

1. Juncos

(731)

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE ODONTOLOGIA



IgA SALIVAL, SU CONCENTRACION NORMAL Y
CORRELACION CON LA INCIDENCIA DE CARIES

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
CIRUJANO DENTISTA
P R E S E N T A

SAARA KYLLIKKI NIEMINEN JAASKO

México, D. F.

1979

15115



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

CAPITULO I	
INTRODUCCION	1
CAPITULO II	
HISTORIA	4
CAPITULO III	
INMUNOLOGIA GENERAL	9
CAPITULO IV	
LAS INMUNOGLOBULINAS	27
CAPITULO V	
LAS INMUNOGLOBULINAS SECRETADAS	42
CAPITULO VI	
MATERIALES Y METODOS	62
CAPITULO VII	
RESULTADOS Y CONCLUSIONES	68
AGRADECIMIENTOS	77
BIBLIOGRAFIA	78

CAPITULO I

INTRODUCCION

Recientemente se ha desarrollado el concepto de un sistema inmune en las secreciones del cuerpo independientemente de los anticuerpos en el suero, principalmente porque se ha observado que el contenido de inmunoglobulinas de ciertos fluidos no vasculares es muy diferente al del suero. La inmunoglobulina A (IgA) que representa de 10 a 15 por ciento de las inmunoglobulinas del suero, es la especie predominante en la mayoría de las secreciones que bañan a las membranas mucosas que tienen continuidad con el medio exterior

La saliva es el medio constante de la cavidad oral y baña continuamente a los dientes y a las membranas mucosas. Como la caries dental es un proceso que empieza en la superficie del diente, el medio en el que ocurre, la saliva, ha sido sujeta a numerosos estudios para determinar el papel del fluido en la promoción o en la inhibición del proceso carioso.

Aunque es aparente que la saliva tiene influencia sobre la formación de caries, el mecanismo no se conoce. El efecto es probablemente indirecto, y resulta de varias acciones que llevan al establecimiento de condiciones favorables o desfavorables.

Se ha sostenido desde hace mucho tiempo que las bacterias son los agentes causantes de las caries. Hay estudios recientes que apoyan esta hipótesis. Se ha de-

mostrado, por ejemplo, que animales criados en condiciones estériles no producen caries aunque se les alimente con una dieta que es altamente cariogénica para animales criados en condiciones normales. Si a estos animales, criados en condiciones estériles, se les inocula con bacterias específicas entonces desarrollan caries.

En base a la hipótesis de que los microorganismos juegan un papel crítico en la etiología de las caries, se han hecho muchos intentos para aislar e identificar sustancias antibacterianas de individuos que son resistentes a las caries dentales. Hasta la fecha estos estudios sólo han tenido un éxito parcial.

Se sabe que la IgA secretada es sintetizada cerca de las membranas mucosas o cerca del epitelio glandular y que es transferida activamente a las secreciones externas como la saliva. El hecho de que haya una transferencia activa indica la importancia de la IgA en la inmunidad local. La IgA secretada tiene un efecto neutralizante contra los virus bien establecido, pero no se sabe todavía si ejerce actividad antibacteriana. El establecer la resistencia que da la inmunoglobulina secretada a la infección por diferentes agentes puede llevar a establecer métodos de inmunización que inducen la producción de anticuerpos secretados. Esto ya se ha hecho para el caso de varios virus que afectan el tracto respiratorio; la inmunización local produce una resistencia más efectiva que la inmunización sistémica.

El objeto del trabajo que se reporta en esta tesis

fué el de establecer los niveles de concentración normal de la inmunoglobulina A salival en la población mexicana, su variación diurna y su posible correlación con la incidencia de caries.

Hay valores de concentración de IgA salival reportados pero estos corresponden a individuos que habitan un medio ambiente y tienen una alimentación diferente a la de la población mexicana. Con respecto a la correlación de la concentración de IgA salival y la incidencia de caries, los reportes publicados son contradictorios.

CAPITULO II

HISTORIA

La inmunología fué parte de la microbiología durante mucho tiempo; hasta el principio del siglo veinte se consideró a la inmunología como una ciencia independiente. El término inmune se deriva del Latín immunis que significa exento de cargos (impuestos, gastos). Sin embargo, el término inmunidad significa resistencia a un ataque posible por agentes infecciosos.

Desde épocas antiguas se observó una resistencia a ataques secundarios de algunas enfermedades. En China y en el Oriente se hicieron los primeros intentos de proteger contra la viruela por medio de la inoculación utilizando el fluido vesicular de las personas infectadas.

La primera inmunización fué efectuada por Edward Jenner (1749-1823), quien observó que las personas recuperadas después de una infección de viruela de vaca que daban protegidas contra la viruela. Jenner introdujo la vacunación con viruela de vaca en 1796 a manera de proteger contra la viruela. El término vacunación se introdujo para substituir el término variolación.

El método científico no se aplicó al estudio de los fenómenos inmunológicos hasta casi un siglo después como consecuencia de los estudios microbiológicos de Louis Pasteur y sus colaboradores. Ellos estudiaron la posibilidad de proteger contra la infección

por medio de vacunación con extractos atenuados de microorganismos.

La teoría de la inmunidad celular fué introducida por Elie Metchnikoff (1845-1916). Al introducir una espina de rosal en larvas de estrellas de mar observó que pocas horas después la espina estaba rodeada de células móviles del organismo. Ya había sido establecido por Koch y Neisser que se pueden encontrar bacterias en leucocitos, pero se creyó que se debía a una invasión bacteriana. Metchnikoff mostró que de hecho los leucocitos se habían engullido a las bacterias, proceso al cual llamó fagocitosis.

Hay un mecanismo de defensa humoral descrito por Pfeiffer y Isaeff (1894) que se llama el fenómeno de Pfeiffer. Cuando se inyecta el cólera vibrios en el periitoneo de conejillos de indias previamente inmunizados se observa que las bacterias pierden movilidad, se agrupan y después son fagocitadas por leucocitos, pero se observa también que las bacterias son lisadas en ausencia de células. Jules Bordet se interesó en el fenómeno de Pfeiffer y mostró en 1895 que la lisis bacterial y la lisis de glóbulos rojos requieren de dos factores: uno que llamó sensitizador que era termoestable y específico y otro que llamó alexina que no era termoestable ni específico. El factor alexina fué llamado cistasa por Metchnikoff y complemento por Ehrlich.

Ambas teorías, la celular y la humoral, tuvieron amplia aceptación eventualmente y se estableció que los

factores humorales tenían origen en las células linfáticas.

Durante este período se introdujo el término antígeno para designar cualquier substancia capaz de inducir una reacción contra sí misma, y el término anticuerpo que significa el factor presente en el suero que posee la capacidad de actuar contra un antígeno.

L. Landois publicó en 1875 su estudio sobre transfusión sanguínea. Observó los efectos de transfusiones entre animales de diferentes especies y determinó que era preferible trabajar dentro de una misma especie. Afirmó también, sin embargo, que había diferencias dentro de una especie, ya que las células del receptor podían ser hemolisadas por el suero de un donador de la misma especie.

Al terminar el siglo 19, todos los fenómenos inmunológicos observados apoyaban la idea de que se trataba de mecanismos de defensa. Las observaciones de Landsteiner y particularmente el descubrimiento de la anafilaxis por Richet y Portier en 1902 parecían contradicciones de esa idea. Ellos estudiaron la actividad tóxica de los tentáculos de Actinaria inyectando un extracto de glicerina en perros. La primera inyección en dosis pequeñas, no tenía efecto observable, y pensaron que los animales quedaban protegidos. Pero la segunda inyección produjo un shock frecuentemente letal para los animales. Propusieron el término anafilaxis para este fenómeno.

Los primeros estudios en el campo de la inmunología de trasplantes incluyeron la producción de sueros inmunes contra componentes de tejidos y el descubrimiento de la especificidad de los antígenos en especies y tejidos. En 1902, Metchnikoff y Besredka prepararon un suero antileucocito y observaron que este suero poseía actividad citotóxica contra leucocitos. También notaron que la inyección de pequeñas cantidades de suero inducía la proliferación de estas células en el animal inyectado. El efecto citotóxico de estos sueros ha sido el punto de partida en el uso reciente del "suero antilinfocito" para la inhibición de el rechazo de los trasplantes.

Los estudios de Landsteiner y sus colaboradores están entre las aplicaciones más productivas de la química a la inmunología. En 1903, Obermayer y Pick hicieron la hipótesis de que los antígenos poseían la capacidad de inmunogenicidad y la capacidad de reaccionar con los anticuerpos. Landsteiner observó que estas propiedades se podían alterar tratando químicamente a los antígenos. Esto inició en 1914 los estudios de Landsteiner sobre antígenos artificiales conjugados. Varios grupos químicos fueron unidos a las proteínas y se demostró la especificidad de estos grupos en reacciones serológicas. En 1921, Landsteiner estableció el término haptenos para designar a los grupos que por sí mismos eran incapaces de provocar la formación de anticuerpos pero sin embargo podían efectuar reacciones es-

pecíficas con los anticuerpos.

Una observación importante hecha por Felton en 1942 mostró que si se inyectan ratas con cantidades muy pequeñas de polisacárido pneumococal quedaban protegidas contra una infección del microbio correspondiente, pero que si la inyección se hacía con grandes cantidades del polisacárido las ratas se podían infectar. Este fenómeno de Felton se conoce ahora como tolerancia inmunológica.

El período moderno del desarrollo de la inmunología que empezó justo antes de la Segunda Guerra Mundial se caracteriza por la gran producción de nuevos datos. Se crearon subcampos muy importantes tales como la inmunopatología, la inmunogenética, la inmunología tumoral, la inmunología de transplantes y el campo de las alteraciones inmunológicas.

CAPITULO III

INMUNOLOGIA GENERAL

La inmunidad comprende todos los mecanismos en el cuerpo que reaccionan pasiva o activamente contra materias extrañas. En un sentido amplio, la inmunidad es sinónimo de la defensa o resistencia del cuerpo a la invasión por materiales extraños y denota toda una gama de interacciones entre el huésped y el parásito. Se puede dividir entre inmunidad no específica, o innata, e inmunidad específica o adquirida, la cual se superpone a la anterior. Los factores no específicos constituyen una primera línea de defensa inmediata, y los factores adquiridos específicos que se desarrollan con el tiempo constituyen una segunda línea de defensa. El análisis de estos factores involucra principios de muchas ramas de las ciencias biológicas como la bioquímica, la genética, la histología, la patología, etc. Así, el estudio de la inmunidad ha dado origen a la ciencia de la inmunología.

Las inmunidades inespecífica y específica (innata y adquirida) se basan en las actividades celulares y humorales que mantienen la integridad del cuerpo. Estas inmunidades están influenciadas por una interacción compleja de factores que involucran la edad, constitución genética, y factores fisiológicos que incluyen las hormonas, temperatura, fatiga y desnutrición. Como conse-

cuencia de esto, la inmunidad de un huésped a un parásito es relativa y se puede modificar adversamente sujetando al huésped a condiciones que reducen su resistencia, o sujetando al parásito a condiciones que aumentan su virulencia.

1. Inmunidad Inespecífica

La inmunidad inespecífica (innata), aunque menos espectacular que la específica (adquirida) es sin duda de mucho más valor al organismo porque sólo un número pequeño de especies son infectados por un parásito dado. Por ejemplo, en general, los parásitos que infectan a los animales no infectan a las plantas; los que infectan a los mamíferos no infectan a animales de sangre fría; algunos parásitos solo infectan a ciertas razas de una especie. Más específicamente el hombre raramente contrae alguno de los 20 tipos de paludismo que atacan a los monos antropoides.

Aunque son desconocidos muchos de los mecanismos de resistencia pasivos y activos, otros han sido determinados en varias barreras del cuerpo. La piel sana del cuerpo muy rara vez es penetrada por bacterias. Las lágrimas, la secreción nasal y la saliva contienen a la enzima lisozima que mata a algunas bacterias al destruir la capa mucinosa de la pared celular. La mucosa de la nariz filtra muchos microorganismos del aire que se respira. Aún aquellos que entran a las vías res

piratorias son atrapados en las mucosas de las paredes y son sacados por movimiento ciliar. En el estómago la concentración de ácido hidroclicórico es normalmente suficiente para matar algunos microorganismos y detener el desarrollo de otros. La membrana del intestino es casi impermeable a los microorganismos. Las condiciones extremas o las heridas reducen la eficiencia de la piel y otras barreras contra los agentes infecciosos. Por ejemplo, *Staphylococcus aureus* es muy común en la piel y en el tracto intestinal pero su proliferación en el tracto gastrointestinal está controlado por la acción antagonista de otras especies bacterianas.

