

Artículo de revisión

Lectina fijadora de manosa en la respuesta inmunitaria innata

Miguel Ángel Villarreal Alarcón,* Rocío Ortiz López,** Augusto Rojas Martínez,** Mario Alberto Garza Elizondo,* Jessica Suárez Garza*

RESUMEN

La lectina fijadora de manosa (MBL) es una proteína cuyo gen (MBL2) se encuentra en el brazo largo del cromosoma 10. Sus concentraciones en suero pueden ser afectadas por tres variaciones genéticas (B, C y D) en la porción estructural del gen MBL2 y a dos variaciones adicionales en la región promotora del mismo, que generan dos sitios polimórficos (H/L y X/Y). Estos polimorfismos generan diversos haplotipos en algunas comunidades humanas y algunos de estos haplotipos podrían incrementar la susceptibilidad a infecciones, lupus eritematoso generalizado y artritis reumatoide. Este estudio revisa los polimorfismos del gen MBL2 y su relación con la salud en poblaciones humanas afectadas.

Palabras clave: lectina fijadora de manosa, haplotipos, polimorfismos.

ABSTRACT

Mannose-binding lectin (MBL) is a protein whose gen (MBL 2) is in the long arm of chromosome 10. Low serum concentrations of this protein may be affected by three genetic variants (B, C, and D) in the structural portion of the MBL 2 gen and to additional variations in the promoter region of it, which generate two polymorphic sites (H/L and X/Y). These polymorphisms create diverse haplotypes in some human communities that may increase the susceptibility to infections, generalized lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. This study reviews the MBL 2 gen polymorphisms and its relation with the health of the affected human populations.

Key words: Mannose-binding lectin, haplotypes, polymorphisms.

La lectina fijadora de manosa (MBL) es una proteína cuyo gen MBL2 (el MBL1 es un pseudogén) se encuentra en el brazo largo del cromosoma 10. Tiene función importante en la respuesta inmunitaria innata y en la activación de la tercera vía del complemento.^{1,2} Las concentraciones deficientes y bajas de lectina fijadora de manosa en suero se deben, principalmente, a tres mutaciones (B, C y D) en la porción estructural del gen MBL2 que afectan su producción (de-

nominados alelos O, en contraste el alelo normal A) y a mutaciones en la región promotora del mismo, que generan dos sitios polimórficos (H/L y X/Y) con efecto cuantitativo en sus concentraciones.^{3,4} Estos polimorfismos generan diversos haplotipos por alteraciones de ligamiento en algunas comunidades humanas.⁵ Entre estos, el haplotipo HYA se asocia con elevadas concentraciones de proteína fijadora de manosa, el LYA con concentraciones moderadas y el LXA con bajas.¹ Algunos estudios sugieren que la deficiencia de lectina fijadora de manosa se relaciona con alto riesgo de infecciones, así como de lupus eritematoso generalizado, artritis reumatoide, entre otras enfermedades autoinmunitarias.⁶

El objetivo de este estudio es revisar los diversos polimorfismos del gen MBL2 de lectina fijadora de manosa y su relación con la salud en poblaciones humanas afectadas.

ANTECEDENTES

El descubrimiento de lectina fijadora de manosa se remonta a finales del decenio de 1940, cuando se observaron componentes termolábiles, denominados β -inhibidores,

* Servicio de reumatología

** Departamento de bioquímica

Facultad de Medicina y Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González de la UANL.

Correspondencia: Dr. Miguel Ángel Villarreal Alarcón. Departamento de medicina Interna. Facultad de Medicina y Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González de la UANL. Avenida Francisco I. Madero y Gonzalitos s/n, colonia Mitrás Centro, CP 64460, Monterrey, Nuevo León, México. E-mail: mavillar7@hotmail.com
Recibido: noviembre, 2007. Aceptado: enero, 2008

Este artículo debe citarse como: Villarreal AMA, Ortiz LR, Rojas MA, Garza EMA, Suárez GJ. Lectina fijadora de manosa en la respuesta inmunitaria innata. Medicina Universitaria 2008;10(39):102-7.
La versión completa de este artículo también está disponible en: www.revistasmedicasmexicanas.com.mx, www.meduconuanl.com.mx

en suero no inmunitario que neutralizaban al virus de la influenza e inhibían su hemaglutinación. La historia moderna de la lectina fijadora de manosa surgió en 1968,⁷ cuando se reportó un paciente con defecto en la fagocitosis dependiente de suero (síndrome distinguido por baja opsonización de levaduras e infecciones múltiples), pero hasta 1989 se encontró su relación con deficiencia de una proteína funcional. En 1991 se encontró la primera mutación patógena en el gen MBL2.

