Biomédica
Vol 13, No.1-1993

ACTUALIZACIONES

ASPECTOS GENETICOS DEL PROCESAMIENTO DE ANTIGENOS INTRACELULARES

*Beatriz Martínez *, Luis Caraballo **

INTRODUCCION

La activación de los linfocitos T (LT), un aspecto fundamental en la generación de la respuesta inmune (RI), se produce mediante el contacto de sus receptores antigénicos (TCR) con un complejo formado por un péptido derivado del antígeno y una molécula del complejo mayor de Histocompatibilidad (MHC, HLA en el humano) sobre la superficie de una célula presentadora de antígenos (APC). El origen del péptido puede ser exógeno o extracelular, como sucede con la mayoría de los antígenos presentados por las moléculas MHC clase II, o endógeno (intracelular), como es el caso de las proteínas virales, sintetizadas por la célula y presentadas por las moléculas MHC Clase.

En el desarrollo del reconocimiento por parte del LT participan diversos sistemas genéticos, actuando, entre otros, sobre el TCR, sobre el MHC o sobre el proceso de formación del péptido antigénico. La calidad e intensidad de la respuesta inmune estará determinada (al menos desde el punto de vista genético) por la interacción de estos sistemas. El control de la expresión del TCR y las moléculas del MHC ha sido estudiado intensamente en las últimas dos décadas. De este proceso hoy se conoce el papel relevante de los genes HLA A, B, C, DR, DQ y DP en el control de la respuesta inmune y en la patogénesis de varias enfermedades.

Recientemente se ha despertado gran interés por el análisis de los factores que intervienen en el procesamiento antigénico. Como resultado se ha observado la participación de varios genes, ubicados también en el MHC y cuyo polimorfismo pudiera estar relacionado con el tipo de péptido presentado por estas moléculas. Ellos posiblemente jueguen un papel importante en el desarrollo final de la RI. La presente revisión hace énfasis en aquellos mecanismos involucrados en la presentación de antígenos intracelulares por las moléculas MHC clase I, durante la generación de la RI citolítica, ya que se espera que en los próximos años esta información ayudará a esclarecer la participación del MHC en la etiología de ciertas enfermedades de origen inmunológico.

Ensamble de las moléculas MHC clase I

Dado que un resultado importante del procesamiento de los antígenos es la presentación antigénica, sus modificaciones por influencias genéticas en ocasiones se manifiestan en la conformación de la molécula clase I. En ese sentido, conviene describir algunos aspectos de su formación en condiciones normales y de manipulación experimental. Las moléculas MHC Clase I (conocidas corrientemente como antígenos de histocompatibilidad de los *loci* A, B y C) son glicoproteínas de membrana compuestas por dos polipéptidos [una cadena pesada (alfa) y la B-2 microglobulina (B-2m)] y un péptido endógeno ubicado en el surco de presentación antigénica.

En condiciones normales, luego que el RNA mensajero lleva la información del polipéptido de la cadena pesada a los ribosomas libres, se

* Laboratorio de Inmunología, Universidad de Cartagena.

inicia la síntesis con un segmento de 20 aminoácidos correspondiente a la secuencia señal del extremo amino terminal. Simultáneamente, mediante un mecanismo de cotraducción, esta secuencia es reconocida por una proteína denominada partícula de reconocimiento de la señal (SRP), la que a su vez se une a un receptor específico ubicado en la membrana del retículo endoplásmico (RE), permitiendo su paso al formar una especie de túnel en ella. Luego se realiza el proceso de glicosilación del polipéptido, su ensamble y plegamiento. La B2-m, que no tiene una región transmembranosa, queda libre en el RE después que se transporta a través del túnel (1).

Varios estudios realizados con líneas celulares mutantes humanas y murinas (tabla 1) han revelado que la unión de la cadena pesada con la B-2m y el péptido antigénico es necesaria para la conformación de la molécula. Experimentos con los lisados de una de dichas líneas, denominada 721. 134, y anticuerpos monoclonales de tipo conformacional, demostraron complejos de cadena pesada y B-2m en poca cantidad en la superficie celular, los cuales se incrementaban con la adición de B-2m en el medio, indicando que la cadena alfa estaba presente en la membrana, pero no lo suficientemente estructurada para ser detectada por el monoclonal. Además, se pudo detectar que la presencia del péptido también es requerida para la estabilización de este complejo molecular (2,3).

Tabla 1

FENOTIPO DE ALGUNAS LINEAS CELULARES MUTANTES

(RMA-S; LCL 721.174; LCL 721.134)

MHCclase I con ensamble defectuoso en el RE
Baja expresión de MHC clase I en la membrana celular
Incapacidad para transportar péptidos hacia el RE
Aumento de MHC clase I con péptidos exógenos
Defecto recesivo

Trabajos adicionales demuestran que la asociación de la cadena pesada con la B-2m puede hacerse sin la presencia del péptido, pero a una temperatura entre 19 y 33°C, lo que sustenta el hecho de que se puedan ensamblar y expresar en una pequeña proporción moléculas MHC "vacías", aunque tales moléculas son inestables a temperaturas corporales y por consiguiente susceptibles a la degradación (4,5,6).

Por otro lado, y como se describió previamente, la unión del péptido antigénico al complejo cadena alfa-B2m permite un mejor ensamble de la molécula MHC y en consecuencia su apropiada expresión en la superficie celular. Esto se confirma con los trabajos realizados en líneas celulares RMA-S, los cuales señalan que además de la presencia de B-2m, la adición del péptido antigénico en el medio genera la expresión en la superficie de moléculas MHC I estables (7). Lo anterior ha sido reproducido también en líneas celulares humanas (8,9).