Otros factores no específicos también operan contra materiales ajenos que han entrado al cuerpo. Algunos son pasivos y pueden simplemente depender de la ausencia de materiales nutritivos adecuados al parásito. Un papel antiparasítico más agresivo es tomado por la actividad humoral y celular, tales como los anticuerpos naturales en el suero sanguíneo y células que fagocitan material extraño durante el proceso inflamatorio. La fagocitosis es efectuada por macrófagos y células polimorfonucleares, además los monocitos y linfocitos de la sangre se dividen y transforman en macrófagos activos adicionales. El inicio del proceso de fagocitosis se detecta a los 15 minutos después de la introducción de bacterias vivas. El inicio rápido de la inmunidad inespecífica es sumamente importante considerando que un organismo invasor se puede reproducir cada dos horas

y aumenta su población de acuerdo a una progresión geométrica.

Desde el punto de vista evolutivo, la inflamación y la fagocitosis deben estar relacionadas al metabolismo normal del huésped porque deben haber existido antes de la primera entrada del material extraño. En base a esto, deben estar relacionadas con el sistema de limpieza del cuerpo que deshecha sus propios materiales indeseables y repara daños. El sistema no solo está generalizado en todos los tejidos, pero además se concentra en órganos como el bazo y los nodos linfáticos, mientras que la sangre funciona como sistema de transporte.

2. Inmunidad Específica

La inmunidad específica (adquirida) se inicia con la entrada de materiales extraños al cuerpo y a veces es tan dramática en su efecto que opaca la importancia de la inmunidad inespecífica a la cual se superpone. Ciertas materias extrañas, llamadas antígenos, inducen la formación inicial de anticuerpos específicos que, con o sin fagocitosis celular, pueden producir un decaimiento rápido en una población de parásitos durante la infección. Más importante, una segunda introducción de las mismas materias extrañas produce un aumento aún más rápido de anticuerpos en tal cantidad que la infección puede nunca ser aparente.

a) Antígenos. Los antígenos son aquellas materias que al ser introducidas en el cuerpo son capaces de inducir la formación de anticuerpos y de reaccionar específicamente de una manera detectable con los anticuerpos inducidos. Los antígenos comprenden virtualmente todas las proteínas que son ajenas al huésped. Están contenidos en agentes infecciosos, tales como bacterias, virus, protozoarios, y ácaros que pasan por las barreras de la piel y las mucosas, así como en los productos tóxicos y endotóxicos de estos agentes. También aparecen en venenos animales y vegetales, componentes del suero, glóbulos rojos y otras células y tejidos de varias especies incluso el hombre. Muchos polisacáridos purificados y grupos químicos más simples también pueden ser antigénicos cuando se combinan con proteínas. Un antígeno funcional consiste de una molécula de proteína relativamente grande y de partes más pequeñas que determinan su especificidad antigénica. En procedimientos experimentales, el tipo y cantidad de antígeno inyectado, la ruta de inyección, el huésped, y otros factores determinan la cantidad de anticuerpo formado. Los haptenos son compuestos relativamente simples o grupos determinados de un antígeno que por sí mismos no estimulan la formación de anticuerpos, pero que reaccionan con el anticuerpo cuando éste se ha formado.

b) Anticuerpos. La primera exposición del cuerpo

adulto a un antígeno extraño induce a ciertas células a dividirse, sintetizar y a emitir un factor que reacciona específicamente con el antígeno y que se denomina anticuerpo. Por ejemplo, la respuesta inicial en un conejo inyectado con glóbulos rojos de cabra se caracteriza por un período latente de varios días, un aumento en el anticuerpo a una intensidad pico, y un decaimiento subsiguiente, generalmente mucho más lento que el crecimiento de concentración. Una segunda o sucesivas inyecciones del antígeno llevan a una respuesta inmune caracterizada por un aumento más rápido, generalmente en cantidades mayores del mismo anticuerpo. Se debe enfatizar que cada antígeno da origen a un anticuerpo específico, pero la amplitud y tipo de respuesta inmune puede diferir radicalmente para diferentes antígenos y para diferentes huéspedes. Los anticuerpos son solubles y aparecen en el suero líquido de la sangre y tejidos. Son la base característica de la inmunidad humoral a diferencia de la inmunidad celular estrictamente fagocítica. Los anticuerpos son proteínas relativamente grandes identificadas como inmunoglobulinas específicas. En animales normales se encuentran anticuerpos en pequeñas concentraciones y también tienen las propiedades estructurales de las inmunoglobulinas. Algunos de estos anticuerpos probablemente se forman como respuesta a antígenos que aparecen naturalmente en la comida o en infecciones inadvertidas, pero otros se forman en individuos que no han tenido exposición alguna a los antígenos.

nos específicos. Cuando están presentes, los anticuerpos naturales juegan un papel importante en la inmunidad inespecífica.

c) Inmunidad Celular. Una de las actividades más fácilmente demostrables de ciertas células del tejido conjuntivo es su actividad fagocítica, que ocurre durante la inmunidad inespecífica y se acentúa grandemente cuando se han desarrollado anticuerpos durante la inmunidad específica. Ciertas otras células inmunológicamente competentes también aparecen en el tejido conjuntivo. Cuando se estimulan por anticuerpos específicos, se desarrollan, proliferan, sintetizan y finalmente emiten anticuerpos hacia los tejidos y suero sanguíneo.

d) Especificidad. Este término designa el hecho de que el anticuerpo generado como respuesta a un antígeno dado reacciona máximamente con ese antígeno. Por ejemplo, los anticuerpos producidos en una persona inmunizada contra la toxina de la difteria reaccionan con esa toxina pero no con otras. También ocurren distinciones finas. Cuando se inyecta albumina cristalina del suero sanguíneo del caballo en un conejo, se induce la formación de un anticuerpo que forma un precipitado con la misma albumina de caballo, ese anticuerpo formará un precipitado mucho más pequeño con albumina del suero de vaca, y no formará ningún precipitado con albumina del huevo de pollos u otras aves. Esta secuencia también

muestra que un anticuerpo específico generalmente reacciona con otros antígenos. Tales reacciones de anticuerpos con antígenos heterólogos se llaman reacciones cruzadas y resultan porque el material extraño es un complejo de varios antígenos, tiene varios determinantes reactivos, o tiene determinantes reactivos suficientemente similares a aquellos del antígeno de la reacción cruzada.

3. La Actividad Cooperativa de la Inmunes Inespecífica y Específica Durante la Infección.

Las actividades básicas humorales y celulares en un huésped son mas o menos las mismas para diferentes infecciones, y el resultado final de una inmunidad exitosa es la erradicación de la mayoría de las infecciones. Sin embargo, la amplitud y agudeza de una infección, la rapidez de la declinación parasítica, la frecuencia de recaimiento, y la tendencia para recuperación espontánea dependen todas de un balance delicado entre la virulencia del parásito y la inmunidad del paciente tanto específica como inespecífica. Este balance rara vez es estático. En muchos casos oscila dentro de un rango angosto durante mucho tiempo. Durante estos períodos, una población parasítica mayor puede inducir la producción de mas antígeno que puede a su vez reducir la población parasítica.

Las actividades aditivas humoral y celular son cla

ras durante infecciones de protozoarios porque los parásitos son grandes y habitan lugares accesibles para el estudio. Las infecciones de paludismo han sido muy valiosas para estudiar las fases estrictamente celulares de la inmunidad porque el pigmento del paludismo sirve como indicador. Este pigmento se acumula como una porción indigerible de la hemoglobina que usan los parásitos al crecer y reproducirse en los glóbulos rojos de la sangre. Además, el pigmento persiste durante un tiempo apreciable aún después de ser fagocitado el protozoario por macrófagos. Aprovechando esta ventaja se ha logrado determinar la siguiente secuencia. El paludismo no tratado en monos se caracteriza por un período latente, un incremento agudo a una parasitemia máxima, un decaimiento rápido y una infección crónica. La inmunidad inespecífica opera durante la parte temprana de la infección, y los parásitos son fagocitados lentamente por macrófagos en el bazo, el hígado y en los huesos. Durante este tiempo, como resultado de la estimulación antígenica, se desarrolla la inmunidad específica y se emiten anticuerpos que hacen que los parásitos sean más fácilmente fagocitados por los macrófagos. La fuerza total de los anticuerpos actuando sobre la actividad fagocítica de los macrófagos entra al momento de máxima parasitemia, rápidamente desaparecen grandes cantidades de parásitos de la sangre y se encuentran engullidos por macrófagos principalmente en el bazo, el hígado y en los huesos. La necesidad de macrófagos adicionales

para defender al cuerpo cuando está aumentando la población parasítica se logra principalmente por la división mitótica de linfocitos y monocitos y su desarrollo heteroplástico en macrófagos. Así se atenúa defensivamente una infección sanguínea generalizada por la actividad humoral y celular en ciertos órganos. Se observan efectos localizados similares frecuentemente. Ciertos estreptococos sólo producen un segundo ataque cuando se introducen en la piel en un lugar diferente al del primer ataque.

La inmunidad específica, sin embargo, difiere en su efectividad con respecto a su tiempo de persistencia para diferentes enfermedades. Es raro que una persona, independientemente de la intensidad de la exposición a la infección, pueda contraer por segunda vez varicela, difteria, sarampión, viruela o tifoidea. Por otra parte, una persona puede sufrir más de un ataque de neumonía o paludismo, varios ataques de influenza y catarro. Los ataques múltiples se deben grandemente a la presencia de especies inmunológicamente diferentes de parásitos.

4. Hipersensitividad y Anafilaxis.

La introducción inicial de un antígeno, en lugar de producir una inmunidad específica benéfica, puede, en ciertas condiciones, sensibilizar al animal a introducciones subsecuentes del mismo antígeno. Esta y o-

tras respuestas alérgicas pueden surgir de situaciones altamente artificiales como en la transfusión de sangre o trasplante de órganos de un individuo a otro. Estas sensibilizaciones pueden llevar a una amplia variedad de respuestas patológicas. La hipersensibilidad puede llevar a la anafilaxis. Por ejemplo, cuando se inyecta un conejillo de indias por primera vez con albumina de huevo, no muestra síntomas aparentes pero responde con violentos síntomas de choque al momento de que se inyecta el mismo antígeno a la sangre después de diez o mas días. Parte de los síntomas consisten en la contracción de los músculos lisos que constriñen los ductos pequeños de los pulmones en una manera similar al asma humano. Cuando el choque es muy severo, el animal muere en menos de media hora. Si sobrevive, permanece muy sensible de uno a seis meses y puede permanecer algo sensible durante toda su vida. El conejillo de indias se puede desensibilizar temporalmente y se puede evitar el choque después de la primera inyección si se dan pequeñas cantidades del mismo antígeno a intervalos regulares y pequeños.

5. Inmunidad al Trasplante

Aparece una reacción inmune hiesped contra injerto entre humanos y otros vertebrados a excepción de gemelos idénticos y de cepas genéticamente puras de animales experimentales. Exceptuando a estos, un injerto

de piel u otro tejido de un individuo a otro de la misma especie es rechazado y eliminado después de dos o tres semanas, y un segundo injerto del mismo origen se elimina aún más rápidamente. Esto ocurre porque los antígenos presentes en el injerto estimulan modificaciones inmunes humorales y celulares en el huesped. En algunos casos el injerto puede rechazar al huesped de manera dañina. Esto se conoce como la reacción injerto contra huesped.

6. Tolerancia.

El fenómeno de tolerancia es el opuesto de la inmunidad al transplante. Se sabe desde hace mucho que un injerto de tejido sobrevive indefinidamente cuando se transplanta de una parte del cuerpo de un animal a otra parte. Esto se denomina autoinjerto. Ocurre lo mismo en el caso de gemelos idénticos y en cepas de animales experimentales genéticamente puros. Se ha efectuado mucho trabajo sobre este fenómeno desde que se entendieron sus implicaciones inmunológicas. Así, se ha determinado que cuando se inyectan ciertos antígenos a un embrión, no inducen una respuesta inmune y no la inducirán cuando los mismos antígenos son reinyectados cuando el animal es adulto. En otras palabras, por inmadurez el embrión no reconoce al antígeno como extraño y más tarde como adulto "tolera" al antígeno. Esta secuencia, que involucra la entrada de antígenos extraños en un em

brión raramente ocurre en condiciones normales, pero se presta a la experimentación.

Los datos que se han acumulado indican que la tolerancia es específica como lo es la inmunidad adquirida y que el grado y duración de la tolerancia en un huésped dado depende del tipo y cantidad de antígeno dado inicialmente. Diferentes huéspedes difieren en su reactividad.