Modelos animales

Se han desarrollado ratones *knock out* deficientes en MBL-A y sanos en MBL-C con respuesta inmunitaria variable. El MBL-A parece afectar el sistema inmunitario del ratón y es el equivalente al pseudogen MBL-1 del humano; el MBL-C de murino es el equivalente al MBL-2 en el humano.⁸ El modelo *knock out* con ambos genes es más susceptible a la inoculación intravenosa de estafilococo.

Aspectos estructurales

La lectina fijadora de manosa es una proteína sérica dependiente de calcio; ésta es secretada por el hígado, como proteína de fase aguda de la inflamación, y su gen se encuentra en el brazo largo del cromosoma 10.^{1,2,9} La proteína es una molécula multimérica de hasta seis subunidades funcionales, cada una formada por tres cadenas polipeptídicas. Su estructura es análoga con la proteína C1q que forma parte de la primera vía del complemento.

Aspectos funcionales

La lectina fijadora de manosa tiene función importante en la respuesta inmunitaria innata: opsoniza los microorganismos con abundantes cantidades de manosa y N-acetilglucosamina, y activa los macrófagos mediante el receptor C1q.¹⁰ También estimula la activación de la lectina y la tercera vía del sistema del complemento mediante dos proteasas de serina (MASP1 y MASP2)¹¹ (figura 1).

Aspectos genéticos

Las concentraciones bajas y deficientes de lectina fijadora de manosa en suero se deben, principalmente, a tres mutaciones puntuales en la región estructural (codificante) del gen MBL2 que afectan su producción, específicamente en los codones 54, 57 y 52. Éstos se denominan alelos O (en contraste con el alelo normal A) y cuyas denominaciones particulares son B, C y D. También se han reportado

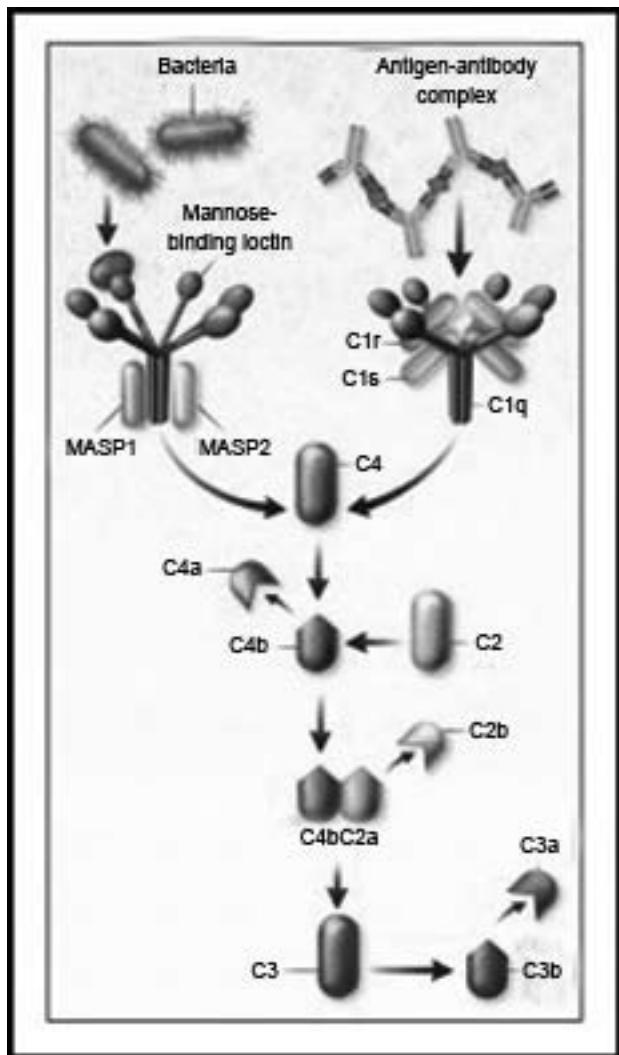


Figura 1. Vía de activación del complemento de lectina. La activación es mediada por lectina fijadora de manosa para reconocer carbohidratos microbianos. Dicha proteína se relaciona con proteasas de serina ligadas a MBL 1 y 2 (MASP 1 y 2). Su activación escinde C2 y C4; posteriormente, C4b y C2b forman C3 convertasa para iniciar la cascada del complemento al romper C3.¹²