Un requisito importante para el reconocimiento de las células blanco por los linfocitos T lcitotóxicos (CTL) es que haya moléculas MHC intactas en la membrana celular presentando los péptidos antigénicos en el surco de unión (desetope). Este último es ocupado en forma estable por péptidos endógenos; y en caso de no existir éstos, el sitio permanece en una especie de inestabilidad que facilita la disociación de sus cadenas. En consecuencia, es posible que la reasociación con la B-2m a nivel de la membrana esté influyendo de manera indirecta en la conformación del desetope (6,10).

La participación del péptido endógeno en la conformación de la molécula clase I se infiere también al estudiar su estructura mediante cristalografía de rayos X. En este sentido, la estructura cristalizada de las moléculas HLA-A2 y Aw68 revelaron que en el surco de unión del antígeno (cuyos lados son las alfa hélices y el piso los filamentos beta) aparecía una densidad de electrones extra que correspondía a un péptido endógeno de aproximadamente 8 a 9 aminoácidos de longitud (11). Investigaciones

con la molécula HLA-B27 han identificado igualmente un péptido en el surco (12). Estos hallazgos sustentan entonces la hipótesis derivada de los ensayos celulares en donde se consideró que el péptido posiblemente era unido durante la biosíntesis y ensamble de la cadena pesada en el RE, confiriéndole estabilidad (8,13). El análisis cristalográfico mostró además que la B-2m posee sitios de contacto con los dominios alfa-1 y alfa-2 de la cadena pesada, los cuales forman el desetope.

Por estudios *in vitro* se conoce que las MHC clase I tienen sitios de unión (surcos) «vacíos» capaces de asociarse con los péptidos exógenos en la superficie celular. Para demostrar esto se agregaba gran cantidad de péptido al medio de cultivo, junto con B-2m libre. La reasociación de esta última en la superficie puede también explicar el intercambio de péptidos endógenos y exógenos (5,10). Sin embargo, bajo condiciones fisiológicas las uniones de péptidos a moléculas MHC "vacías" son muy limitadas con respecto a las que se dan durante su ensamble, ya que los niveles de B-2m en los fluidos corporales son muy bajos, de manera que este fenómeno sólo se produciría si las células estuvieran expuestas a una descarga elevada de péptidos antigénicos, capaz de compensar la escasez de B-2m.

Lo anterior sugiere que el ensamble correcto de las moléculas MHC clase I requiere, además de la interacción estable con la B-2m, la producción de péptidos apropiados y su transporte, del citosol al RE. Para evaluar este proceso es necesario revisar el concepto y los mecanismos de procesamiento antigénico.

Procesamiento de antígenos citoplasmáticos

La conversión de un antígeno de su forma nativa a péptidos antigénicos es lo que se conoce como procesamiento antigénico, el cual se realiza en las APC. Las diferencias en la presentación antigénica (endocítica o citosólica) provienen de las uniones de los péptidos a las moléculas MHC en distintos sitios intracelulares y no a especificidades del péptido, ya que algunos de ellos pueden ser presentados por ambas moléculas (14,15). Existen múltiples eventos intracelulares por los cuales los péptidos se producen en el citoplasma y se unen a las moléculas MHC.

Las células que son infectadas por virus actúan como APC y pueden expresar el antígeno en el citoplasma (en este caso las proteínas virales) para ser eficientemente presentado en forma de péptido a los CTL, siendo al parecer excluidos de la vía de procesamiento que utiliza los lisosomas y endosomas. Estos péptidos son numerosos en el citoplasma, disponibles a ser presentados por las moléculas clase I que se han localizado en el RE después de su síntesis. Como la mayoría de las células expresan moléculas MHC clase I, este mecanismo es generalizado. Se conocen dos formas principales de transporte de los péptidos citosólicos al RE (Figura 1). Sin embargo, los péptidos también pueden expresarse en las moléculas clase I de la membrana celular, habiendo pasado por el RE, sin que exista una secuencia señal para su traslado. Esto sugiere que hay otros mecanismos involucrados en su transporte hacia el RE.

La vía de procesamiento de antígenos en el citoplasma ha podido analizarse mediante el uso de inhibidores de síntesis proteica como la brefeldina A (BFA), que actúa inhibiendo el transporte de moléculas del RE al aparato de Golgi (16,17). Además, la transfección de células con el adenovirus E19, cuyo producto se une a las moléculas clase I recién formadas y las retiene en el RE, también bloquea la presentación antigénica por MHC clase I, indicando que éstas se requieren para el transporte de los péptidos hacia la superficie celular (17,18). Se han descrito varias vías de degradación para las proteínas sintetizadas en el citoplasma, como son, la degradación no lisosómica y lisosómica; los mecanismos de autofagia; la degradación en el RE y la degradación por vía