Hay bases sólidas para suponer que las respuestas inmunes no se inducen contra los propios antígenos. Esta ley de tolerancia propia a veces se viola y con el resultado de una enfermedad autoinmune con síntomas patológicos. En el síndrome llamado anemia hemolítica adquirida, la persona forma anticuerpos que reaccionan y destruyen a sus propios glóbulos rojos. Estas enfermedades a veces aparecen después de una variedad de enfermedades crónicas, como la glomerulonefritis (una enfermedad de los riñones), sífilis, hepatitis viral, y puede ser un factor predisponente al cáncer.

7. Inmunidad a las Infecciones Virales.

a) Inmunidad Inespecífica. Se sabe poco de este tipo de inmunidad; probablemente los mecanismos están relacionados a la manera en que los virus infectan a las células. Una de las diferencias principales entre las bacterias y los virus es que los virus son parásitos intracelulares, sólo se pueden multiplicar en célu-

las vivas susceptibles y para lograr esto deben adherirse y después penetrar al menos en parte la membrana celular. Las diferentes especies animales y diferentes tipos de células difieren considerablemente en su susceptibilidad a los virus. Por ejemplo, el virus del polio causa enfermedad en el hombre y en los monos pero no en otros animales.

Hay factores genéticos que determinan en parte la inmunidad inespecífica. Ciertas cepas de ratas genéticamente puras muestran alta resistencia al virus de la fiebre amarilla mientras que otras cepas son 100% susceptibles al mismo virus. Se ha demostrado que el mecanismo de resistencia es de carácter Mendeliano y depende de un par de genes dominantes. La resistencia no es absoluta ya que ocurre una multiplicación limitada de virus pero a un nivel tal que no hay síntomas aparentes. Los factores genéticos juegan un papel importante en la selección natural y pueden ser responsables de algunos cambios que han ocurrido durante el transcurso del tiempo en la historia natural de muchas enfermedades virales del hombre.

Dependiendo del estado inmune de la madre, el niño recién nacido puede tener protección pasiva de la inmunidad materna transmitida. Excluyendo el efecto de esta inmunidad pasiva, muchas infecciones virales son más severas en los primeros meses de vida. Esto se debe a una reacción anormal del huésped y no a un cambio de virulencia de los parásitos. Por ejemplo, el virus Her-

pes, que es una de las infecciones virales más comunes de la raza humana, y que generalmente produce una infección leve o asintomática, puede producir una infección fulminante y fatal en los prematuros y recién nacidos. La poliomyelitis puede ser más severa en el período neo natal.

b) Inmunidad Específica. Se reconocen dos formas principales de inmunidad específica, la humoral y la ce lular. La inmunidad humoral está mediada principalmente por anticuerpos virales que circulan en la sangre, pero son importantes también los anticuerpos que se pro ducen localmente en las secreciones nasales y por las células de las mucosas del tracto alimentario. Los anticuerpos virales, como las antitoxinas, son altamente específicos y se producen después de la mayoría de las infecciones virales, aunque el tiempo de persistencia varía de una enfermedad a otra. Se reconocen dos tipos de respuesta inmune después de una infección con un virus o de la administración de un antígeno viral con el propósito de inmunización. La respuesta inmune primaria tarda de dos a tres semanas para llegar a la máxima concentración de anticuerpos. Después, baja la concentración de anticuerpos, o puede desaparecer, dependiendo de la intensidad del estímulo antigénico inicial. U na exposición posterior o inyecciones adicionales con el mismo antígeno genera una reacción secundaria. Esta segunda reacción es más rápida, alcanza una mayor con-

centración y persiste durante un período más largo.

Se reconocen dos tipos de inmunidad celular, la hipersensitividad tardía y la interferencia. Ambas son mediadas por una alteración específica de ciertas células y son independientes de la inmunidad humoral.

c) Hipersensitividad Tardía. Los animales y los humanos pueden responder a una infección viral con una reacción de hipersensitividad retardada similar a la reacción de la tuberculina. La respuesta tardía se debe a una alteración en linfocitos y macrófagos y es específica. Se puede transferir de un animal a otro por linfocitos pero no por plasma o suero. El mejor ejemplo de esta inmunidad mediada por células se encuentra en el virus vaccinia. Los individuos que han sido vacunados previamente contra la viruela responden con una reacción hipersensitiva. La hipersensitividad tardía se puede demostrar también con el sarampión y el virus herpes simplex. El papel de la hipersensitividad tardía en la recuperación y protección contra infecciones virales no está establecido.

Se sugiere que esta forma de inmunidad mediada por células puede ser importante en la recuperación de enfermedades virales por lo que se observa en el caso de pacientes con hipogamaglobulinemia. Estos pacientes generalmente responden mal a infecciones bacterianas pero pueden resistir infecciones virales, a pesar de que casi no producen anticuerpos. Su reacción al virus vaccini

nia es importante. Algunos de estos niños no responden mal a la vacunación y generan hipersensitividad tardía. Por otra parte se reportan casos fatales de vaccinia gangrenosa en pacientes con hipogamaglobulinemia y sin hipersensitividad tardía.

d) Interferencia. Los animales infectados con un virus pueden a veces rechazar una infección con un segundo virus si se administra simultáneamente y poco después. Esta capacidad de un virus para interferir con otro se llama interferencia viral. Se puede demostrar que este efecto es independiente de la inmunidad humoral por el hecho de que aparece interferencia entre virus que no tienen relación antigénica. Además, el fenómeno se observa en cultivos celulares que no producen anticuerpos ni muestran hipersensitividad tardía.

e) Inmunidad Pasiva. En edad adulta, la mayoría de los individuos han adquirido anticuerpos a las infecciones virales comunes por exposición múltiple. En el hombre, los anticuerpos se transfieren a través de la placenta para dar protección al recién nacido durante los primeros meses de vida. La inmunidad pasiva derivada de los anticuerpos maternos transferidos está relacionada directamente al estado inmune de la madre. La presencia de anticuerpos contra sarampión, paperas y rubella en la mayoría de las mujeres de edad fértil es la razón de la rareza de estas enfermedades en in-

fantes. Los infantes de madres que no han sido expuestas a la infección tienen riesgo de contraer la enfermedad. La concentración de anticuerpo materno decrece después del nacimiento del niño y a la edad de seis a nueve meses ha desaparecido; el niño es susceptible después.

f) Inmunidad Activa. La inmunidad activa depende de la sensitización del mecanismo inmune específico ya sea por infección natural o por medio de vacuna, con la formación del anticuerpo específico.

CAPITULO IV

LAS INMUNOGLOBULINAS

Las inmunoglobulinas (Igs) son los anticuerpos producidos por el huesped en respuesta a la introducción de material extraño; son las sustancias que por medio de varios sistemas de amplificación ejercen la llamada inmunidad humoral. La especificidad de la reacción inmune está determinada por la actividad mostrada por las Igs. Las Igs son moléculas proteínicas grandes cuya producción y características se describirán en este capítulo.

I. Células B y T

Los mecanismos inmunes específicos en el hombre y en algunas otras especies dependen principalmente de dos tipos de linfocitos funcionalmente diferentes llamados células T y B que se desarrollan de células progenitoras linfoides de la médula ósea. Las precursoras de las células T migran al timo donde maduran y proliferan y subsecuentemente son arrojados a la sangre. Otras células precursoras se transforman en linfocitos de la médula ósea que después migran a los tejidos linfoides periféricos donde se tornan en linfocitos B.

La diversidad de respuestas inmunológicas mostradas por las células B circulantes se genera durante la

primera etapa de desarrollo. Es posible que los órganos linfoides primarios son microambientes que generan una gran cantidad de células inmunológicamente diferentes. Las especificidades de estas células se expresan por medio de receptores antigénicos o moléculas de reconocimiento que se encuentran sobre la superficie de la célula. Estas moléculas necesariamente deben exhibir una gran variabilidad entre las diferentes líneas celulares por lo que los genes que codifican su estructura se llaman genes V.

Cuando los linfocitos T y B aparecen en la sangre se pueden considerar como células sensibles que exploran todos los sectores del cuerpo buscando sustancias antigénicas activamente. De la sangre migran al bazo y a los nodos linfáticos, y en menor grado, a los espacios intersticiales dentro de muchos tejidos no linfoides. De estas rutas periféricas de migración los linfocitos eventualmente regresan por el sistema linfático a la sangre. Aunque los linfocitos T y B ambos participan en esta circulación continua, sus contribuciones y patrones de migración son diferentes. Las células T se concentran en la corteza media de los nodos linfáticos y en las regiones pararteriales del bazo, mientras que las células B se encuentran preferentemente en centros germinales, en los cordones medulares de los nodos y en la pulpa roja del bazo. El valor biológico de la distribución periférica de los linfocitos no solo facilita la inducción de las respuestas inmunitarias primarias al

permitir contacto entre los anticuerpos y las células sensibles correspondientes; la recirculación de linfocitos es importante para diseminar los descendientes de células estimuladas en la respuesta primaria (células de memoria inmunitaria) para que pueda ocurrir una respuesta secundaria incrementada por todo el cuerpo y en cualquier lugar donde reaparezca el mismo antígeno.

Las células B circulantes se pueden distinguir de las células T porque contienen moléculas Ig asociadas con la membrana en concentraciones suficientemente altas para ser detectadas por la técnica de inmunofluorescencia directa. Se considera que estas moléculas son sintetizadas por las mismas células y representan sus receptores antigénicos. Normalmente el 10% de los linfocitos sanguíneos periféricos contienen Ig superficial y por lo tanto son linfocitos B. La proporción de linfocitos T no se ha determinado en el hombre, pero hay indicaciones de que constituyen la mayoría del 90% restante. No se ha establecido un indicador bien definido para células T humanas. Algunos investigadores afirman que los receptores son moléculas Ig que no se pueden detectar por inmunofluorescencia en parte porque se encuentran inmersas en la membrana celular y en parte porque se liberan rápidamente. Los receptores de las células T son altamente citofílicos a los macrófagos. Esta propiedad puede explicar al menos una parte de las interacciones celulares T-B que son un prerequisite para una respuesta inmune efectiva contra muchos antígenos.

Cuando se liberan complejos receptor-antígeno de la superficie de las células T se adhieren a los macrófagos; los antígenos se presentarán a los linfocitos B circulantes como un material polimérico concentrado que entimula a estas células. Además de la cooperación específica entre las células T y B, hay evidencia de funciones mutuas no específicas.

Los linfocitos T estimulados se desarrollan en células efectoras de la inmunidad celular. Se considera que no ejercen su efecto por medio de moléculas Ig, sino que interaccionan con células destructoras y producen y liberan las linfocinas. Se ha determinado que estas sustancias exhiben una variedad de actividades farmacológicas in vitro tales como la estimulación de la permeabilidad vascular, quimotaxis, citotoxicidad, acumulación y activación de macrófagos, y la estimulación de osteoclastos. La inmunidad celular es de importancia en las reacciones hipersensitivas tardías de la piel y las membranas mucosas; protección contra virus, hongos, y patógenos bacterianos intracelulares; vigilancia inmunitaria contra la oncogénesis; algunas enfermedades autoinmunes; y la inmunidad al trasplante.

Después del reconocimiento del antígeno y la interacción a través de los receptores superficiales, los linfocitos B se activan para segregar moléculas de Ig con la especificidad correspondiente. La inmunidad humoral se expresa últimamente por la actividad de estas proteínas efectoras que se liberan por secreción apocrina de

inmunocitos de morfología variable, donde la célula plasmática es la etapa final. El concepto de restricción fenotípica se ha establecido firmemente para células B; los miembros de una línea inmunocítica están tan especializadas que sólo pueden producir anticuerpos de una especificidad. Cada célula libera un sólo tipo de moléculas Ig, por lo menos a un tiempo dado. Un cambio en la síntesis de la clase de Ig puede ocurrir en células B antigénicamente estimuladas, pero solo a frecuencia muy baja, ya que se encuentra sólo el 1.5% de productoras dobles. Durante la primera etapa de multiplicación, puede haber una frecuencia alta en el cambio de determinación genética. Cada línea parece representada en las células circulantes programada para producir anticuerpos de una sola especificidad, pero de varias clases de Ig.

Los sistemas inmunes de las membranas mucosas se han estudiado hasta ahora sólo con respecto a la inmunidad humoral. Se reconoce que los anticuerpos en las secreciones externas son factores de resistencia importantes desde la publicación de los trabajos de Besredka (1927) y Burrows y Havens (1948) relacionados con las respuestas antibacterianas inmunes en el tracto gastrointestinal. A pesar de no tener conocimiento de las funciones de los linfocitos T en tejidos mucosas se puede deducir de la información dada que estas células deben ser importantes localmente por lo menos para aumentar la respuesta de las células B. Hay evidencia de

que tal función mutua conduce a respuestas de IgA que son responsables de la mayoría de los anticuerpos que a parecen en las secreciones externas. Se ha mostrado que la aplicación tópica de antígeno en el tracto respi ratorio del conejillo de indias puede inducir una respuesta de células T que está mas o menos confinada al tejido local.