tres mutaciones en la porción 5' no traducida del mismo gen (región promotora) cuyo efecto es cuantitativo en la producción y concentración sérica de la proteína.^{3,4} Dichas mutaciones se ubican en la posición -550 y -221, y constituyen los sistemas polimórficos H/L y X/Y, respectivamente. Los desequilibrios producen alteraciones en el ligamiento y originan haplotipos constituidos por alelos en las regiones promotora y estructural del gen MBL2 (HYA, LYA, LXA, HYD, LYC y LYB) que se combinan

con genotipos diferentes: el haplotipo HYA se asocia con elevadas concentraciones de lectina fijadora de manos, el haplotipo LYA con concentraciones moderadas y el haplotipo LXA con producción baja.

Lectina fijadora de manos en diferentes poblaciones

Las frecuencias alélicas y genotípicas se han reportado en diferentes poblaciones.⁵ La distribución de haplotipos en África (Kenya y Mozambique) es de LYA: 50, LYC: 24, LXA: 18 y HYA: 7%; en Europa (Dinamarca), HYA: 30, LXA: 24, LYA: 21, LYB: 12 y HYD: 7%; en Asia (Japón), HYA: 44, LYB: 32, LXA: 11 y LYA: 7%; en Australia, HYA: 75 y LYA: 21%; en Groenlandia, HYA: 81 y LYB: 12%; y en Sudamérica (Argentina) HYA: 48 y LYB: 43%.¹ Algunos estudios sugieren que la deficiencia de lectina fijadora de manos se relaciona con riesgo elevado de infecciones en niños y adultos.⁶ Aún se discute la función patológica de los polimorfismos en pacientes con lupus eritematoso sistémico y artritis reumatoide.

Las variantes alélicas del segmento promotor del gen MBL2 se asocian con bajas concentraciones de lectina fijadora de manos; éstas son importantes en la fagocitosis de microorganismos, cuya función es similar a la del receptor C1q.

Concentración de lectina fijadora de manos ¿más es mejor?

La frecuencia de variantes alélicas en ciertas poblaciones fue, inicialmente, algo enigmático, pues sugirió que la deficiencia funcional de la proteína podía tener ventajas. El fundamento fue que ciertos parásitos intracelulares usan la opsonización y a los receptores de C3 en monocitos y macrófagos para introducirse en el huésped; por lo tanto, cualquier disminución en la activación del complemento disminuye la probabilidad de adquirir los parásitos. Un estudio reportó que los pacientes con leishmaniasis visceral podían tener concentraciones más elevadas de lectina fijadora de manos, en comparación con aquellos no infec-

tados.¹³ Otro estudio en pacientes con lepra lepromatosa, o lepromatosa *borderline*, señaló que su concentración de lectina fijadora de manos era significativamente mayor a la de donadores sanos.

Polimorfismos del gen MBL2 y otras enfermedades

Hace poco se demostró que la deficiencia de lectina fijadora de manos ocasionada por polimorfismos en el gen MBL2, se asocia con mayor riesgo de infecciones en niños y adultos,^{14,15} inmunodeficiencia primaria y secundaria (VIH)¹⁶ y quimioterapia antineoplásica. También se observó su relación en pacientes con aterosclerosis y cardiopatía coronaria,^{17,18} fibrosis quística, enfermedades autoinmunitarias (lupus eritematoso generalizado,^{2,9,14,19,20} artritis reumatoide,^{2,21} arteritis de células gigantes²²) y abortos recurrentes.²³