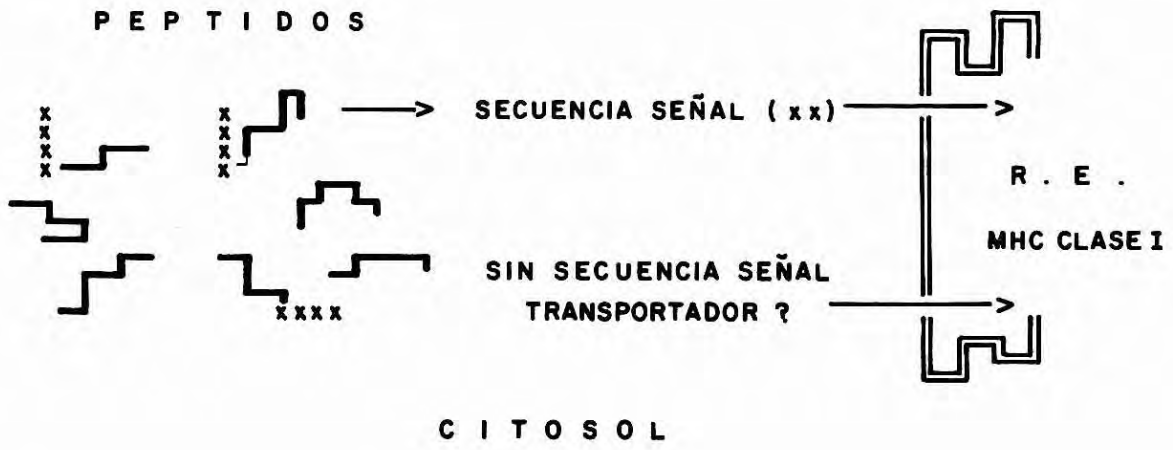

Figura 1. Dos mecanismos generales de transporte de péptidos al RE. Se considera que aquellos que carecen de secuencia señal serán transportados por moléculas especializadas, cuyos genes se encuentran codificados en la región MHC Clase II.

endocítica (19,20,21). De éstas, la degradación no lisosómica es la más importante durante el procesamiento de los antígenos intracelulares. No obstante, cualquiera que sea el origen de los péptidos, si se producen en el citosol deben ser transportados de alguna manera al RE para su unión con la molécula MHC clase I. A continuación se describen los aspectos genéticos que podrían influir en el caso de aquellos péptidos, que sin tener secuencia señal (Figura 1), son presentados eficientemente a los CTL.

Algunos genes MHC controlan el transporte de los péptidos citosólicos hacia el RE

Recientemente se ha acumulado una importante evidencia experimental sobre la existencia de un sistema de transporte de péptidos durante el procesamiento antigénico. La posibilidad de que existieran genes ligados al MHC afectando este transporte fue detectada inicialmente por Livinston y col., quienes identificaron en una cepa de ratas congénicas un gen que modificaba la función de una molécula MHC clase I (RTA. I), alterando su reconocimiento por células T aloreactivas y bloqueando su capacidad de presentar antígenos de histocompatibilidad menores a los CTL. La ubicación de este gen fue la región clase II del MHC de la rata y se le denominó "cim" (22).

En ratones y humanos el fenómeno se descubrió mediante el análisis de líneas celulares que tenían defectos en la presentación de antígenos exógenos a los CTL, las cuales se inducían tratándolas con sulfonato etil metano o con radiaciones sucesivas, y se seleccionaban con anticuerpos anti-MHC (7,23), tabla 1. Dos de los genes relacionados con estos defectos se localizaron también en la región clase II del ratón y del humano, y su denominación se hizo inicialmente por cada investigador. Recientemente una reunión del comité de la OMS para la nomenclatura del HLA decidió modificar los nombres previos, asignando como TAP1 y TAP2 (*Transporter of Antigen Peptides*) a los más conocidos (17). En la tabla 2 se muestran los distintos nombres que han recibido estos genes. Seguidamente se describen varios experimentos que han llevado a la identificación física y funcional de este segmento genético de la región MHC clase II.

La transfección con el cDNA del gen Y3 (ver tabla 2) en células mutantes humanas, mostró que en algunas se producía un aumento en los niveles de moléculas MHC clase I en la membrana y además se corregía la capacidad de presentar péptidos a los CTL; en cambio en otras la transfección no corregía el problema, sugiriendo que había más genes implicados y que la falla en la corrección del defecto se debía a una deleción homocigota, que además involucraba otros genes. Esto último sugirió la existencia del gen Y1 (2,22).

TABLA 2

NOMENCLATURA DE GENES TRANSPORTADORES

ESPECIES	TAP1	TAP2
Ratón	HAM-1	HAM-2
Rata	mtp-1	mtp-2
Humano	Y3, PSF1, RING4	Y1, PSF2, RING11

Otros trabajos en líneas celulares humanas esclarecieron que las deleciones en la región clase II comprometían genes que presentaban homología con miembros de la superfamilia de genes transportadores ABC (cassette de unión al ATP). Por ejemplo, Powis y col., describieron la existencia de dos de estos genes, los que denominaron RING4 y RING11 (actualmente TAP1 y TAP2) y determinaron su localización entre los loci HLA, DNA y DOB, ubicando el gen RING11 a 7 Kd telomérico del RING4 (Figura 2). Sus productos se establecen en la membrana del RE, con sus dominios de unión al ATP dentro del citoplasma. Igualmente, estos autores descubrieron que el RING11 presenta polimorfismo (2 alelos), analizando la distribución de las dos variantes en la población caucásica encontraron que el RING11A tiene una frecuencia de 79% y el RING11B de 21% (24).

Kelly y col., demostraron que los productos proteicos de los genes RING4 y RING11 forman un complejo estable que transporta los péptidos del citosol al RE (25). Los ensayos de inmunoprecipitación con antisueros anti RING4 revelaron la expresión de estos genes. El antisuero iba dirigido contra una porción de 15 aminoácidos del extremo carboxiterminal de la proteína codificada por dicho gen. El análisis electroforético indicó que habían 2 bandas que coprecipitaban y correspondían a las proteínas del RING4 y RING11; la última presentaba dos alelos, denominados RING11A (la más corta) y RING11B (la más larga). Estos hallazgos fueron confirmados con el análisis de la secuencia de DNA genómico (25,26). Las secuencias de los cDNA aislados de las líneas celulares reflejaron diferencias en la región 3'. Hasta el momento no se sabe si estas dos proteínas son funcionalmente polimórficas con respecto al transporte de péptidos.

