

II. Factores que intervienen en la reacción antígeno-anticuerpo

Javier Bautista-Juárez*

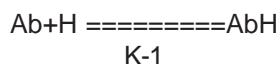
La reacción antígeno-anticuerpo es la piedra angular de la respuesta inmune y se pone de manifiesto “*in vitro*” por la formación de un precipitado o aglutinación de partículas (eritrocitos). El acoplamiento estructural entre las macromoléculas está dado por varias fuerzas débiles que disminuyen con la distancia, como son los puentes de hidrógeno, las fuerzas de van der Waals, las interacciones electrostáticas débiles y las hidrofóbicas. El reconocimiento antígeno-anticuerpo es una reacción de complementariedad, por lo que se efectúa a través de múltiples enlaces no covalentes entre una parte del antígeno y los aminoácidos del sitio de unión en el anticuerpo. La reacción se caracteriza por ser específica, rápida, reversible y espontánea.¹

Específica. Capacidad de los anticuerpos para distinguir entre dos ligandos de estructura similar. La unión dada por la especificidad es muy precisa y permite distinguir entre grupos químicos con diferencias mínimas.

Rapidez. La velocidad con que ocurre la primera etapa de la reacción antígeno-anticuerpo es del orden de milésimas de segundo, y está limitada únicamente por la difusión. La segunda etapa, que es más larga, incluye todas las manifestaciones que se presentan como consecuencia de la interacción tales como precipitación, aglutinación, neutralización, etc.

Espontaneidad. La reacción antígeno-anticuerpo no requiere energía adicional para efectuarse y es factible explicarla en términos de la ley de acción de masas.

K1



$$K_{eq} = \frac{(AbH)}{(Ab)(H)}$$

Donde el valor de la constante de equilibrio es una medida de afinidad del anticuerpo por el antígeno y, desde un punto de vista termodinámico, permite conocer la energía libre de Gibbs mediante la ecuación de :

$$E \text{ Gibbs}^{\circ} = -RT \ln K_{eq}$$

Reversibilidad. Dado que la reacción se debe a fuerzas no covalentes, es reversible y, en consecuencia, se ve afectada por factores como la temperatura, proporción antígeno-anticuerpo, el pH y la fuerza iónica. En pruebas de laboratorios que usan la aglutinación como punto final, la alteración de las condiciones físicas del sistema puede incrementar o reducir la sensibilidad de la prueba.¹⁻⁴

Temperatura. La temperatura tiene efectos inversamente proporcionales con la constante de equilibrio y la velocidad de reacción si uno se aleja de los puntos ideales a trabajar. En inmunohematología los anticuerpos eritrocitarios reaccionan dentro de un margen restringido de temperatura. En general los anticuerpos IgM reaccionan a temperaturas de entre 4-27°C, mientras que los anticuerpos IgG reaccionan mejor a 37°C, es por eso que los procedimientos para la detección de anticuerpos pueden detectarse a diferentes temperaturas, se debe de tener cuidado además de clasificar los anticuerpos que son clínicamente significativos, a los que actúan a un amplio margen térmico, a los que fijan complemento etc.

pH

No existe un pH exacto óptimo, pero se dice que entre 6-7.3 se detecta la mayoría de los grupos sanguíneos clínicamente significativos, con excepciones como el anti Mel que actúan mejor a pH más bajos, notándose marcadamente el cambio de la especificidad de los anticuerpos en especial de los monoclonales. Uno de los puntos más importantes a observar es el almacenamiento de reactivos, entre los que figura principalmente la solución salina isotonica, la cual después de un largo periodo de almacenamiento el pH cambia de 5.0-6.0, por lo que algunos técnicos prefieren la utilización de soluciones amortiguadas en las pruebas serológicas.

Fuerza iónica

Está directamente relacionada con el potencial z. En la solución salina normal, los iones de Na⁺ y Cl⁻ se reúnen alrededor de los antígenos y de los anticuerpos y neutralizan

* Banco Central de Sangre. Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS. México, D.F.

parcialmente cargas opuestas, esto impide la asociación del anticuerpo con el antígeno, pero puede disminuirse de diferentes formas. Por lo que el resultado del efecto de eliminar, neutralizar o disminuir estas cargas ayuda a conseguir una constante de equilibrio mejor y a incrementar la velocidad de reacción.

