencia de un fenómeno de memoria inmunológica. Este proceso permite al organismo producir una respuesta inmune mucho más rápida y eficaz en el segundo o posteriores encuentros con el antígeno. En general la respuesta secundaria es más débil en peces que en mamíferos, pero los títulos de anticuerpos en esta segunda respuesta alcanzan niveles entre 2 y 8 veces superiores a los de la primera, y la cantidad de antígeno necesaria para desencadenarla es menor (Zapata, 1985; Arkoosh y Kaattari, 1991).

La afinidad del anticuerpo por el antígeno en la respuesta secundaria es igual que en la primaria. Esto contrasta con lo que ocurre en mamíferos, en los que la respuesta secundaria produce anticuerpos menos afines, y por tanto, capaces de reaccionar con otras moléculas relacionadas con el antígeno que indujo la respuesta primaria (Arkoosh y Kaattari, 1991).

Algunos estudios demuestran que el desarrollo de la memoria se debe a un aumento en el número de células B precursoras, y no a una mayor capacidad de proliferación de estas células, como sucede en mamíferos (Arkoosh y Kaattari, 1991), mientras que otros han descrito la gran capacidad de expansión y proliferación clonal de las células B (van Ginkel y cols, 1992).

No obstante, la producción de una respuesta secundaria en inmunizaciones está condicionada por numerosos factores, como la dosis de inmunización primaria, la ruta de administración, y el tiempo transcurrido entre los dos contactos con el antígeno (Zapata, 1985).

Respuesta celular específica

La inmunidad celular está mediada por linfocitos T y es necesaria cuando los agentes escapan al sistema humoral y llegan a ser intracelulares, como ocurre en las infecciones víricas, o cuando las células de propio hospedador se transforman en tumorales y es necesario destruirlas. En vertebrados superiores esta función la ejercen los linfocitos Tc y células NK. Los antígenos intracelulares son presentados a los linfocitos Tc mediante el CMH tipo I, presente en la mayoría de las células del organismo, cuyas moléculas presentan los péptidos procedentes de las proteínas del citosol. Las células citotóxicas se encargan de destruir a las células que presentan esos péptidos extraños (Bernstein y cols, 1998).

En los peces, los mecanismos de inmunidad celular han sido muy poco estudiados, pero queda patente la existencia de este tipo de respuesta en las reacciones de hipersensibilidad retardada (Stevenson y Raymond, 1990), rechazo a aloinjertos y de toxicidad frente a las células infectadas o transformadas por un bioagresor que presentan los peces, aunque sin alcanzar los niveles obtenidos en vertebrados superiores. Así mismo, se ha demostrado la existencia de memoria para la inmunidad celular en trucha al producirse un rechazo más rápido en los injertos secundarios (Zapata, 1985).

No ha sido demostrada la existencia de linfocitos T citotóxicos en los peces teleósteos, pero se han encontrado linfocitos pequeños y agranulares con funciones similares a las células citotóxicas (Yoshinaga y cols, 1994; Yamaguchi y cols, 1996) y se ha demostrado la existencia de moléculas y genes de CMH tipo I (Grimholt y cols, 1993), por lo que cabe suponer que aunque de forma menos desarrollada, los peces pueden ejercer una respuesta inmune celular similar a la de los grandes vertebrados.

Bibliografía

1. Arkoosh, M.R., S.L. Kaattari (1991). Development of immunological memory in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) I. An immunochemical and cellular analysis of the B cell response. *Dev. Comp. Immunol.*, 15:279-293
2. Austyn, J.M., K.J. Wood (1993). Principles of cellular and molecular immunology. Oxford University Press, Oxford.
3. Bernstein, R.M., S.F. Schluter, J.J. Marchalonis (1998). Immunity. En: The physiology of fishes. D.H. Evans. 2ª ed. CRC Press LLC. USA. 215-242
4. Bradshaw, C.M., A.S. Richard, M.M. Sigel (1971). IgM antibodies in fish mucus. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 136:1122-1124
5. De Kinkelin, P., C.H. Michel, P. Ghittino (1991). Tratado de las enfermedades de los peces. Acribia S.A. Zaragoza.
6. Grimholt, U., I. Hordvik, V.M. Fosse, I. Olsaker, C. Endrese, y Ø. Lie (1993). Molecular cloning of major histocompatibility complex class I cDNAs from Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Immunogenetics*, 37:469-473
7. Havarstein, L.S., P.M. Assjord, S. Ness, C. Endresen (1988). Purification and partial characterization of an IgM-like serum immunoglobulin from Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Dev. Comp. Immunol.*, 12:773-785
8. Hordvik, I., U. Grimholt, V.M. Fosse, Ø. Lie, C. Endresen (1993). Cloning and sequence analysis of cDNAs encoding the MHC class II β chain in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Immunogenetics*, 37:437-441