Attaya y col., continuando esta serie de trabajos sobre procesamiento antigénico, transfectaron el gen Ham2 en líneas celulares mutantes de ratón, observando la corrección de la mutación (26). Con este estudio confirman además que en esos genes existe un polimorfismo parecido al de los MHC clase I y II. Por otro lado, Powis y col., trabajando con líneas celulares de ratas, mostraron que también existía un polimorfismo a nivel de estos genes transportadores. En la región clase II se había descrito un segmento llamado "cim" que comprendía a los genes mtp1 y mtp2. El polimorfismo del gen mtp2 genera el fenómeno cim que se refleja en la modificación de la antigenicidad de la molécula clase I RTA.1. La transfección de estos genes en líneas celulares de ratón y humanas permitió la corrección de la alteración en la expresión de la molécula clase I ya mencionado (27).

La presencia de polimorfismo en los genes transportadores y su influencia sobre la respuesta inmune había sido sugerida por estudios previos de Pazmany y col., (28) con la molécula HLA-B27. Ellos demostraron que existe un fenotipo "no presentador" de esta molécula a ciertos epítopes de un péptido de la influenza, a pesar de expresarse buena cantidad de moléculas en la superficie celular. Este carácter no se debía a una mutación en la molécula HLA-B27 sino que estaba ligado a los genes ubicados en la región clase II que codificaban las proteínas transportadoras.

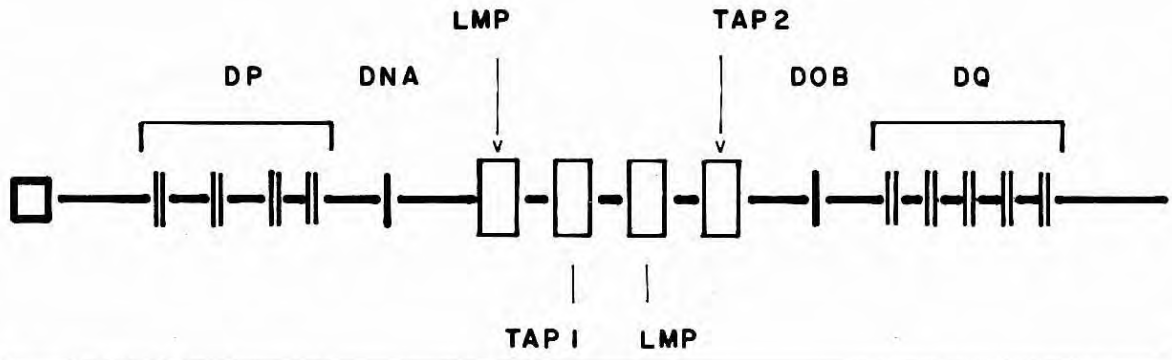

Figura 2. Mapa de la subregión D del HLA, señalando la posible ubicación de los genes TAP (los cuales controlan la síntesis de proteínas transportadoras) y los LMP, que se supone controlan la síntesis de enzimas degradadoras de proteínas en el citosol. Nótese la localización de estos genes entre los HLA-DP y DQ.

El descubrimiento del polimorfismo de estos genes transportadores abrió la posibilidad de explicar las asociaciones del MHC con enfermedades autoinmunes e infecciosas, y sus influencias en el repertorio de TCRs, al influir en el tipo de péptido presentado al LT. En efecto, un estudio realizado en ratones con diabetes mellitus insulinodependiente (IDDM) sugiere que un defecto en los genes transportadores, al impedir la expresión de las moléculas clase I, obstaculiza el desarrollo de tolerancia, lo cual puede inducir esta enfermedad autoinmune (29).

En esta línea de trabajo, recientemente Colonna y col., investigando el polimorfismo en la conformación de una sola cadena (SSCIP) y secuenciamiento de DNA descubrieron nuevos alelos para el PSF1 y el PSF2 (TAP1 y TAP2); encontrando que las variaciones en la secuencia de aminoácidos son muy reducidas y están localizadas principalmente en el dominio hidrofílico de ambas proteínas. Estas variaciones fueron estudiadas en pacientes con IDDM, enfermedad celíaca y espondilitis anquilosante. En el caso de la IDDM se observó una asociación negativa con el alelo PSF2B, sugiriendo que podría haber ligamiento de este gen con los de la región HLA-DR y DQ implicados en esta enfermedad (30).

Los genes TAP1 y TAP2 presentan homología con otros miembros de transportadores

Los organismos procariotes, poseen sistemas de transporte activo periplásmicos (permeasas) que se encargan de trasladar muchos substratos (carbohidratos, aminoácidos, iones, etc). Su estructura está conformada por una proteína de unión al substrato localizado en el periplasma, responsable de la especificidad, y un complejo de unión a la membrana que consiste en dos proteínas ("spanning") de membrana: una hidrofóbica y una hidrofílica. Este es el componente más conservado de la molécula. Varias regiones de la secuencia son homólogas a la secuencia consenso de unión al ATP encontrados en las subunidades alfa y beta de la ATPasas, miosina y adenilciclasa. En estos componentes conservados se une el ATP, que luego de una hidrólisis interviene en el transporte.

En los organismos eucariotes, los miembros de la familia de transportadores están representados, entre otros, por las p-glicoproteínas codificadas por el gen de resistencia múltiple a drogas (mdr), el producto del gen de la fibrosis quística (CFTR), la proteína STE6 de la levadura que secreta el factor "a-matting", etc., los cuales también tie-

nen los componentes conservados ya mencionados. Estos se organizan en la célula de igual forma como en los procariotes, utilizando su dominio hidrofóbico para fijarse a la membrana.