El tratar de clasificar una respuesta inmune local como celular o humoral no puede dar la verdad completa, ya sea que esté basada en una evaluación morfológica y serológica convencional, o en estudios refinados de linfocitos periféricos. En la mayoría, si no es que en todas, de las situaciones la respuesta del huésped al material extraño incluye componentes de inmunidad celular y humoral simultáneamente.

2. Inmunoglobulinas, Clases y Características

Las inmunoglobulinas humanas se dividen en cinco clases estructurales mayores: IgG, IgD, IgE, IgM e IgA. Todas están compuestas de al menos una unidad de Ig básica que contiene dos cadenas pesadas (H) idénticas y dos cadenas ligeras (L) idénticas de polipéptido que es tan unidas por ligaduras de disulfuro e interacciones no covalentes. El peso molecular de esta unidad es de 150000 a 160000, y exhibe un coeficiente de sedimentación de 7S. Las diferentes clases de inmunoglobulina (Ig) se pueden distinguir principalmente porque sus ca-

denas H son diferentes estructuralmente como se indica esquemáticamente en la figura 1 en la siguiente página. Las cadenas L son comunes a todas las clases de Ig y cada molécula contiene una parte de dos tipos κ o λ . Una unidad Ig contiene dos sitios de combinación con un antígeno localizadas en las regiones estructuralmente variables (areas negras en la figura 1) de las cadenas H y L. La secuencia de aminoácidos de estas regiones la codifican los genes V, y esto explica la diversidad de especificidades de anticuerpos. La parte restante del polipéptido es constante y determina la característica que permite la clasificación en κ y λ para las cadenas L, y en γ , δ , ϵ , μ y α para las cadenas H. La parte opuesta al sitio de combinación con antígeno de las cadenas H y L se denomina parte C. Al extremo terminal C de la cadena H se le ascriben funciones importantes (tales como activación del sistema complementario, afinidad a varios tipos celulares, transferencia por la placenta) y por tanto son diferentes para clases diferentes de Ig. Estas propiedades median la participación de los sistemas biológicos de amplificación en las respuestas inmunitarias; por esto el resultado es altamente dependiente de la clase de Ig a la que pertenecen los anticuerpos ejecutores. La enzima papaina divide a la unidad Ig en una parte que exhibe la actividad de anticuerpo (fragmento Fab) y en otra parte que es el segmento terminal C de las cadenas H (fragmento Fc) que es responsable de otras funciones biológicas. Cuando se usa la en

Esquema de las Clases de Inmunoglobulina

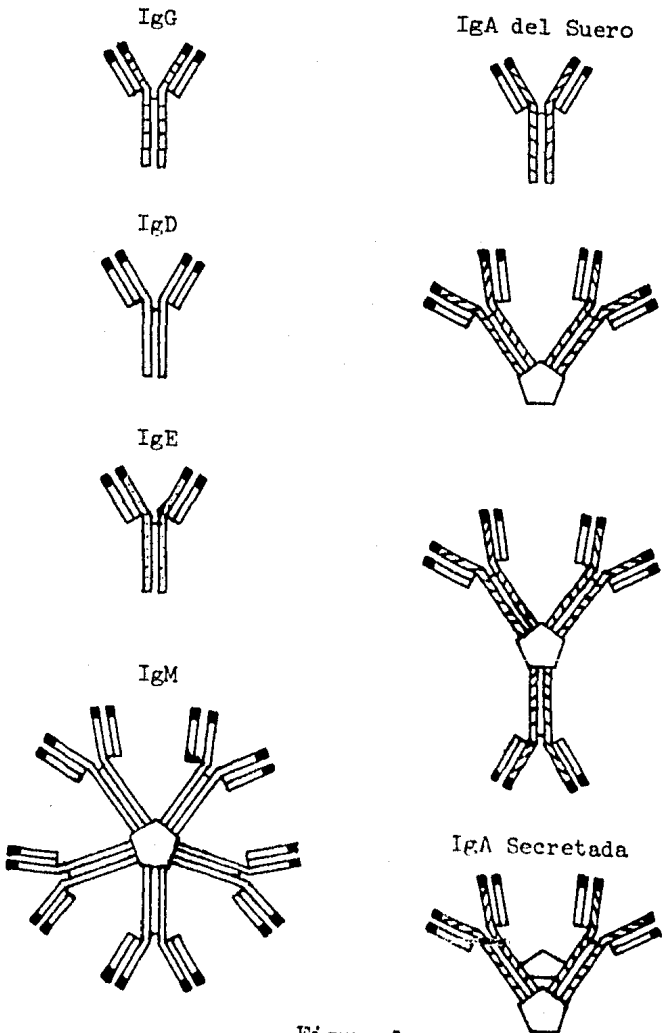


Figura 1

zima pepsina, la parte Fc se degrada mientras que las porciones con actividad de anticuerpo se obtienen como un fragmento sencillo.

Además de las diferencias en estructura primaria, las diferentes clases de Ig exhiben gran heterogeneidad fisicoquímica. Las inmunoglobulinas IgG, IgD e IgE generalmente aparecen como unidades monoméricas 7S, mientras que la IgM e IgA aparecen comunmente como polímeros. La tendencia a polimerizar puede depender de la presencia de un polipéptido llamado cadena J que es común a los polímeros IgM e IgA, pero no se puede detectar en IgA, IgG e IgD monoméricos. En el suero humano normal casi todas las moléculas de IgM son pentámeros 19S, mientras que solamente del 10 al 15% de las moléculas IgA están polimerizadas como dímeros o trímeros. En las secreciones externas, por otra parte, el 90% de las moléculas de IgA aparecen como dímeros y aún como polímeros mas grandes que contienen una glicoproteína epitelial llamada componente secretoria (CS). La molécula de IgA secretoria tiene una estructura cuaternaria cerrada donde la cadena J y la SC son inaccesibles; lo que puede explicar su alta resistencia a la degradación proteolítica. Esta propiedad sirve para proteger la integridad molecular de los anticuerpos que funcionan en las secreciones externas ya que estas pertenecen principalmente a la clase IgA. Las secreciones normales externas contienen además pequeñas cantidades de IgM. También se encuentran asociadas con CS pero no en la estructura cuaternaria estable. De esta manera,

después de una purificación solo del 60 al 70% de las moléculas han retenido su componente secretoria.

Se da a continuación una descripción de las características de cada clase de Ig.

IgG. Esta inmunoglobulina es la clase principal en el suero humano normal; lo cual se debe a que los órganos linfáticos periféricos tales como el bazo y los nodos linfáticos sintetizan principalmente IgG durante las respuestas inmunes secundarias. Mas del 50% está distribuido extravascularmente, por tanto también es la clase principal de Ig en los fluidos tisulares en general, pero no es transportada activamente a las secreciones externas. Se le considera el principal anticuerpo antibacterial y neutralizador de virus en el medio interno. Su porción Fc tiene afinidad a los macrófagos y a los granulocitos neutrofilicos y por tanto se aumenta la fagocitosis de los complejos antígeno-IgG. A través de su factor Fc el complejo antígeno-IgG es un activador potente de la serie de enzimas denominadas como complemento. Hay varias consecuencias biológicas que se siguen de la activación del sistema complementario. Algunas pueden ser benéficas, como la fagocitosis realzada, bacteriolisis, la quimiotaxis de los leucocitos polimorfonucleares y la estimulación de la respuesta inflamatoria. Sin embargo, la activación complementaria también puede producir efectos dañinos como citólisis y reacciones inflamatorias persistentes como en el fenómeno de Arthus. Los anticuerpos de la clase IgG son importantes en las reacciones hipersensitivas.

Es posible que los anticuerpos IgG jueguen un papel en las reacciones citotóxicas mediadas por células, ya que una población de linfocitos tiene receptores superficiales con afinidad a la porción Fc de esta inmunoglobulina.

IgM. Esta inmunoglobulina se produce al principio de la respuesta inmune; está principalmente confinada a la corriente sanguínea; sólo el 25% está distribuida extravascularmente. Su función principal puede ser por ejemplo en casos de bacterianemia. Sin embargo, se ha demostrado recientemente que la IgM se transporta activamente a las secreciones externas, y que algunos sitios mucosos pueden tener una cantidad importante de esta inmunoglobulina por síntesis local. Los anticuerpos IgM son agentes aglutinantes y citolíticos importantes. La activación del complemento por la IgM en combinación con la acción enzimática de la lisozima puede producir lisis eficiente de bacterias Gram-negativas. Muchos de los llamados anticuerpos naturales son IgM; entre estos se deben incluir las isoaglutinas cuya síntesis se estimula por antígenos microbianos que participan en reacciones cruzadas. Los anticuerpos a las endotoxinas también tienden a ser de esta clase.

IgD. Se sabe muy poco de esta inmunoglobulina a la que no se le ha determinado una función. Se ha encontrado en recién nacidos una frecuencia alta de linfocitos B circulantes con IgD asociada a la membrana; esto puede dar una indicación para determinar su valor biológico. Posiblemente la IgD sea un receptor antigénico importante

de las células B.

IgE. Esta inmunoglobulina exhibe afinidad a la superficie de las células cebadas y a los blastófilos; esto explica su contribución principal a la hipersensitividad inmediata. Cuando un antígeno se combina con el anticuerpo correspondiente IgE en la superficie celular, la membrana se altera de manera que se inicia la degranulación y la liberación de aminas y enzimas vasoactivas. Aunque esto se visualiza comunmente como una reacción hipersensitiva inmediata, la IgE probablemente también tiene un papel fisiológico al incrementar la permeabilidad vascular y al estimular la inflamación. Se ha sugerido que esto puede ser importante en la defensa contra ciertos parásitos, ya que el nivel de IgE se aumenta considerablemente durante estas infecciones. La acción de la IgE puede por otra parte iniciar reacciones anafilácticas al aumentar el depósito de complejos antígeno-IgG en el sitio de la reacción.

IgA. Esta inmunoglobulina tiene una función en los medios internos (sangre y fluido tisular) y en los medios externos (secreciones exocrinas). Se ha establecido que esta inmunoglobulina carece de propiedades que activen al sistema complementario. Sin embargo, se ha mostrado que la IgA activa a un protoactivador del tercer factor complementario; pero este camino alternativo tiene baja capacidad citolítica y su significado biológico es dudoso. Lo más probable, es que los anticuerpos IgA en el medio interno ejercen un efecto de bloqueo en competencia con an-

anticuerpos comparables de otras clases; esto puede servir para moderar reacciones dañinas posibles producidas por IgG o IgM, por ejemplo en condiciones de hipersensitividad. El huésped puede también protegerse contra una liberación mediada por anticuerpos demasiado rápida de endotoxinas bacterianas por las propiedades de bloqueo de los anticuerpos IgA. No se le han adscrito consecuencias adversas de reacciones inmunes a esta clase de inmunoglobulina. La posibilidad no explorada existe, sin embargo, de que los anticuerpos IgA a los antígenos tumorales puedan cubrir células malignas y así protegerlas contra la eliminación por linfocitos T.

La función principal de la IgA probablemente ocurre en el medio externo donde es el anticuerpo predominante y aparece como una inmunoglobulina polimérica altamente estabilizada. La noción de que los anticuerpos IgA secretorios pueden inhibir la penetración de la mucosa y así actuar como una "primera línea de defensa" contra agentes dañinos está ganando aceptación; pero la mayoría de la evidencia viene del estudio de infecciones virales. A pesar de que se ha establecido que la IgA secretoria es efectiva como un anticuerpo que neutraliza a virus, hay poca información con respecto a sus funciones antibacterianas potenciales. Como la IgA no media la activación complementaria convencional, no se espera un efecto bacteriolítico para anticuerpos de esta clase. Sin embargo, se ha reportado que IgA humana colostrada combinada con complemento y lisozima es capaz de lisar E. coli. Esta es

una observación interesante ya que la lisozima se encuentra en todas las secreciones externas. Los factores complementarios, por otra parte, no se encuentran en flúidos glandulares puros, pero pueden aparecer en el medio externo por exudación. Un estudio reciente indica que el efecto bactericida de la IgA más lisozima puede depender de factores serológicos que no pertenecen al sistema complementario; no se sabe si estos factores se encuentran en las secreciones en concentraciones adecuadas. Los reportes sobre la actividad promotora de fagocitosis (opsonizante) de la IgA son contradictorios. Knop reporta que la IgA del colostrum de puercos es más eficiente que IgG o IgM para aumentar la absorción y destrucción intracelular de *E. coli* por fagocitos. Girard y Kalbermatten reportaron que el mismo microbio podía ser opsonizado por anticuerpos IgA secretorios humanos, y que su efecto era realizado por lisozima pero no por complemento. Kaplan y colaboradores, por otra parte, observaron que la opsonización de eritrocitos incompatibles por IgA humano colostrual era dependiente de la presencia de complemento. Otros (Eddie y colaboradores, Wilson, Zipursky y colaboradores) no observaron ninguna actividad opsonizante convincente de la IgA secretoria, lo que sugiere que algunos de los resultados anteriores se debieron a trazas de IgM en las preparaciones.