Alelos del gen MBL2 e infecciones en lupus eritematoso generalizado

Se han descrito diferentes grados de asociación genética en diversos grupos étnicos (ingleses, españoles,^{19,10} griegos, afroamericanos, sudafricanos, argentinos, australianos,^{14,24} Inuits, y chinos [Hong Kong]), en los que se sugiere un efecto menor de las variantes alélicas del gen MBL2, en la predisposición a lupus eritematoso generalizado (cuadro 1). Recientemente se observó que el alelo X del promotor MBL2 está sobreexpresado en pacientes chinos con este tipo de lupus. Hace poco se encontró que los pacientes con lupus eritematoso generalizado, homocigóticos para las variantes alélicas del gen MBL2, son más susceptibles a sufrir trombosis arterial.²⁵

Algunos de los mecanismos a través de los cuales se asocian las variantes de MBL2 y lupus eritematoso generalizado son por depuración disminuida de complejos inmunitarios, lo que ocasiona que se mantenga en la circulación por más tiempo, disminución en la eliminación de células apoptóticas (normalmente se agotan y no producen estimulación antigénica) y alteración en el mecanismo de

Cuadro 1. Frecuencia de haplotipos en poblaciones sanas¹

Haplótipos	China	Inuitis	Caucásicos	África	España
HY	0.523	0.833	0.383	0.111	0.391
LY	0.313	0.138	0.379	0.649	0.424
LX	0.164	0.029	0.238	0.240	0.185

selección negativa de clonas autorreactivas de linfocitos (hacen más larga la respuesta autoinmunitaria).

Los pacientes con lupus eritematoso generalizado, homocigóticos para las variantes alélicas del gen MBL 2, son más susceptibles de contraer infecciones (por ejemplo: neumonía por neumococo). La incidencia anual de infecciones en pacientes homocigóticos que requieren hospitalización suele ser cuatro veces mayor a la de los heterocigóticos con variantes alélicas u homocigóticos con alelo normal.²⁶⁻²⁸

El pronóstico de lupus eritematoso sistémico se asocia, principalmente, con sus síntomas en órganos específicos;^{29,30} sin embargo, se ha demostrado que las infecciones contribuyen considerablemente a su morbilidad y mortalidad.^{2,19,25,27}

Detección de haplotipos en el gen MBL2

Una de las técnicas para detectar alelos y haplotipos es la que se realiza a partir de ADN genómico, según el protocolo del Departamento de Bioquímica de la Facultad de

Medicina, UANL.^{31,32} Se obtiene 200 µL de sangre periférica anticoagulada con EDTA. El aislamiento se realiza por extracción de ADN con fenol-cloroformo y después se almacena a -20°C hasta su análisis en los ensayos de genotipificación.³³

La tipificación de alelos en las regiones promotora y estructural del gen MBL2 se obtiene por reacción en cadena de la polimerasa. Se utilizan sondas específicas del polimorfismo y, posteriormente, se verifican con un corte mediante enzimas de restricción.^{31,32}

Las enzimas utilizadas para detectar los alelos del segmento estructural son: *Ban I* para el B, *Mbo II* para el C y *Mwo I* para el D (figura 1); mientras que para los alelos del segmento promotor: *Btg I* para el X/Y y la *Drd I* para el H/L (figura 2).

Con los resultados obtenidos se definen los siguientes genotipos: el grupo A/A contiene dos alelos silvestres del segmento estructural con alelos de la región promotora de alta expresión (YA/YA); dos alelos silvestres en la región estructural y uno en la región promotora de baja expresión