9. Laird, L., T. Needham (1988). The immune system. En: Salmon and Trout Farming. Ellis Hordwood Series in Aquaculture and Fisheries support. England. 44-46
10. Lobb, C.J., L.W. Clem (1981). The metabolic relationships of the immunoglobulins in fish serum, cutaneous mucus and bile. *J. Immunol.*, 127:1525-1529
11. Lobb, C.J., M.O. Olson (1988). Immunoglobulin heavy H chain isotypes in a teleost fish. *J. Immunol.*, 141:1236-1245
12. Miller, N.W., J.E. Bly, F. van Ginkel, C.R. Ellsaesser, L.W. Clem (1987). Phylogeny of lymphocyte heterogeneity: identification and separation of functionally distinct subpopulations of channel catfish lymphocytes with monoclonal antibodies. *Dev. Comp. Immunol.*, 11:739-747
13. Miller, N.W., M.A. Ryczyn, M.R. Wilson, G.W. Warr, J.P. Naftel, L.W. Clem (1994). Development and characterization of channel catfish long term B cell lines. *J. Immunol.*, 152:2180-2189
14. Rombout, J.H., N. Taverne, M. van de Kamp, A.J. Taverne-Thiele (1993). Differences in mucus and serum immunoglobulin of carp (*Cyprinus carpio* L.). *Dev. Comp. Immunol.*, 17:309-317
15. St. Louis-Cormier, E.A., C.K. Osterland, P.D. Anderson (1984). Evidence for a cutaneous secretory immune system in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Dev. Comp. Immunol.*, 8:71-80
16. Stevenson, R.M.W., B. Raymond (1990). Delayed-type hypersensitivity skin reactions. En: Techniques in fish immunology. FITC-1. J.S. Stolen, T.C. Fletcher, D.P. Anderson, B.S. Roberson y W.B. Muiswinkel. SOS Publications. Fair Haven, New Jersey. USA. 173-178
17. Tatner, M.F. (1990). Quantitative and qualitative differences in the antibodies produced by immunosuppressed Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* to *Aeromonas salmonicida*. *Aquaculture*. 88:205-211
18. Vallejo, A.N., N.W. Miller, N.E. Harvey, M.A. Cuchens, G.W. Warr, L.W. Clem (1992). Cellular pathway(s) of antigen processing and presentation in fish APC: endosomal involvement and cell-free antigen presentation. *Dev. Comp. Immunol.*, 3:51-65
19. van Ginkel, F.W., N.W. Miller, C.J. Lobb, L.W. Clem (1992). Characterization of anti-hapten antibodies generated in vitro by channel catfish peripheral blood lymphocytes. *Dev. Comp. Immunol.*, 16:139-151
20. Yamaguchi, K., H. Kodama, M. Miyoshi, J. Nishi, M. Mukamoto, T. Baba (1996). Inhibition of cytotoxic activity of carp lymphocytes (*Cyprinus carpio*) by anti-thymocyte monoclonal antibodies. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 51:211-221
21. Yoshinaga, K., N. Okamoto, O. Kurata, Y. Ikeda (1994). Individual variations of Natural Killer activity of rainbow trout leucocytes against IPN virus-infected and uninfected RTG-2 cells. *Fish Pathol.*, 29:1-4
22. Zapata, A. (1985). Inmunología de peces teleósteos. En: Primer curso teórico-práctico sobre acuicultura. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid. 123-205