Tiempo de incubación

El tiempo necesario para alcanzar el equilibrio varía para la mayoría de los anticuerpos y de su medio de reacción. En algunos casos los agentes potenciadores pueden incrementar la cantidad de anticuerpo que se fija al antígeno en los primeros 15 minutos, y en consecuencia disminuir el tiempo de incubación el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio. Pero en medios como en solución salina fisiológica o albúmina, en los cuales el suero antiglobulina es necesario para demostrar la fijación de anticuerpos, lo adecuado son 30 minutos a 37°C para detectar la mayoría de los anticuerpos clínicamente significativos. No obstante con algunos anticuerpos con constantes de equilibrio muy bajas, la asociación no alcanzara el equilibrio a los 30 minutos, por lo que la extensión del tiempo de incubación incrementara la sensibilidad de la prueba, por lo que en general para todos los anticuerpos, el aumento del tiempo de incubación en estos medios tiene mayores ventajas.

Concentración de antígeno-anticuerpo

Aunque está muy relacionada, un exceso de anticuerpos podrá inhibir la aglutinación como en la precipitación en el efecto prozona de la curva de equivalencia. Una relación comúnmente usada es de dos gotas de suero con una gota de eritrocitos resuspendidos a 2-3% en solución fisiológica. Por lo que el número de anticuerpos en el sistema y el número de sitios antigenicos por el eritrocito afectan la velocidad con que se lleva a cabo una reacción de aglutinación, viéndose que una relación de suero-célula aumentada puede detectar anticuerpos débilmente reactivos.⁵⁻⁷

Estructura antigenica

Los antígenos de grupo sanguíneo son proteínas o hidratos de carbono. Su especificidad antigenica está determinada por una secuencia concreta de aminoácidos o por una molécula constituida por 3 o 4 azúcares.

La membrana del hematíe está constituida por una doble capa de lípidos. Las cadenas hidrocarbonadas, en cuyos extremos se unirán los azúcares específicos de A, B, H, P, y Lewis, se unen directamente a la capa lipídica a través de radicales de fosfato específicos. (Cuadro I).

Mecanismos mediante las proteínas se encuentran insertadas a la membrana

Cuadro I. Sistemas de grupo sanguíneo

Nº	Nombre	Símbolo	Nombre gen	cromosoma	Producto génico	Función
01	ABO	ABO	ABO	9q34	Glicosiltransferasa	Añade azúcares
02	MNS	MNS	GYPA, GYPB, GYPE	4q28-31	Glicoformas A,B	GPA= inhibidor C'
03	P	P	P1	22q31	Glicosiltransferasa	Añade azúcares
04	Rh	RH	RHD,RHCE	1p36-p34	Polipéptidos CE y D	Transporte de lípidos
05	Lutheran	LU	LU	19q 12-q13	Glicoproteína	Superfamilia de Inmunoglobulinas
06	Kell	KEL	KEL	7q33	Glicoproteína	Metaloproteasa ligadora de Zn ⁺⁺
07	Lewis	LE	FUT3	19p	Glicosiltransferasa	Añade azúcares
08	Duffy	FY	FY	1q22-q23	Receptor	Receptor citoquina (IL-8)
09	Kidd	JK	JK	18q11-q12	Proteína de transporte	Transporte de urea
10	Diego	DI	AE1	17q	Banda 3	Transporte de aniones
11	Cartwright	YT	ACHE	7q22	Acetilcolinesterasa	Desconocido en hematíes
12	Xg	KG	XG	Xp22.3	Glicoproteína	Desconocido
13	Scianna	SC	SC	1p34-p32	Glicoproteína	Desconocido
14	Dumbrock	DO	DO	?	Glicoproteína	Desconocido
15	Colton	CO	AQP1	7p14	CHIP 28	Canal de agua, acuaforina
16	Landstainer -Weiner	LW	LW	19p 13-p11	Glicoproteína	Molécula de adhesión
17	Chido/ rodgers	CH/RG	C4A,C4B	6p21.3	C4	Vía clásica de C'
18	Hh	H	FUT1	19q	Glicosiltransferasa	Añade azúcares
19	Kx	XK	XK	Xp21.1	Glicoproteína	Desconocido
20	Gerbich	GE	GYPC	2q14-q21	Glicoformas C,D	Desconocido
21	Cromer	CROM	DAF	1q32	DAF (CD55)	Control de complemento
22	Knops	KN	CR1	1q32	CR1 (CD35)	Receptor de complemento
23	Indian	IN	CD44	11p	H-CAM (CD44)	Adhesión celular

1. Proteínas orientadas longitudinalmente cuyos extremos NH₂ y COOH pueden estar dentro del citoplasma o en el exterior de la célula.