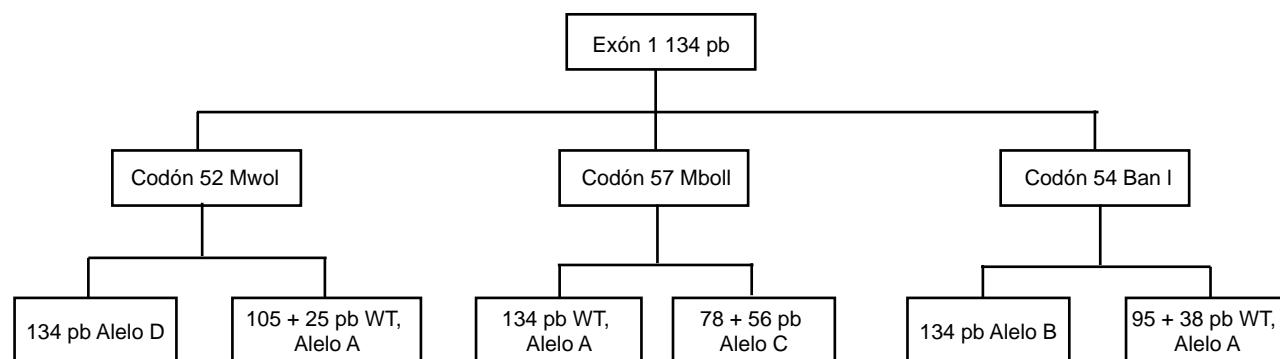


Figura 2. Enzimas utilizadas en la detección de alelos del segmento estructural.³⁴

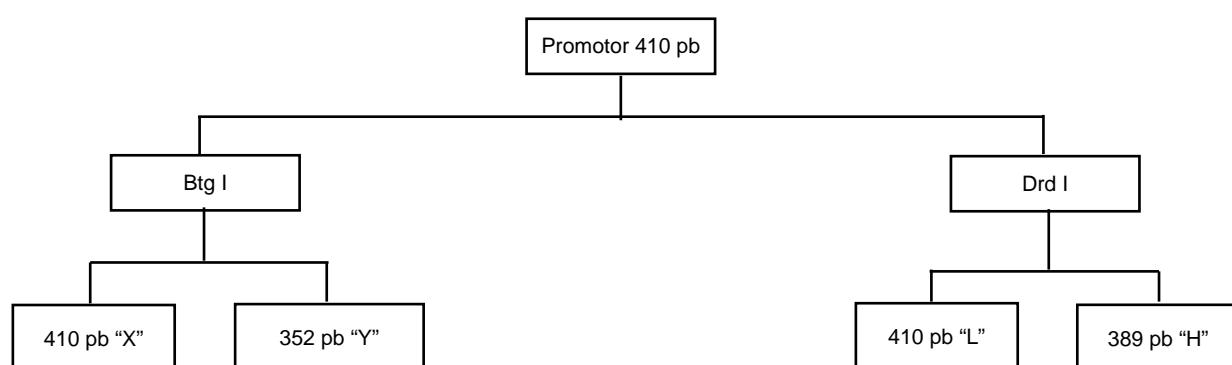


Figura 3. Enzimas utilizadas en la detección de alelos del segmento promotor.³⁴

(XA/YA); dos alelos silvestres en la región estructural con dos alelos en la región promotora de baja expresión (XA/XA); un alelo silvestre y un alelo mutado O para la región estructural (genotipo A/O) combinados con alelos de la región promotora de alta expresión (YA/YO) o con alelos de la región promotora de baja expresión (XA/XO); y finalmente, el genotipo O/O para alelos defectuosos en la región estructural con cualquier alelo para la región promotora (XO/XO, YO/YO, XO/YO).

Terapia de reemplazo

La terapia de reemplazo con lectina fijadora de manosa se intentó por primera vez en 1968, en una bebé con dermatitis grave, diarrea y retraso en el crecimiento, mediante plasma fresco o fresco-congelado.^{7,16} Las infusiones semanales de plasma corrigieron el defecto de opsonización diagnosticado. Desde entonces, la lectina fijadora de manosa derivada de plasma, purificada por afinidad, se administra en forma inocua en muchos pacientes, porque estabiliza sus concentraciones y activa la función opsónica mediada por el complemento.⁸ Un estudio de fase I reportó que la vida media de la proteína varía entre 18 y 115 horas.³⁵ También se encuentra en fase I el desarrollo de lectina fijadora de manosa recombinante, que constituye un área importante para la exploración de su potencial terapéutico. Aún se discute quiénes se beneficiarían con la terapia de reemplazo, y la selección específica de los pacientes.

CONCLUSIONES

La respuesta inmunitaria innata y la adaptativa tienen funciones similares y complementarias entre sus componentes, lo que permite la deficiencia parcial o completa de un solo componente sin alteración en las defensas del huésped. En la última década se observó que el gen MBL2 constituye un sistema genético complejo que despliega polimorfismos en sus elementos estructurales y promotores. Ambas variantes influyen en la concentración de lectina fijadora de manosa funcional en suero. El estatus de la proteína puede tener ventajas o desventajas cuando se considera la gravedad de alguna enfermedad en particular. Los sujetos con concentraciones elevadas de lectina fijadora de manosa modulan mejor la inflamación, quizás mediante un efecto en la estimulación de citocinas; sin embargo, los que tienen deficiencia, parecen estar en riesgo de septicemia y síndrome de respuesta inflamatoria sistémica. Por estas razones,

el análisis de lectina fijadora de manosa debe extenderse más allá de su función en las enfermedades infecciosas e incluirlo en las áreas de alteraciones autoinmunitarias y enfermedades inflamatorias.