Estudios realizados en células RMA-S (31), revelaron que los productos de los genes transportadores HAM1 y HAM2, ubicados entre el locus H2K y el IA alfa, presentaban homología con miembros de superfamilia de transportadores (p-glycoproteínas de los mdr); encontrándose residuos de aminoácidos homólogos a nivel de la secuencia consenso de unión al ATP (71-83% de homología en la secuencia). Aunque las proteínas de la superfamilia de transportadores ABC funcionan como unidades que tienen dos dominios transmembranosos y dos dominios citoplásmicos (o de unión al ATP) conformando un solo polipéptido (32), en este estudio se encontró que HAM1 contiene solamente dos dominios, al igual que en el sistema de transporte de la *E. coli* (33). Sin embargo, estos últimos tienen la característica de funcionar como homodímeros y en el caso del HAM1, su producto se une al de otro gen (HAM2) para funcionar como heterodímeros.

Los ensayos hechos por Higgins y col., (34) con líneas celulares humanas demostraron también homología entre los genes transportadores y los miembros de la superfamilia de transportadores ABC; resultados que se confirmaron con las investigaciones de Powis y col., (24) quienes describieron homología con el gen transportador RING11, el cual presenta un dominio hidrofóbico y un dominio de unión al ATP. Además, se confirmó en este estudio la homología entre genes de una misma familia, como sucede con el RING4 y el RING11. Cuando se comparan las secuencias de estos, los dominios de unión al ATP son idénticos en un 60% y sus dominios hidrofóbicos en un 30%, lo que permitió sugerir que ellos actuaban como dímeros. Las homologías descritas reafirman el papel funcional de los genes TAP en el procesamiento antigénico; específicamente durante el transporte de péptidos del citosol al RE.

Algunos genes MHC controlan la degradación de los péptidos en el citosol.

Para que los péptidos sean transportados al RE deben originarse a partir de la degradación de las proteínas antigénicas. Los mecanismos por los cuales se produce esta degradación en el citosol no son del todo conocidos. En las células hay varios sistemas proteolíticos que remueven proteínas anormales o aberrantes, regulando a la vez el metabolismo celular. La degradación de las proteínas citosólicas y nucleares en las células eucariotas compromete un sistema proteolítico dependiente de ATP y que no requiere de los lisosomas (35). Entre los componentes de este sistema se encuentran, como iniciador de la reacción, un polipéptido de 76 aa denominado ubiquitina (que se conjuga con la proteína a degradar) y además, los sistemas de proteasas. Estos últimos, son un complejo de proteínas multienzimático de 1300 Kd (26S) y con una alta actividad proteolítica. Se consideran responsables de la degradación de proteínas, tanto en la vía dependiente de la ubiquitina como en la hidrólisis de moléculas libres de ella (35). Otra molécula que hace parte del sistema de degradación no lisosómica es el proteasoma, una proteína multicatalítica de aproximadamente 650 Kd (20S), cuya relación estructural con la proteasa 26S no ha sido uniformemente aceptada (36,37).

Hay evidencias que sustentan que a partir de la degración proteolítica desarrollada en el citosol se generan los péptidos que son presentados por la MHC clase I (38,39). Inicialmente Monaco y col., descubrieron una partícula que precipitada con los aloantisueros anti-MHC, la cual fue denominada LMP (polipéptido de bajo peso molecular). En ese momento fueron definidos como antígenos que se asocian de manera no covalente para formar un complejo proteico de aproximadamente 580 kd (38). Los experimentos en SDS-PAGE demostraron que el LMP está compuesto por 16 subunidades no idénticas con un rango de PM entre 20 y 30 Kd no son glicosilados y se consideraron serológica y bioquímicamente distintos a los antígenos HLA.

Los LMP y los proteasomas no son estructuralmente idénticos ya que se pueden distinguir con antisueros anti-LMP; bioquímicamente son bastante similares pues poseen varias subunidades en común. Esto último se detectó en experimentos con antisueros antiproteasomas (17). La similaridad entre estos dos complejos fue lo que permitió conocer la función de los LMP. Recientemente se identificaron, en la región clase II de ratones y humanos, genes que codifican ciertas subunidades del LMP. Estos genes se denominaron inicialmente RING10 y RING12 (39,40), Figura 2.

Los experimentos de mapeo en ratones (41,42), revelaron dos subunidades genéticamente ligadas a la región que codifica las moléculas clase II; el Imp-2 se encontró fuertemente asociado al gen transportador HAM1, aproximadamente a 10 kb de este gen. El análisis de secuencia reveló que el LMP está formado por múltiples sitios catalíticos y en su segmento aminoterminal posee una secuencia similar a la de un proteosoma de ratón. Tal vez considerando las observaciones descritas, Parham propuso que los LMP podían considerarse una forma modificada de proteasomas (17,35). De hecho, la similaridad en las secuencias de todos los proteasomas eucarióticos y procarióticos lo califica como un miembro de esta familia de complejos proteolíticos.

Sin embargo, las evidencias que sugieren la participación del LMP en la presentación antigénica son todavía indirectas:

- Los genes LMP se encuentran ubicados en la misma región donde se ubican otros genes que intervienen en la vía de presentación antigénica.

- Las dos subunidades LMP mapeadas en dicha región muestran polimorfismo alélico en electroforesis de dos dimensiones.

- El tratamiento con gamma interferon aumenta la expresión de los genes LMP codificados por el MHC (43).

- Los LMP tienen alta actividad proteolítica.

- Los antisueros anti-LMP y anti-proteasoma precipitan polipéptidos similares (35,44).