La aglutinación y cubrimiento de microorganismos son las únicas actividades antibacterianas de la IgA que están bien establecidas. Las consecuencias biológicas

pueden, sin embargo, ser muy importantes, ya que la simple combinación con IgA inhibe a las bacterias de adherirse a las células epiteliales y así se reduce su habilidad de formar colonias en las mucosas. Estudios en pacientes con deficiencia de IgA han demostrado que sus membranas mucosas son relativamente permeables a una variedad de antígenos extraños tales como proteínas de la comida. Se han detectado anticuerpos que bloquean alérgenos en la IgA secretoria nasal de algunos pacientes con atopia. La simple formación de complejos con antígenos puede explicar la capacidad de los anticuerpos IgA secretorios para constituir un mecanismo inmunitario de atrapamiento que protege a las membranas mucosas.

CAPITULO V

LAS INMUNOGLOBULINAS SECRETADAS

1. Generalidades

El concepto de un sistema inmunitario secretorio, independiente de los anticuerpos del suero, se ha desarrollado recientemente; principalmente como resultado de estudios en el hombre que indican que el contenido de inmunoglobulina de ciertos fluidos no vasculares es muy diferente al del suero. La más notable es la observación que la IgA que representa una fracción relativamente pequeña (de 10 a 15%) de las inmunoglobulinas del suero; es la especie predominante en la mayoría de las secreciones externas. Las secreciones externas son aquellas que bañan a las membranas mucosas que tienen continuidad con el medio externo.

Los fluidos no vasculares se han dividido en dos - clases generales dependiendo de su contenido de inmunoglobulina relativo. Las secreciones internas contienen las clases de Ig en proporciones similares a las del suero, a excepción de la IgM que aparece en estas secreciones en pequeñas cantidades. Esta deficiencia de IgM se debe probablemente a su gran tamaño y por lo tanto tiene difusión limitada. Las secreciones externas contienen predominantemente IgA. Por ejemplo, la razón IgG/IgA en saliva de la parótida es 0.01, comparado con 4 a 5 en el suero. La

mayoría de las secreciones externas también contienen otras inmunoglobulinas, algunas de las cuales, como la IgM e IgE, aparecen en cantidades más grandes de lo que se puede explicar por simple transudación del suero. Hay evidencia de que las IgM, IgE e IgA y cantidades pequeñas de IgG de la mayoría de las secreciones externas son producidas localmente en la lámina propia de las mucosas normales. En la glándula mamaria hay la complicación de variación de especie a especie. Por ejemplo, las secreciones mamarias humana y del conejo contienen principalmente IgA, mientras que en las especies bovinas la leche contiene grandes cantidades de IgG que se transporta del suero. Aún en estas especies, sin embargo, la IgA predomina en otras secreciones externas como las lágrimas y la saliva.

A pesar de las variaciones indicadas, una característica común del sistema secretorio en todas las especies que se han examinado es que las clases de inmunoglobulina aparecen en fluidos externos en proporciones claramente diferentes a las del suero. Además, hay regulación independiente del contenido de anticuerpos en el suero y en las secreciones externas. La regulación se realiza por síntesis local y por transporte selectivo de Ig del suero. Biológicamente estos fenómenos son de gran importancia ya que bajo condiciones de infección natural o vacunación pueden llevar a una disociación entre las inmunidades sistémica y local mucosa.

2. Características químicas de las inmunoglobulinas secretadas.

A excepción de la IgA, se han hecho pocos estudios de las Ig secretadas, principalmente porque la mayoría de las secreciones contienen cantidades muy pequeñas de las inmunoglobulinas diferentes a la IgA y ha sido difícil su separación en cantidades suficientes para efectuar estudios químicos. Sin embargo, de los datos que aparecen en la literatura científica se puede decir que la IgG, IgE y la mayoría de la IgM en las secreciones son fisicoquímicamente muy similares o idénticas a las del suero. Una fracción pequeña (aproximadamente 10%) de la IgM en las secreciones tiene una componente secretada (CS) unida a ella y es probablemente idéntica a la CS de la IgA secretada.

Los anticuerpos IgA de las diferentes secreciones externas tienen propiedades químicas similares y es posible que sean idénticas. La especie principal de IgA tiene un coeficiente de sedimentación de 11S y un peso molecular de 390,000. A esta parte se le llama IgA secretada o IgAS. Cantidades más pequeñas (de 10 a 20%) que son polímeros de la molécula IgAS también se encuentran en la mayoría de las secreciones. Además, cerca del 10% de la IgA en secreciones es de tipo 7S. Esto se deriva en parte, como la mayoría de la IgG en secreciones, de la transudación del suero. Sin embargo, parte de la IgA-7S puede ser en sí secretada o representa IgA-11S disociada.

La molécula de IgAS consiste de dos monómeros IgA-7S más una glicoproteína llamada componente secretada (CS). La estructura del monómero ha sido descrita en el capítulo anterior. La CS contiene 6% de carbohidrato y tiene un peso molecular de 60,000. En la molécula IgAS, la CS está unida a la cadena H específica de la IgA por uniones de disulfuro. Con excepción de la parte 7S, esencialmente toda la IgA en las secreciones externas tiene CS adherida.

Además de los tres tipos ya mencionados de cadenas de polipéptido (la cadena ligera L, la cadena pesada H y la componente secretada CS) se ha identificado una cuarta cadena en la IgAS que se ha designado como la cadena J. Esto fué reportado por primera vez por Halpern y Koshland para IgAS secretada de conejo. Usando electroforesis notaron una componente que otros investigadores supusieron era CS. Sin embargo, esa componente persistía después de la remoción de la CS con urea. Esta parte fué separada subsecuentemente de la molécula secretada en varios laboratorios. Al determinar su composición de aminoácidos y sus propiedades inmunológicas se encontró que eran muy diferentes a las de las cadenas L, H y CS. La cadena J tiene un peso molecular de cerca de 20,000 y contiene un 10% de carbohidrato. Se le ha detectado en IgA polimerizado y en IgM del suero pero no en IgG, IgD o IgE. La evidencia más clara de la existencia de la cadena J es la observación que la IgA-10S dimérica del suero de un paciente con mieloma contiene la cadena J, pero no se encuentra en

el monómero 7S aislado del suero del mismo paciente. La cadena J de la IgA polimérica se ha identificado ya en varias especies incluyendo al hombre. De esta manera, la cadena J parece ser característica de inmunoglobulinas poliméricas; se ha postulado que sirve la función de unir las subunidades de estas moléculas. Estudios con anticuerpos fluorescentes indican que la cadena J se produce en células plasmáticas que sintetizan inmunoglobulina en la lámina propia (ver figura 2 en la siguiente página).

Es posible que la combinación de la CS en la molécula IgAS dependa directa o indirectamente de la presencia de la cadena J. Esta hipótesis se sugiere por la observación que la reconstitución de la molécula secretada in vitro se efectúa solamente cuando se incuban IgA-10S del suero con CS; el monómero IgA-7S no se combina notablemente con CS. La incubación simple in vitro lleva a una asociación covalente de la CS con IgA-10S, la IgAS reconstituida tiene una estructura antigénica muy similar o idéntica a la molécula natural.

3. Síntesis y transporte de la IgAS

La hipótesis que es consistente con la evidencia disponible con respecto a la síntesis de la IgAS se muestra en la figura 2. Se sabe que la mayoría de la IgAS se sintetiza localmente en células plasmáticas que están en relación anatómica cercana a la membrana mucosa o epitelio glandular. La síntesis local se ha demostrado en cul

Esquema de la Secreción de la Inmunoglobulina A

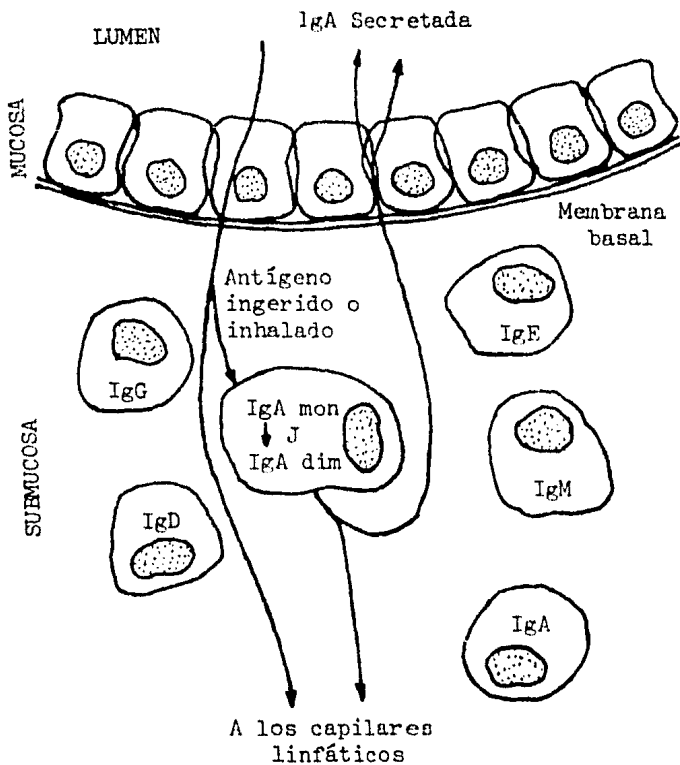


Figura 2

tivos de órganos in vitro y por el método de anticuerpos fluorescentes. Este segundo método muestra una predominancia de células IgA en áreas submucosas. Por ejemplo, en el tracto gastrointestinal humano hay cerca de 20 células IgA por cada célula IgG, mientras que la razón en el bazo y en los nodos linfáticos periféricos es normalmente de 3 a 4 a favor de la IgG. En la mayoría de los estudios no se ha encontrado evidencia del transporte de IgA radioactivamente marcado hacia las secreciones externas, aunque no se han hecho estudios en el hombre para ciertos fluidos tales como la leche y secreciones gastrointestinales.

De los estudios de las moléculas de IgAS en colostrum y leche humana se sabe que la IgA-10S se forma intracelularmente. Por ejemplo, una molécula de IgAS simple contiene cadenas ligeras de uno de los tipos κ o λ pero no ambos. La reasociación al azar de las unidades 7S monoméricas parece improbable. Probablemente, la concentración o suministro de la cadena J en la célula plasmática en la lámina propia puede determinar el porcentaje de polímero que se forma, ya que esta cadena puede ser esencial para la polimerización.

La molécula IgA-10S formada en la célula plasmática de la lámina propia puede difundirse o ser transportada en dos direcciones: através de la membrana mucosa hacia las secreciones lumbinales, o hacia "atrás", al sistema linfático y la circulación. El transporte preferente de la IgA-10S hacia el lumen puede incrementarse por la habi

lidad específica del dímero IgA para combinarse con la CS como lo muestran los estudios in vitro mencionados. Un mecanismo por el cual la CS puede facilitar el transporte se sugiere por el resultado de experimentos que muestran una resistencia mayor de la IgAS a la proteólisis comparada con IgA del suero que carece de CS. La CS puede proteger a la IgAS de degradación intracelular durante su transporte a través del citoplasma de la célula epitelial. Además, la mayor resistencia del anticuerpo IgAS proporcionada por la CS o una combinación de la CS y la cadena J daría una ventaja biológica a los anticuerpos que operan en medios complejos como los que se encuentran en las secreciones externas.