Agradecimientos

A los Doctores: Iris Jazmín Colunga Pedraza, Juan Fernando Góngora Rivera, a los QC Nancy Elsa Garza Treviño y Carlos Octavio Cancela Murrieta por su valiosa colaboración.

REFERENCIAS

1. Casanova JL, Abel L. Human mannose-binding lectin in immunity: friend, foe, or both? *J Exp Med* 2004;199:1295-9.
2. Garred P, Larsen F, Madsen HO, Koch C. Mannose-binding lectin deficiency-revisited. *Mol Immunol* 2003;40:73-84.
3. Boldt AB, Petzl Erler ML. A new strategy for mannose-binding lectin gene haplotyping. *Hum Mutat* 2002;19:296-306.
4. Steffensen R, Hoffmann K, Varming K. Rapid genotyping of MBL2 gene mutations using real-time PCR with fluorescent hybridisation probes. *J Immunol Methods* 2003;278:191-9.
5. Dahl M, Tybjaerg Hansen A, Schnohr P, Nordestgaard BG. A population-based study of morbidity and mortality in mannose-binding lectin deficiency. *J Exp Med* 2004;199:1391-9.
6. Garred P, Voss A, Madsen HO, Junker P. Association of mannose-binding lectin gene variation with disease severity and infections in a population-based cohort of systemic lupus erythematosus patients. *Genes Immun* 2001;2:442-50.
7. Miller ME, Seals J, Kaye R, Levitsky LC. A familial plasma associated defect of phagocytosis. *Lancet* 1968;60-63.
8. Dommett RM, Klein N, Turner MW. Mannose binding lectin in innate immunity: past, present and future. *Tissue Antigens* 2006;68:193-209.
9. Garred P, Nielsen MA, Kurtzhals JA, Malhotra R, et al. Mannose-binding lectin is a disease modifier in clinical malaria and may function as opsonin for plasmodium falciparum-infected erythrocytes. *Infect Immun* 2003;71:5245-53.
10. Villarreal J, Crosdale D, Ollier W, Hajer A, et al. Mannose binding lectin and FcgammaRIIa (CD32) polymorphism in spanish systemic lupus erythematosus patients. *Rheumatology (Oxford)* 2001;40:1009-12.
11. Stengaard Pedersen K, Thiel S, Gadjeva M, Moller Kristensen M, et al. Inherited deficiency of mannan-binding lectin-associated serine protease 2. *N Engl J Med* 2003;349:554-60.
12. Medzhitov R, Janeway C. Innate immunity. *N Engl J Med* 2000;343:338-44.
13. Ambrosio AR. De Messias-Reason IJT. *Leishmania (Viania braziliensis)*: Interaction of mannose-binding lectin with surface glycoconjugates and complement activation. An antibody-independent defence mechanism. *Parasite Immunol* 2005;27:333-40.
14. Juliger S, Kremsner PG, Alpers MP, Reeder JC, Kun JF. Restricted polymorphisms of the mannose-binding lectin gene in a population of Papua New Guinea. *Mutat Res* 2002;505:87-91.