Lo anterior indica que hace falta la evidencia directa que consistiría en demostrar si estas subunidades o el sistema de conjugación con la ubiquitina son las responsables de la formación del péptido antigénico apropiado para la unión a la molécula MHC (por ejemplo, péptidos de 8-9 aminoácidos o con residuos carboxi-terminales hidrofóbicos). Además no está claro donde se ubica, a nivel celular, la subunidad del proteasoma codificada en el MHC. Tampoco se conoce el número exacto de subunidades que están codificadas en la región clase II (42,45). Sería importante determinar además, las influencias genéticas que puedan existir sobre los inhibidores endógenos de los proteasomas (46).

Un esquema de la vía de presentación de antígenos citosólicos

El siguiente esquema se presenta como un resumen de los pasos del procesamiento antigénico posiblemente controlados genéticamente :

1. La ubiquitina (Ub) es transportada en el citoplasma por un «carrier» denominado E2 para su unión con la proteína, lo cual se cataliza por la ligasa E3, formándose el conjugado Ub-proteína. En este nivel posiblemente actúen genes que codifiquen dominios amino-terminales similares a los de la ubiquitina, por ejemplo, el gen BAT3 (47), Figura 3.

2. El conjugado Ub-proteína se expone a la acción proteolítica de los sistemas:

   a. Proteasa 26S y/o
   b. Proteasoma 20S (LMP?)

   Ambas reacciones degradativas utilizan el ATP como fuente de energía. En este paso podrían participar los productos de los genes LMP2 y LMP7. De no ser transportados, los péptidos resultantes quedan expuestos a las exopeptidasas, las cuales los hidrolizarán hasta aminoácidos (Figura 4).

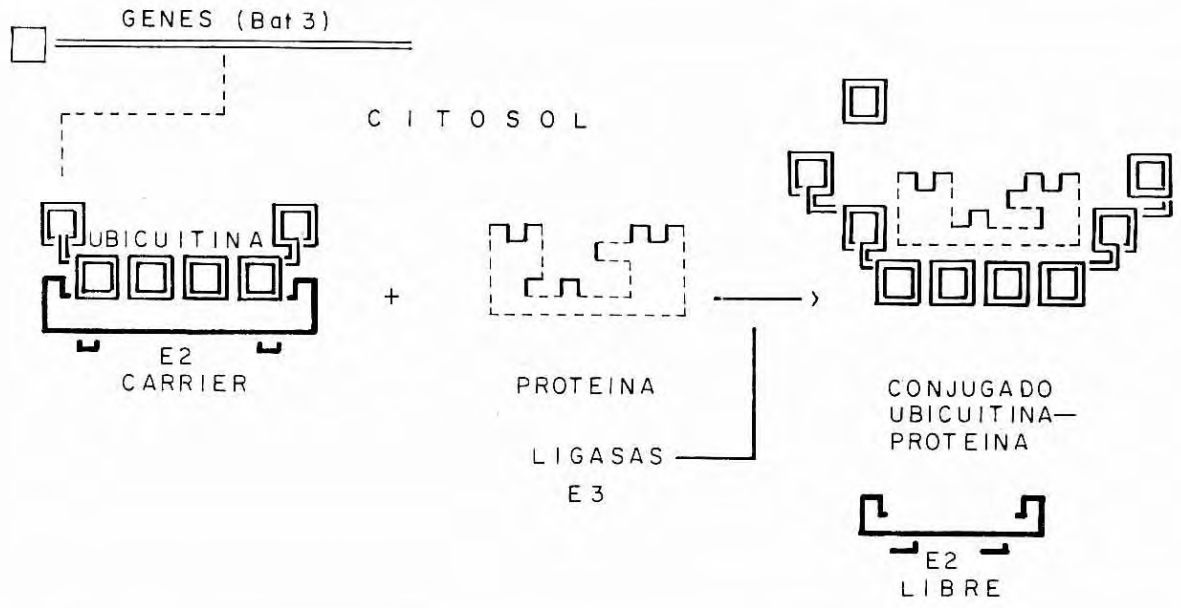

Figura 3. Posible efecto de genes relacionados con el HLA (BAT3) sobre el papel de la ubiquitina en el procesamiento antigénico.