La molécula de IgA puede difundirse hacia el sistema linfático y así regresar a la circulación. Por observaciones en varias especies se sugiere que la IgA sintetizada en los sitios secretores, particularmente en el tracto gastrointestinal, es una fuente de la IgA en el suero. Crabbe y colaboradores han mostrado que la inmunización oral de ratones con ferritina estimula a las células IgA que contienen anticuerpos antiferritina que están restringidas al tracto gastrointestinal; y la mayoría de los anticuerpos antiferritina circulantes son de la clase IgA. En animales inmunizados sistémicamente con el mismo antígeno, se encuentran muchas células que contienen anticuerpos en el bazo y el anticuerpo del suero es predominantemente IgG. También se ha demostrado que la irradiación del intestino causa una disminución de la IgA del suero

y que la baja de IgA del suero de animales expuestos a irradiación en todo el cuerpo se puede evitar escudando al intestino de la radiación. Vaerman y colaboradores han mostrado, en el perro, que la mayoría de IgA en el suero se sintetiza en la lámina propia del tracto gastrointestinal. En el perro y en el ratón la especie predominante de IgA en el suero es un dímero 10S, lo cual es consistente con un origen en los sitios secretorios. Sin embargo, en el hombre al menos 85% de IgA del suero es un monómero 7S. Las células secretorias pueden contribuir sólo una fracción pequeña de IgA del suero representada por el 10 a 15% de polímeros que se encuentran normalmente en el suero humano. Sin embargo, también es posible que la IgA-7S sea sintetizada en células secretorias, por su incapacidad para combinarse con la componente secretada y también por su menor tamaño comparada con el dímero 10S, se difunde preferencialmente al sistema linfático y de ahí a la circulación. Estudios metabólicos sobre la IgA sugieren que una cantidad importante de IgA efectivamente es sintetizada en tejidos diferentes al bazo y nodos linfáticos. Por ejemplo, la síntesis normal diaria de IgA en el hombre es de aproximadamente 2.5 gm. que es similar a la producción diaria de IgG; el nivel inferior de IgA en el suero comparado con IgG es un resultado de la alta razón catabólica de la IgA. Ya que hay de tres a cuatro células IgG por cada célula IgA en el tejido linfoide periférico, cada célula IgA produce considerablemente más cantidad de su proteína por unidad de tiempo que

una célula IgG, o hay otra fuente de IgA que está en el equilibrio con el sistema vascular. La segunda posibilidad es la más probable en vista de los estudios en animales descritos anteriormente. Un estudio reciente en el hombre muestra que partes aisladas del intestino segregan IgAS nuevamente sintetizada hacia el lumen e IgA sin CS hacia el líquido del baño exterior; este líquido correspondería al retorno venoso-linfático. Aunque la secreción de IgA sintetizada en las mucosas hacia el suero está bien fundada en otras especies, no se ha establecido cuantitativamente la amplitud del transporte en esta dirección.

Principalmente como resultado de investigaciones con anticuerpos fluorescentes, así como estudios con microscopio electrónico de la ruta de transporte de peroxidasa, se ha sugerido que el transporte de la IgA hacia el lumen ocurre através de canales intercelulares como se muestra en la figura 2. Como las membranas plasmáticas de dos células epiteliales adyacentes se encuentran en posición en sus límites apicales, se evita que las macromoléculas del tamaño de la IgA tengan acceso directo al lumen por el canal intercelular. Del espacio intercelular la IgA se difunde o es transportada hacia la célula epitelial, donde se encuentra en el citoplasma apical encerrada en estructuras limitadas por membranas. Entonces es transportada através de la superficie luminal de la célula epitelial, probablemente por pinocitosis inversa. No es todavía claro en que etapa ocurre la combinación de

IgA y CS. Puede ocurrir en los canales intercelulares ya que la CS se ha encontrado ahí por el método de anticuerpos fluorescentes que utilizan antisuero específico a la CS. La IgAS también se encuentra en la capa mucosa que cubre la superficie gastrointestinal y epitelio respiratorio. Es posible que en estos lugares tenga propiedades importantes antivirales y antibacterianas.

El origen de las células linfoides en la lámina propia es un asunto importante que no se ha determinado. No hay duda que las células plasmáticas que sintetizan inmunoglobulinas aparecen sólo después de la estimulación antigénica. Evidencia de esto es la observación de que los recién nacidos de la mayoría de las especies, incluyendo al hombre, carecen completamente de células productoras de inmunoglobulina en sitios mucosos tales como el tracto gastrointestinal. En el ratón, las células plasmáticas IgA empiezan a aparecer 15 días después del nacimiento. En ratones criados en condiciones estériles se disminuye marcadamente el desarrollo de las células plasmáticas intestinales. Por ejemplo, en el segundo mes de vida tienen un 10% de estas células comparados con ratones criados normalmente. La componente secretoria, la cual es producto de las células epiteliales, aparece en secreciones al nacimiento donde se encuentra libre sin combinación con moléculas de Ig.

Hay poca información de la naturaleza y origen de las precursoras de la célula plasmática de la lámina propia. Se pueden considerar varias hipótesis. La primera

es que las precursoras de las células IgA derivan de células epiteliales de una manera anteriormente postulada para los tejidos linfoides centrales tales como el timo. La segunda es que algunas células circulantes (posiblemente derivadas de la médula ósea) que no tienen una clase de Ig determinada, siembran las áreas submucosas y se diferencian en células productoras de IgA bajo la influencia del medio. No hay evidencia directa con respecto a estas especulaciones. En tercer lugar, células precursoras ya definidas a la síntesis de IgA bajo estimulación antigénica siembran sitios secretorios específicamente. Se ha mostrado que células linfáticas de las placas de Peyer, al inyectarse en conejos irradiados letalmente, repoblaron la lámina propia del tracto intestinal y se diferenciaban en células plasmáticas, la mayoría de las cuales producía IgA. Por otra parte, la administración de una cantidad igual de células derivadas de los nodos linfáticos periféricos se concentraban principalmente en el bazo y daban origen a células IgG. Como las células que contienen inmunoglobulina son extremadamente escasas en las placas de Peyer, en las que predominan los linfocitos grandes; estos experimentos sugieren que las precursoras de las células IgA en la lámina propia pueden ser linfocitos de las regiones de Peyer. Es interesante que en este respecto las regiones de Peyer se han considerado el análogo mamífero de la bolsa de Fabricius en las aves. De acuerdo a este concepto, las placas de Peyer serían tejidos linfoides centrales y se formarían independientemente

te de la estimulación antigénica. Como el timo y la bolsa poseerían funciones centrales tales como la habilidad para sembrar sitios distantes con las precursoras de células inmunocompetentes. Sin embargo, hay poca evidencia en apoyo de un nivel central de las placas de Peyer, y ciertas investigaciones sugieren el origen en el timo de la mayoría de los linfocitos en las placas de Peyer en desarrollo de ratones recién nacidos.

Los mecanismos de distribución mencionados pueden involucrar características superficiales que permiten siembra específica o por otra parte, siembra al azar seguida de proliferación selectiva. Se sugiere, por la observación que cuando se inyectan células de las placas de Peyer éstas siembran al bazo y dan origen a células plasmáticas IgA, que las placas de Peyer están en una etapa de diferenciación que establece el tipo IgA.

4. Propiedades Biológicas de la IgAS

Está bien establecido que la IgAS tiene propiedades neutralizantes contra los virus; esta actividad es responsable de la inhibición de crecimiento que se observa en varias infecciones virales. No es tan claro como la IgAS ejerce un efecto protector o benéfico contra las infecciones bacterianas. Se considera generalmente que para lisar una bacteria, un anticuerpo debe tener la capacidad de fijar al complemento. Se ha reportado repetidamente que los anticuerpos de la clase IgA, del suero y secre

torios, carecen de esa capacidad. Es posible, sin embargo, que la IgAS actúa en combinación con otros agentes no inmunoglobulinas producidos en la superficie mucosa. Se han publicado varios estudios que indican esta posibilidad.

Otro mecanismo mediante el cual los anticuerpos IgA pueden ejercer un efecto protector es al promover fagocitosis (opsonización). Aunque hay discrepancias en los trabajos publicados con respecto a la capacidad de la IgA para opsonizar, es muy probable que los anticuerpos IgA promueven la fagocitosis, particularmente por monocitos. Este mecanismo sería aplicable más a las partículas que han penetrado bajo la membrana mucosa, donde se localizan la mayoría de los histiocitos fagocíticos.

Además del papel de defensa contra los microorganismos, el sistema inmunitario secretorio puede funcionar de otras maneras. Por ejemplo, las secreciones externas, particularmente las del tracto gastrointestinal, contienen una variedad de anticuerpos con especificidades para antígenos no vivos que se ingieren comúnmente con la comida. Estos anticuerpos sirven para limitar el acceso de estos antígenos a la circulación general. Esto está indicado por la observación que los pacientes que tienen una deficiencia de IgA en su suero y secreciones frecuentemente tienen concentraciones altas de anticuerpos anti-leche. Estos anticuerpos resultan posiblemente de la respuesta inmune a proteínas de leche que han pasado una barrera mucosa defectuosa. El sistema secretorio inmaduro de los

niños pequeños puede también ser la causa de concentraciones altas de anticuerpos anti-leche en ellos.

5. Las secreciones salivales

Los niveles de IgA reportados para las secreciones salivales humanas presentan una diversidad de resultados. Esto se le puede atribuir a una falta de estandarización con respecto al método de colección del fluido, su concentración y almacenamiento, la técnica de medición, y el tipo de proteína estándar. Con referencia a una preparación aislada de IgA de la parótida, Brandtzaeg y colaboradores reportaron un valor promedio de 3.95 mg. IgA/100 ml. para nueve sujetos sanos. El rango observado fue de 1.70 a 6.29. En un estudio subsecuente de 44 adultos sanos, Oon y Lee encontraron una distribución normal de los niveles de IgA de la parótida y no había diferencias significativas entre hombres y mujeres. Al menos el 90% de la IgA de la parótida consiste normalmente de dímeros 11S con CS y polímeros más grandes. En inmunoelectroforesis de agar-gel migra como amilasa y definitivamente más lentamente que IgA del suero. En electroforesis de disco convencional se separa en tres fracciones como resultado de la heterogeneidad de tamaño; la banda mayor es de moléculas 11S mientras que las dos bandas menores representan polímeros más grandes.

Aunque la IgA representa menos del 3% de la proteína total de las secreciones parótidas, su concentración

es por lo menos 100 veces mayor a la concentración de IgG. La razón IgA/IgG para la secreción parótida es en promedio 400 veces mayor a la misma razón para el suero. Un aumento menor pero claro se observa también para la razón IgM/IgG; indicando que la IgA y la IgM se transportan selectivamente através del epitelio glandular. La IgD no se ha detectado en la secreción parótida, mientras que el nivel de IgE se ha reportado de 0.1 a 1.0 $\mu\text{g}/100\text{ ml.}$, lo que sugiere transferencia externa selectiva. Sin embargo, otros estudios más recientes indican que estos resultados se deben a una sobreestimación artificial. Lo mismo se puede decir de los altos niveles de IgE estimados por métodos radioactivos. Medidas subsecuentes basadas en radioinmunodifusión han mostrado que el mecanismo en el que se basa la transmisión de pequeñas cantidades de IgE a la saliva no es de ninguna manera comparable con la transferencia glandular activa de IgA e IgM.

El contenido de Ig de la saliva depende del flujo del fluido. Las secreciones de la parótida no estimuladas contienen tres veces más IgA que las no estimuladas. No tiene mucho valor medir niveles de IgA sin tomar en cuenta la razón de flujo. Algunos investigadores han tratado de evitar este problema reportando IgA en $\text{mg}/100\text{ mg}$ de proteína total; pero esto es engañoso ya que las respuestas secretorias de las diferentes componentes proteínicas son muy diferentes. Bajo estimulación gustatoria la secreción ($\mu\text{g}/\text{min}/\text{glándula}$) aumenta 16 veces para la amilasa, 5 veces para lactoferrin y CS libre, sólomente

2.5 veces para IgA. La composición de la proteína total depende grandemente de la concentración de amilasa que es una componente mayor del fluido. Relacionar el nivel de IgA de la parótida al nivel de la proteína total no compensa la influencia de la razón de flujo, sino que aumenta la dificultad.

La medición de Ig en la saliva total presenta problemas adicionales. Las contribuciones a este fluido de las glándulas menor, submandibular y parótida varían grandemente con respecto a la razón de flujo. La razón de flujo de la saliva total no se puede medir con la exactitud con que se mide el flujo de la parótida. A pesar de estas desventajas, la saliva total se usa comunmente como representativa de la secreción externa porque se obtiene fácilmente. Mientras que la fracción 7S de la IgA de la parótida se ha estimado cerca del 10%, es de 13 a 17% en saliva total no estimulada, dependiendo del estado de la mucosa. La concentración relativa de IgG también se aumenta en la saliva total y esto es función del grado de inflamación gingival. La contribución extraglandular de la Ig se puede atribuir principalmente a una mezcla con el fluido crevicular. La salud gingival debe considerarse cuando los niveles de Ig de diferentes clases se miden en la saliva total. Hay evidencia de fragmentación de Ig en este fluido, lo que puede interferir con la medición inmunológica. El almacenamiento de la saliva entera durante un año a -20° C reduce considerablemente las concentraciones de Ig.