15. Larsen F, Madsen HO, Sim RB, Koch C, Garred P. Disease-associated mutations in human mannose-binding lectin compromise oligomerization and activity of the final protein. *J Biol Chem* 2004;279:21302-11.
16. Ying H, Ji X, Hart ML, Gupta K, Saifuddin M, et al. Interaction of mannose-binding lectin with HIV type 1 is sufficient for virus opsonization but not neutralization. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2004;20:327-35.
17. Best LG, Davidson M, North KE, MacCluer JW, et al. Prospective analysis of mannose-binding lectin genotypes and coronary artery disease in american indians: the strong heart study. *Circulation* 2004;10:471-5.
18. Rugonfalvi Kiss S, Endresz V, Madsen HO, Burian K, et al. Association of *Chlamydia pneumoniae* with coronary artery disease and its progression is dependent on the modifying effect of mannose-binding lectin. *Circulation* 2002;106:1071-6.
19. García Laorden MI, Rúa Figueroa I, Pérez Aciego P, Rodríguez Pérez JC, et al. Mannose binding lectin polymorphisms as a disease-modulating factor in women with systemic lupus erythematosus from canary islands, spain. *J Rheumatol* 2003;30:740-6.
20. Turner MW. Mannose-binding lectin (MBL) in health and disease. *Immunobiology* 1998;199:327-39.
21. Graudal NA, Garred P, Madsen HO, Svejgaard A, et al. Variant mannose-binding lectin genotypes and outcome in early versus late rheumatoid arthritis: comment on the article by ip et al. *Arthritis Rheum* 2002;46:555-6.
22. Jacobsen S, Baslund B, Madsen HO, Tvede N, et al. Mannose-binding lectin variant alleles and HLA-DR4 alleles are associated with giant cell arteritis. *J Rheumatol* 2002;29:2148-53.
23. Kruse C, Rosgaard A, Steffensen R, Varming K, et al. Low serum level of mannan-binding lectin is a determinant for pregnancy outcome in women with recurrent spontaneous abortion. *Am J Obstet Gynecol* 2002;187:1313-20.
24. Minchinton RM, Dean MM, Clark TR, Heatley S, Mullighan CG. Analysis of the relationship between mannose-binding lectin (MBL) genotype, MBL levels and function in an australian blood donor population. *Scand J Immunol* 2002;56:630-41.
25. Ohlenschlaeger T, Garred P, Madsen HO, Jacobsen S. Mannose-binding lectin variant alleles and the risk of arterial thrombosis in systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2004;35:260-7.
26. Flores Alvarado D, Esquivel Valerio J, Galarza Delgado D, Garza Elizondo MA. Causas de muerte en lupus eritematoso sistémico. *Med Universitaria* 1998;1:1-6.
27. Juárez M, Misischia R, Alarcón GS. Infections in systemic connective tissue diseases: systemic lupus erythematosus, scleroderma, and polymyositis/dermatomyositis. *Rheum Dis Clin North Am* 2003;29:163-84.
28. Kang I, Park SH. Infectious complications in SLE after immunosuppressive therapies. *Curr Opin Rheumatol* 2003;15:528-34.
29. Guzmán J, Cardiel MH, Arce Salinas A, Sánchez Guerrero J, Alarcón Segovia D. Measurement of disease activity in systemic lupus erythematosus. prospective validation of 3 clinical indices. *J Rheumatol* 1992;19:1551-8.
30. Hochberg MC. Updating the american college of rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997;40:1725.
31. Martínez de Villarreal LE, Delgado Enciso I, Valdez Leal R, Ortiz López R, et al. Folate levels and N(5),N(10)-methylene-tetrahydrofolate reductase genotype (MTHFR) in mothers of offspring with neural tube defects: a case-control study. *Arch Med Res* 2001;32:277-82.
32. Perales Dávila J, Martínez de Villarreal LE, Triana Saldaña H, Saldívar Rodríguez D, et al. [Folic acid levels, homocysteine and polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase enzyme (MTHFR) in patients with pre-eclampsia and eclampsia]. *Ginecol Obstet Mex* 2001;69:6-11.
33. Delgado Enciso I, Martínez Garza SG, Rojas Martínez A, Ortiz-López R, et al. [677T mutation of the MTHFR gene in adenomas and colorectal cancer in a population sample from the northeastern mexico. preliminary results]. *Rev Gastroenterol Mex* 2001;66:32-37.
34. Tin SK, Lee LY, Thumboo J, Koh DR, Fong KY. PCR-RFLP genotyping for exon 1 and promoter region mutations of the human mannose binding lectin (MBL-2) gene. *J Immunol Methods* 2005;303:148-51.
35. Valdimarsson H, Vikingsdottir T, Bang P, Saevarsottir S, et al. Human plasma-derived mannose-binding lectin: a phase I safety and pharmacokinetic study. *Scand J Immunol* 2004;59:97-102.