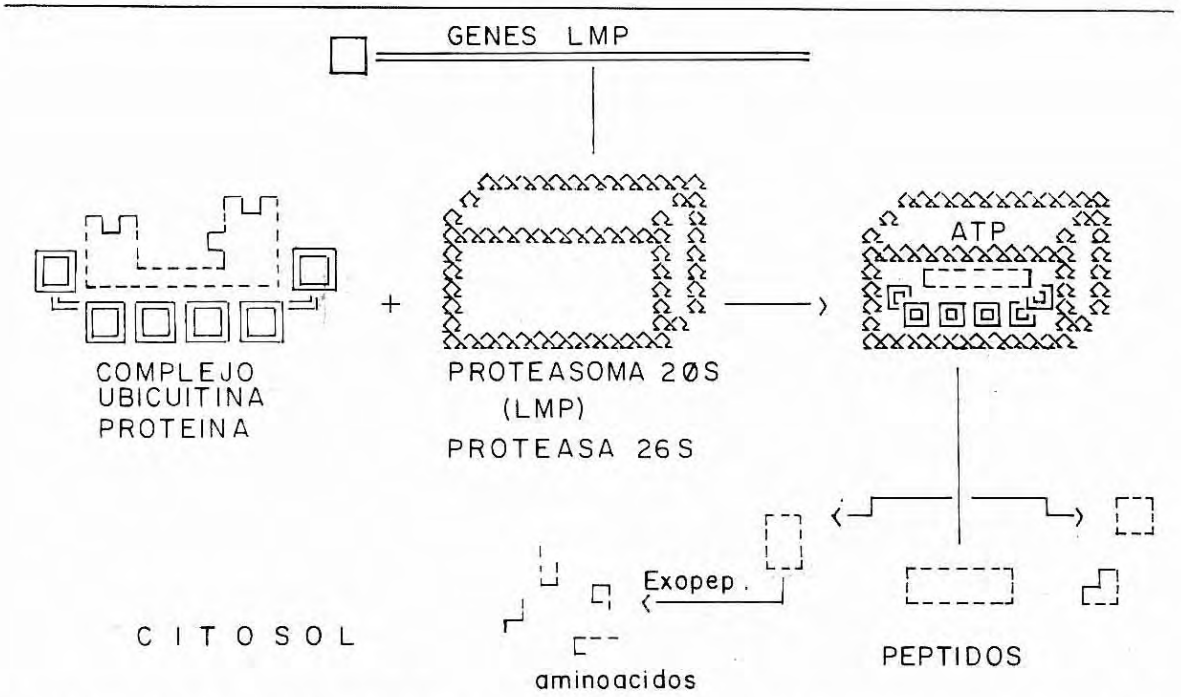

Figura 4. Acción de los complejos enzimáticos multicatalíticos 20S y 26S en la degradación de proteínas en el citosol. En este paso del procesamiento antigénico podrían actuar los genes LMP.

3. Los péptidos son transportados hacia el RE mediante su unión con proteínas transportadoras de la familia ABC. Se supone que los genes que regulan este transporte son los TAP1 y TAP2 (Figura 5). En el RE los péptidos se asocian con las moléculas MHC clase I. El ensamble de estas últimas compromete diferentes proteínas, entre las cuales se encuentra la IP90 (48).

4. El complejo MHC-péptido se traslada, pasando por el Aparato reticular de Golgi, a la membrana celular, donde se presenta para su reconocimiento. El tipo de restricción MHC para la presentación está influída por los genes HLA-A, B y C.

5. Los CTL son estimulados, de manera restringida por el MHC, para iniciar una respuesta inmune citolítica, en concordancia con las características idiotípicas de su TCR. También el TCR recibe influencias genéticas, por los genes que codifican sus cadenas alfa y beta.

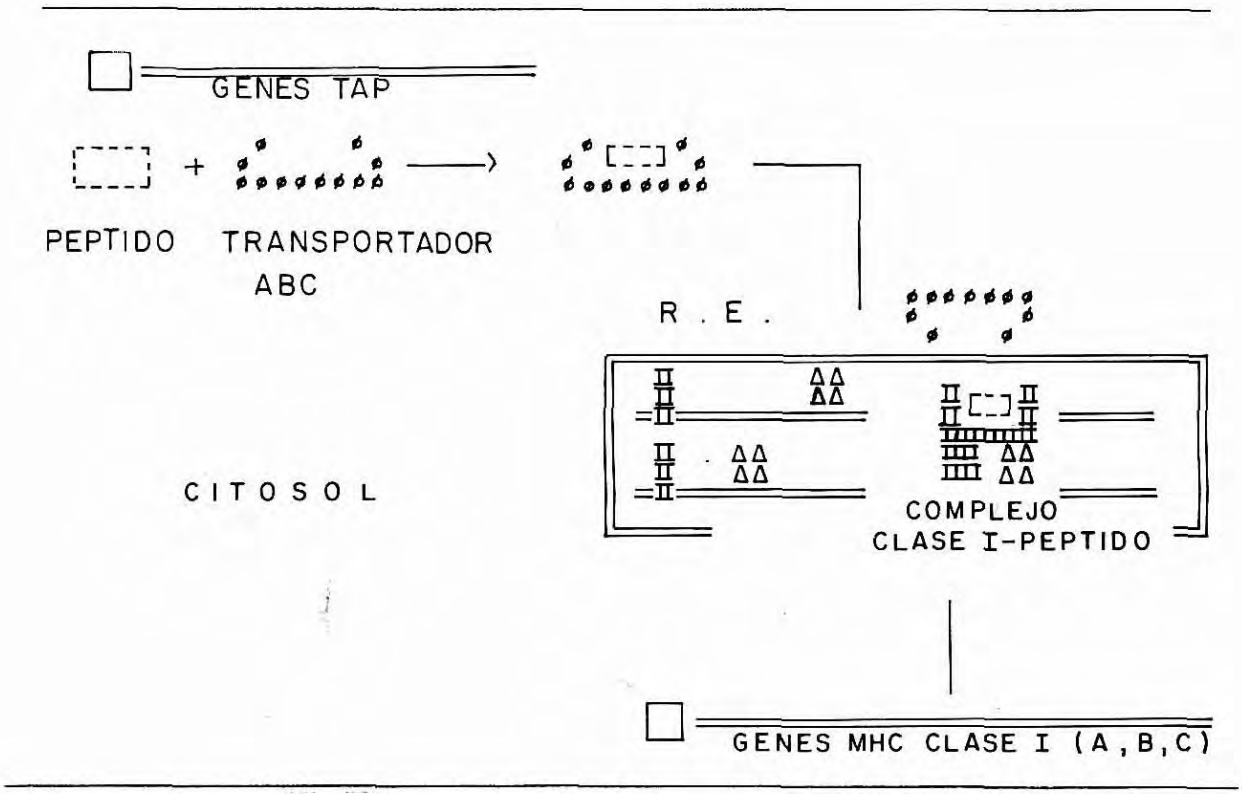

Figura 5. Esquema del transporte de péptidos hacia el RE, mediante proteínas transportadoras de la familia ABC. A este nivel podrían actuar los genes TAP, controlando la síntesis de dichos transportadores. El efecto de los genes estructurales HLA (A,B,C) se daría posteriormente a la llegada de los péptidos al RE, en donde estos participan en el ensamble de dichas moléculas.