Es difícil evaluar las primeras publicaciones sobre anticuerpos en la saliva; las inmunoglobulinas responsables pudieron haber sido derivadas de inmunocitos asociados con glándulas, inmunocitos gingivales o la sangre. Se ha reportado recientemente que la IgA salival contiene anticuerpos contra una gran variedad de antígenos microbianos, aunque en la mayoría de los estudios no se ha hecho una identificación definitiva de que se trata de IgA secretada. Generalmente se encuentran anticuerpos a antígenos que se esperan de la microbiota oral, y la inmunización parenteral es un método ineficiente de inducir una respuesta de IgA salival. Esto está de acuerdo con otras observaciones que la aplicación tópica de antígeno es el estimulador más potente de la síntesis glandular de IgA. Sin embargo, no se sabe como un antígeno que está en la mucosa oral puede llegar a las glándulas salivales que están apartadas para inducir una respuesta inmune ahí. Resta mucho por averiguar para entender el sistema inmunitario salival. Es posible que la síntesis de anticuerpos IgA en las glándulas salivales mayores depende de la diseminación de inmunocitos preestimulados de sitios en otros tejidos, principalmente el intestino y las amígdalas. Que esto puede ocurrir lo muestra la presencia de anticuerpos IgA secretados en el colostrum humano cuya síntesis glandular no puede ser el resultado de la estimulación antigénica local.

No se ha hecho intento alguno por relacionar concentraciones antibacterianas específicas de IgA con la seve-

ridad de la caries dental o inflamación periodontal. Las mediciones de IgA salival en relación a estas enfermedades han dado resultados contradictorios, lo que probablemente refleja las dificultades mencionadas anteriormente. Hay alguna evidencia de que un nivel bajo de IgA salival está asociado con una menor resistencia a la infección.

Hay pocas publicaciones sobre niveles de Ig salival en relación a otras enfermedades orales. En el síndrome de Sjörgeren las pequeñas cantidades de fluido de la parótida que se pueden obtener contienen relativamente más IgG que la saliva total de sujetos normales. La correlación aparente entre los niveles de IgG en el suero y parótida indicaban que esta inmunoglobulina había entrado a la secreción por difusión pasiva a través de las estructuras secretorias dañadas. El contenido superior de albumina en el fluido de la parótida es un mejor indicador de fuga de proteínas. En la fibrosis cística, que es una enfermedad que puede afectar a las glándulas salivales, la concentración de IgA en secreciones submandibulares se aumenta de dos a tres veces, mientras que la parótida permanece normal. El flujo de fluido submandibular se reduce en los pacientes. Falta por determinar si el nivel incrementado de la IgA submandibular se atribuye a un flujo reducido, un nivel mayor de IgA en el suero, o a una síntesis mayor en las glándulas afectadas. Durante las paperas con parotitis hay un aumento en el anticuerpo anti-virus en la saliva de la mayoría de los pacientes. La concentración alcanza un máximo cuando la inflamación se reduce; los anti

cuerpos son de la clase IgA aunque algunos son IgG, al me nos en la saliva total. No ha sido posible detectar un defecto en la síntesis local de IgA en pacientes con muco cutaneous candidosis; pero la IgA parótida de algunos pa cientes puede ser específicamente deficiente en anticuer pos contra *C. albicans*. Hay indicaciones de que la baja capacidad para producir anticuerpos IgA predispone a com plicaciones y recurrencia de la infección por herpes sim plex, y especialmente en relación a las lesiones intraora les. Sin embargo, estos estudios se basaron en la medi ción de IgA del suero en lugar de la saliva.

CAPITULO VI

MATERIALES Y METODOS

En el estudio que se reporta en esta tésis, se hizo una determinación de la concentración de IgA en la saliva total de 19 estudiantes de la Facultad de Odontología de la U.N.A.M. a diferentes horas del día, con objeto de determinar la variación diurna de los niveles normales de esta inmunoglobulina en la saliva de la población mexicana.

Se buscaron donadores voluntarios entre los estudiantes de la Facultad de Odontología. Se efectuó un examen de la cavidad oral así como de su estado general de salud de acuerdo a una historia clínica que incluyó los siguientes puntos:

- a) Datos personales
- b) Antecedentes heredofamiliares
- c) Antecedentes personales no patológicos
- d) Antecedentes personales patológicos
- e) Antecedentes gineco-obstétricos
- f) Examen de la cavidad oral

Las personas que presentaron cualquier anomalía en su estado de salud fueron excluidos del experimento. De esta manera fueron seleccionados 11 mujeres y 8 hombres cuya edad variaba entre los 17 y 27 años. Se les citó en grupos de 5 y 4 personas para tomar las muestras a las 8:00, 12:00, 16:00 y 19:00 horas. Las muestras

tomadas a las 8:00, 12:00 y 19:00 horas se efectuaron antes del desayuno, comida y merienda respectivamente; la muestra de las 16:00 horas se tomó después de la comida. Se les indicó a los donadores cepillar sus dientes sin pasta dental para evitar alteraciones en el experimento. Los donadores depositaron su saliva total en tubos de ensayo previamente lavados y esterilizados en cantidades de aproximadamente 1.5 a 2 ml.

La medición de la concentración de IgA en las muestras de saliva se hizo usando placas de inmunodifusión L.C. Partigen (fabricadas por Behring Institut, Alemania Occ.). El procedimiento se basa en el método de inmunodifusión radial simple desarrollado por Mancini, Carbonara y Heremans. Cada placa tiene una capa delgada de gel que contiene anticuerpos animales específicos a la porción Fc de la inmunoglobulina que nos interesa, es este caso IgA. Hay doce pocillos excavados en la capa de gel en donde se depositan las muestras de fluido. Las moléculas del fluido se desplazan dentro del gel por difusión y las proteínas de IgA se combinan con el anticuerpo anti-IgA y se precipita el complejo. La difusión de las moléculas de IgA continúa en forma radial hasta que toda ella se ha combinado y precipitado. La zona de precipitación forma un anillo alrededor del pozo. Como la capa de gel es de espesor constante, la cantidad de IgA que había en la muestra depositada en el pocillo es proporcional al área del anillo. Para determinar el factor de proporcionalidad es necesario

establecer una curva de referencia. En tres de los pocillos se deposita suero humano estabilizado estándar en tres diluciones diferentes. Es necesario hacer una curva de referencia para cada placa ya que el espesor de la capa de gel y la concentración del anticuerpo anti-IgA puede variar de una placa a otra.

Se utilizó suero humano estabilizado estándar (fabricado por Behring Institut, Alemania Occ.) con una concentración de IgA de 242 mg/100 ml, en diluciones 1:25, 1:50 y 1:200 para establecer las curvas de referencia. Estas diluciones tienen una concentración de IgA de 9.68, 4.82 y 1.21 mg/100 ml respectivamente. En los pocillos 1, 2 y 3 de cada placa se depositan 20 μ l de cada una de las diluciones de suero estándar. Los otros nueve pocillos se usan para depositar en cada uno 20 μ l de saliva de las muestras. Después de que se han depositado las diluciones estándar y las muestras se deja reposar la placa destapada durante 20 minutos sin moverla con objeto de que la difusión ocurra uniformemente en el plano horizontal. A continuación se tapa la placa y se mantiene a temperatura ambiente durante dos días; transcurridos éstos se procede a medir los anillos de precipitación. Las placas se mantienen en refrigeración antes de su uso y es necesario que lleguen a temperatura ambiente antes de depositar las muestras en los pocillos. Es suficiente sacar las placas del refrigerador 10 minutos antes.

La medición final de la concentración de IgA de

las muestras se efectúa de acuerdo a los siguientes tres pasos: (para cada placa): Se mide el diámetro exterior al cuadrado (d^2) de los anillos de precipitación. Con los valores de d^2 para los anillos de precipitación de las diluciones estándar, y los valores de concentración conocidos de estas diluciones, se establece una curva de referencia que da la relación entre d^2 y la concentración. Se usa la curva de referencia para traducir los valores de d^2 de las muestras en valores de concentración de IgA.

La medición de d^2 se hace colocando la placa contra una lámpara de luz fluorescente especial que da suficiente contraste para poder ver los anillos de precipitación fácilmente. Se utiliza una regla proporcionada por el fabricante de las placas Partigen que da la medida del diámetro al cuadrado directamente (en mm^2). La curva de referencia se establece determinando tres puntos sobre un sistema cartesiano, el eje horizontal representa d^2 en mm^2 y el eje vertical representa concentración C de IgA en $\text{mg}/100 \text{ ml}$. Los tres puntos tienen coordenadas (C, d^2) correspondiente a las tres diluciones estándar. Como C es proporcional al área del anillo de precipitación, C es proporcional a d^2 menos una constante, o sea, la relación entre C y d^2 es una recta. Los tres puntos (C, d^2) para las diluciones se encuentran aproximadamente sobre una recta; no exactamente por tolerancias de fabricación de las placas y errores sistemáticos experimentales. La figura 3 en la siguiente página muestra la curva de referencia para una de

Ejemplo de una Curva de Referencia
para una Placa de L.C. Partigen

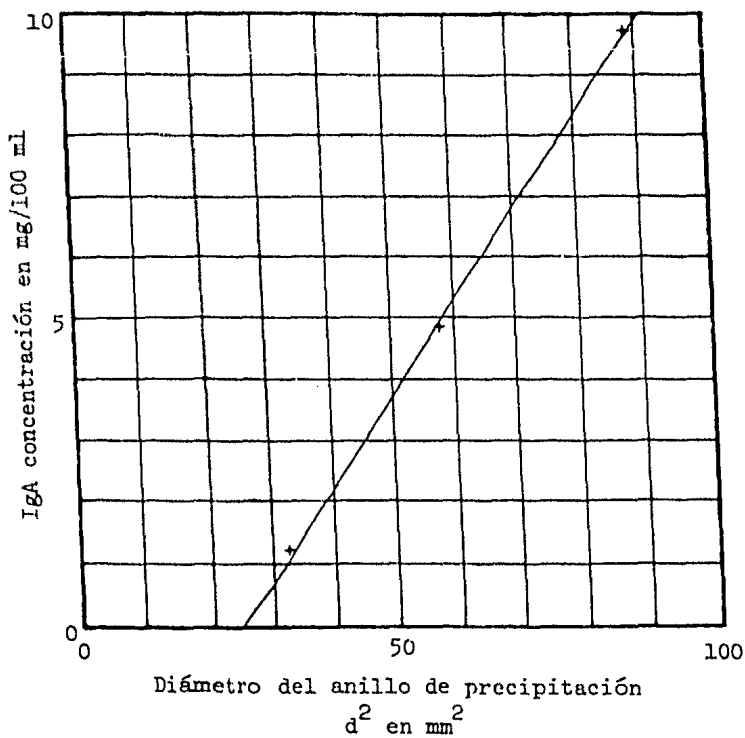


Figura 3

las placas que se midieron. Las cruces marcan las posiciones de los puntos correspondientes a las diluciones estándar. En este caso se tiene:

dilución No. 1	$C=1.21$ mg/100 ml	$d^2=32.5$ mm ²
dilución No. 2	$C=4.84$ mg/100 ml	$d^2=57.7$ mm ²
dilución No. 3	$C=9.68$ mg/100 ml	$d^2=88.4$ mm ²

Con estos tres puntos sobre la gráfica se traza la recta que mejor se aproxima a ellos; esto representa la curva de referencia.

La curva de referencia da finalmente la relación entre C y d^2 para la placa. Por ejemplo, para la curva de referencia de la figura 3, un anillo de precipitación con $d^2 = 50$ mm² representa una muestra con una concentración de IgA de $C= 3.7$ mg/100 ml.

CAPITULO VII

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Las gráficas de las figuras 4, 5, 6 y 7 que aparecen en las páginas siguientes muestran los resultados individuales. Cada curva une los cuatro valores de la concentración de IgA salival determinada en las muestras tomadas a las horas que se indica para cada persona. Sin hacer todavía un análisis estadístico, las gráficas ya muestran que el valor normal promedio de la concentración de IgA salival es de aproximadamente 5 mg/100 ml y que tiende a decrecer durante el transcurso del día.