	Proteína	Antígeno
NH ₂ exterior	Glicoforina A	M,N
	Glicoforina B	S,s,U
	Glicoforina C	Gerbich
	CD ₄₄	Indian
	CR ₁	Knops
	Lutheran	Lutheran
	LW	LW
	Xg	Xga
COOH exterior	Kell	Kell

2. Proteínas que interaccionan con la doble capa lipídica atravesándola transversalmente formando circunvalaciones. Estas proteínas constituyen el llamado esqueleto de la membrana del hematíe, responsable de su flexibilidad y resistencia.

	Proteína	Antígeno
NH ₂ y COOH	Polipéptidos D y CcEe	Rh
	Banda 3 (AE 1)	Diego
	Aguaporina 1 (CHIP)	Colton
NH ₂ exterior COOH interior	Duffy	Duffy
	Kidd	Kidd
	Kx	Kx

3. Proteínas unidas a la cara externa de la membrana a través de radicales fosfotidilinositol.

Proteína	Antígenos
Acetilcolinesterasa	Yt
CD ₅₅ (DAF)	Cromer
Dombrock	Dombrock

4. Mecanismo de unión desconocido: scianna.

5. Proteínas adsorbidas del plasma

Proteína	Antígenos
Componente 4 del Complemento (C4)	Chido/Rogers

La expresión de determinados antígenos requiere la presencia de secuencias específicas de aminoácidos y de carbohidratos específicos: M, N, Tm, Sj, M₁, Can, Sext, Hu y Wb.

En otras situaciones se requiere la interacción entre dos proteínas para que el epítopo se exprese. Este es el caso de los antígenos Wr, U, Duclos, Fy5 y Kell.

La expresión del antígeno Rh(D) depende de la relación del polipéptido D con los lípidos de la membrana.

La localización de los antígenos en la membrana condicionará las técnicas de detección. Así, mientras los antígenos Rh y Diego están situados muy cerca de la capa de lípidos, los antígenos como A, B, H, y MN se sitúan en la superficie de la capa glicosilada externa (10-12.5 nm de los lípidos). La capacidad de un anticuerpo de naturaleza IgG de producir aglutinación directa dependerá de la localización del antígeno, por ejemplo, los anti-A y anti-M de clase IgG fácilmente serán aglutinantes, mientras que, los anticuerpos de la misma naturaleza, dirigidos contra los antígenos del sistema Rh y diego serán detectados mediante pruebas llevadas hasta la fase de antíglobulina. Estas diferencias no se aprecian cuando se trata de anticuerpos clase IgM, dado que estas moléculas cubren distancias de 30 nm.

Referencias

1. **Glynn, LE, Steward MW.** (eds.) (1977), *Inmunochemistry: An advanced Textbook*, J. Wiley & Sons. Chichester, Brisbane, Londres y Toronto.
2. **Heidelberger M.** (1956) *Lectures in Immunochemistry*. Academic Press. Londres y Nueva York.
3. **Klotz LM.** (1982). Number of receptor sites from Scatchard graphs: Facts and fantasies. *Science* 217:1247.
4. **Roitt LJ, Brostoff D.** Male. (1985). *Immunology*. Churchill Livingstone, Edimburgo, Londres, Melbourne y Nueva York: Gower Medical Publishing Ltd., Londres y Nueva York.
5. **Watson JD.** (1976). *Molecular Biology of the Gene*, 3a edición. W.A. Benjamin, Inc. Menlo Park.
6. **Mollison PL, Engelfriet FP, Contreras M.** *Blood transfusion in clinical medicine*, 9th ed. Oxford: Blackwell Scientific, 1993.
7. **Coombs RRA, Mourant AE, Race RR.** A new test for the detection of weak and incomplete Rh agglutinins. *Br J Exp Pathol* 1945;26:255-66.
8. **Ribera Anna.** Seminario de Inmunohematología; resolución de problemas serológicos complejos. Sistemas de Grupos sanguíneos eritrocitarios humanos. Menarini diagnostics. Barcelona 29Nov1995. Pags 5-17.