Se calculó el promedio y la desviación estándar de estas mediciones para cada hora sobre el grupo de donantes. Los resultados se muestran en la Tabla I. De una concentración de 5.37 ± 1.59 mg/100 ml a las 8 horas, la IgA salival baja a 4.15 ± 1.53 mg/100 ml a las 19 horas. El promedio a las 19 horas es menor que el promedio a las 8 horas en aproximadamente una desviación estándar. Esto muestra que hay una disminución estadísticamente significativa en la concentración de IgA durante el transcurso del día. Al calcular el promedio a las 8 horas fueron eliminados del análisis dos valores por estar separados más de 5 desviaciones estándar de los otros 17. Estas mediciones son las más altas que aparecen en la Figura 7. Por la misma razón fue eliminado del análisis un valor de una muestra tomada a las 12 horas que es la más

Primer Grupo de Estudio

IgA en Saliva

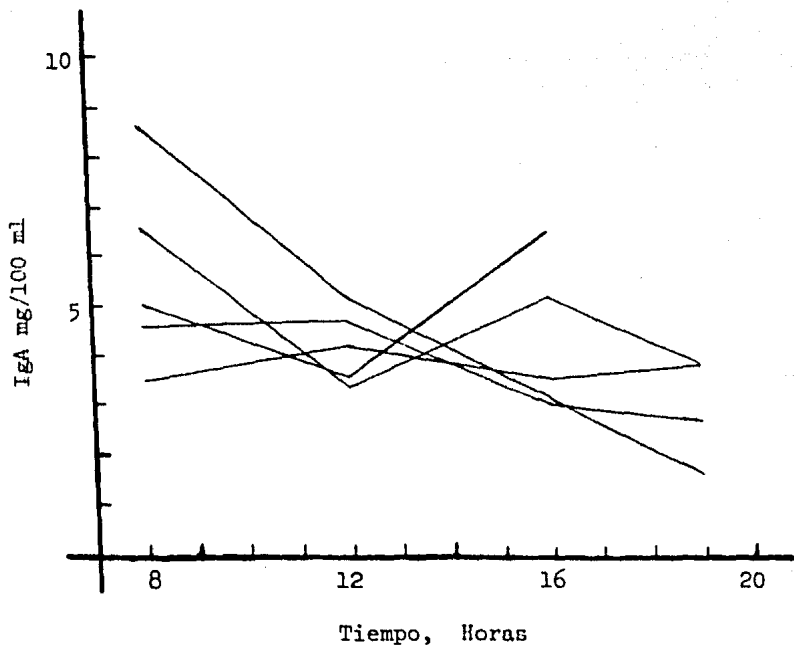


Figura 4

Segundo Grupo de Estudio

IgA en Saliva

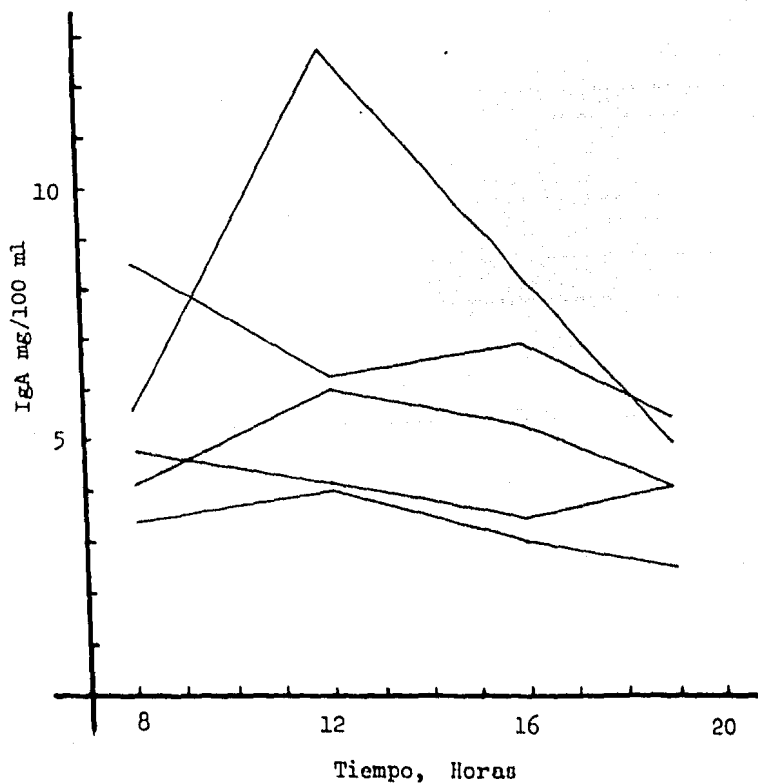


Figura 5

Tercer Grupo de Estudio

IgA en Saliva

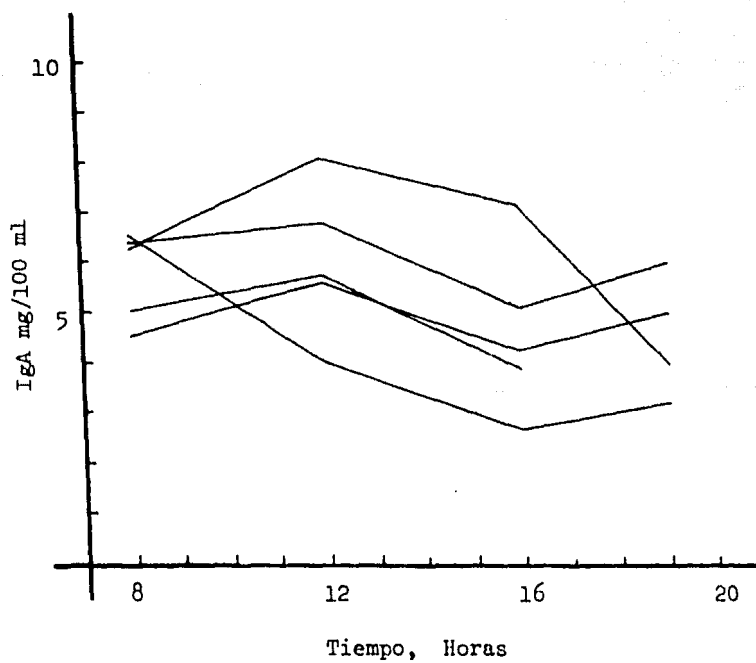


Figura 6

Cuarto Grupo de Estudio

IgA en Saliva

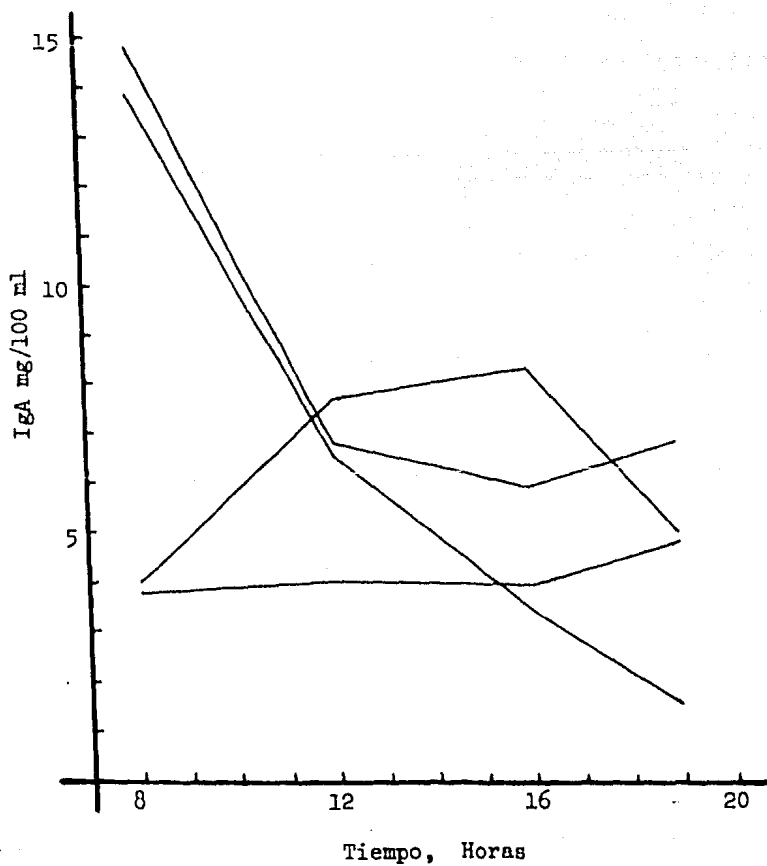


Figura 7

Tabla I Promedio de la concentración de IgA salival en mg/100 ml y desviación estándar (D.E.) sobre el grupo completo de donantes a diferentes horas

Hora	IgA	± D.E.	No. de muestras
8	5.37	1.59	17
12	5.39	1.44	18
16	4.90	1.81	19
19	4.15	1.53	17

Tabla II Promedio de la concentración de IgA salival en mg/100 ml por grupos de acuerdo al sexo, a diferentes horas

Hora	IgA hombres	No. de muestras	IgA mujeres	No. de muestras
8	5.66	9	5.04	8
12	5.35	11	5.47	7
16	4.87	11	4.96	8
19	3.70	10	4.73	7

Tabla III Promedio de la concentración de IgA salival en mg/100 ml por grupos de acuerdo al número de dientes cariados y preparados (C.P.) de los donantes

Hora	IgA C.P. < 10	No. de muestras	IgA C.P. > 10	No. de muestras
8	5.71	8	5.06	9
12	6.02	10	4.61	8
16	5.00	10	4.80	9
19	4.40	9	3.80	8

alta de la Figura 5. El alejarse 3 desviaciones estándar de un promedio es razón suficiente para considerar el valor no típico, los tres valores eliminados se alejan más de 5 desviaciones estándar del promedio.

La Tabla II muestra los promedios de las concentraciones de IgA salival por grupos de acuerdo al sexo. No se puede decir que haya diferencias estadísticamente significativas excepto a las 19 horas.

La Tabla III muestra los promedios de las concentraciones de IgA salival por grupos de acuerdo al número de dientes careados y preparados. La segunda columna da estos promedios para los donantes que tenían hasta 10 dientes careados y preparados. La cuarta columna da los mismos datos para donantes con más de 10 dientes careados y preparados. El grupo de personas resistente a las caries muestra promedios de concentración de IgA superiores a los del grupo susceptible a todas las horas del muestreo. Sin embargo, las diferencias son de aproximadamente un medio de una desviación estándar. No se puede decir que haya una clara correlación entre la baja concentración de IgA salival y la alta incidencia de caries. Pero el hecho de que la diferencia de concentración de IgA salival entre los grupos mencionados tenga el mismo signo a las cuatro horas del muestreo sugiere que si puede haber alguna correlación.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al C.D. y M.enC. Javier Portilla Robert son haberme sugerido el tema para esta tesis y su dirección en el desarrollo de la misma. Doy gracias a la Facultad de Odontología de la U.N.A.M. que através de su Departamento de Investigación hizo accesibles los materiales para llevar a cabo el experimento. Doy gracias al Instituto Nacional de Enfermedades Pulmonares de la Secretaría de Salubridad y Asistencia por facilitar el local donde se efectuó el trabajo.

BIBLIOGRAFIA

Se presenta la bibliografía por tema.

Inmunología General:

FUDENBERG H.H., STITES, D.P., CALDWELL J.L. and WELLS J.V. Basic and Clinical Immunology, Lange Medical Publications (1976).

Función de las células B y T:

PARROTT D.M. and DESOUSA M. Thymus-dependent and thymus-independent populations: origin, migratory patterns and lifespan. Clin. exp. Immunol. 8, 663-684 (1971)

FORD W.L. and MARCHESI V.T. Lymphocyte recirculation and its immunological significance. Progress in Immunology, 1159-1164. Academic Press, New York (1971)

Posibilidad de la existencia de linfocitos que no deben clasificarse como células B o T:

FROLAND S.S. and NATVIG J.B. Identification of three different human lymphocyte populations by surface markers. Transplant. Rev. 16 114-162 (1973)

Para la estructura de las inmunoglobulinas ver referencia sobre inmunología general.

Inmunoglobulinas Secretadas:

TOMASI T.B. Secretory Immunoglobulins. The New England Journal of Medicine. 287-10 500-506 (1972)

TOMASI T.B. The gamma A globulins, first line of defense. Immunobiology 76-83 (1969)

IgA salival:

BRANDTZAEG P., FJELLANGER I. and GJERULDSSEN S.T. Human secretory immunoglobulins. Salivary secretions from individuals with normal or low levels of serum immunoglobulins. Scandinavian Journal of Haematology, Supplement No. 12, 1-83 (1970)

Correlación entre la deficiencia de IgA secretada y las enfermedades del tracto respiratorio:

SIEGLER D.I.M. and CITRON K.M. Serum and parotid salivary IgA in chronic bronchitis and asthma. Thorax, 113

KALTREIDER H.B. Expression of immune mechanisms in the lung, state of the art. American Review of Respiratory Disease, 113 347-379 (1976)

Correlación entre la deficiencia de IgA salival e incidencia de infecciones:

BRASHER G.W. and DEITERMAN L. H. Salivary IgA and infection in children with atopy. Ann. Allergy, 30 241-244 (1972)

Correlación entre la deficiencia de IgA salival y la incidencia de caries:

LEHNER T., CARDWELL J.E. and CLARRY F.D. Immunoglobulins in saliva and serum in dental caries. Lancet 1 1294-1296 (1967)

SIMS W. The concept of immunity in dental caries II. Specific immune responses. Oral Surgery 34 69-86 (1972)

Medición de la concentración de inmunoglobulinas:

MANCINI G., CARBONARA A.O. and HEREMANS J.F. Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. Immunochemistry 2 235-254 (1965)

KAKIZAWA T., NOMA H. and OMORI K. The evaluation of secretory IgA in human saliva. Bull. Tokyo Dent. Coll. 14 125-139 (1973)