REFERENCIAS

1. **Klein J.** Biosynthesis of MHC Molecules in: Natural history of the major histocompatibility complex. Wiley Interscience N.Y. 1986; 221.

2. **Spies T, Bresnahan M, Bahram S.** A gene human major histocompatibility complex Clase II region controlling the Class I antigen presentation pathway. Nature 1990; 348: 744.

3. **Spies T, Cerundolo V, Colonna M.** Presentation of viral antigen by MHC Class I molecules is dependent on a putative peptide transporter heterodimer. Nature 1992; 355: 644.

4. **Ljunggren HG, Stam NJ, Ohlen C.** Empty MHC Class I molecules come out in the cold. Nature 1990; 346: 476.

5. **Bejamin R, Parham P.** HLA-B27 and disease: A consecuence of inadvertent antigen presentation? Rheumatic Dis Clin North Am. 1992; 18: 11.

6. **Myers N, Lie W, Nett M.** The conformation of Ld induced by Beta- 2 microglobulina is fixed during de novo synthesis and irreversible by exchange or dissociation. J Immunol 1989; 142: 2751.

7. **Townsend A, Ohlen C, Bastin J.** Association of Class I major histocompatibility heavy and light chains induced by viral peptides.Nature 1989; 340: 443.

8. **Cerundolo V, Alexander J, Anderson K.** Presentation of viral antigen controlled by a gene in the major histocompatibility complex. Nature 1990; 345: 444.

9. **Silver M, Parker K, Wiley D.** Reconstitution by MHC-restricted peptides of HLA-A2 heavy chain with B-2 microglobulina in vitro. Nature 1991; 350: 619.

10. **Kenneth R, Gamble S, Rothstein L.** Reassociation with Beta-2 microglobulin is necessary for Db Class I major histocompatibility complex binding of an exogenous influenza peptide. Proc Natl Acad Sc USA 1991; 88: 301.

11. **Saper M, Bjorkman P, Wiley D.** Refined structure of the human histocompatibility antigen HLA-A2 At 2.6 A resoluction. J Mol Biol 1991; 2191: 277.

12. **Madden DR, Gorga JC, Strominger JL.** The structure of HLA-B27 reveals nonamer self-peptides bound in an extended conformation. Nature 1991; 353: 321.

13. **Powis CJ, Howard JC, Butcher GW.** Variation in the biosynthesis of the Rat RT1. A classical Class I antigen due to the cim system. Transplant-Proc 1990; 22: 2517.

14. **Rock KL, Gamble S.** Presentation of exogenous antigen with Class I major histocompatibility complex molecules. Science 1990; 249: 918.

15. **Nuchtern JG, Biddison WE, Klausner RD.** Class II MHC molecules can use the endogenous pathway of antigen presentation. Nature 1990; 343: 74.

16. **Nuchtern J, Bonifacino J, Biddison W.** Brefeldina A implicates egress from endoplasmic reticulum in Class I restricted antigenpresentation. Nature 1989; 339: 223.

17. **Monaco J.** A molecular model of MHC Class I restricted antigen processing. Inmunology Today 1992; 13: 173.

18. **Nilsson J, Jackson M, Peterson P.** Short cytoplasmic sequences serve as retention signals for transmembrane proteins in the endoplasmic reticulum. Cell 1989; 58: 707.

19. **Brodsky F, Linne G.** The cell biology of antigen processing and presentation. Ann Rev Immunol 1991; 9: 707.

20. **Langer T, Lu C, Echols H, et al.** Successive action of Dnak, DnaJ and GroEL along the pathway of chaperone-mediated protein folding. Nature 1992; 356: 683.

21. **Weiss S, Bogen B.** MHC Class II restricted presentation of intracellular. Cell 1991; 64: 767.

22. **Livingstone A, Powis S, Diamond A.** A trans-acting major histocompatibilily complex-linked gene whose alleles determine gain and loss changes in the antigenic structure of a classical Class I molecule. J Exp Med 1989; 170: 777.

23. **Hosken A, Bevan M.** An endogenous antigenic peptides by passes the Class I antigen presentation defect in RMA-S. J Exp Med 1992;175: 719.

24. **Powis S, Mockride I, Kelly A.** Polymorphism in a second ABC transporter located within the Class I region of the human major histocompatibility complex. Proc Natl Acad Sc USA 1992; 89: 1463.

25. **Kelly A, Powis H, Kerr L.** Assembly and function of the two ABC transporter protein encoded in the human major histocompatibility complex. Nature 1992; 355: 641.

26. **Attaya M, Jameson S, Martínez C.** HAM-2 corrects the Class I antigen processing defects in RMA-S cells. Nature 1992; 355: 647.

27. **Powis S, Deverson E, Coadwell J.** Effect of polymorphism of an MHC-linked transporter on the peptides assembled in a Class I molecules.Nature 1992; 357: 211.

28. **Pazmany L, Rowland S, Huet S.** Genetic modulation of antigen presentation by HLA-B27 molecules. J Exp Med 1992; 175: 361.

29. **Faustman D, Li X, Lin H, et al.** Linkage of faulty major histocompatibility complex Class I to autoinmune diabetes. Science 1991; 254: 1756.

30. **Colonna M, Bresnahan M, Bahram S.** Allelic variants of the human putative peptide transporter involved in antigen processing. Proc Nat Acad Sc USA 1992; 89: 3932.

31. **Monaco J, Sungae C, Attaya M.** Transport protein genes in the murine MHC: Possible implications for antigen processing. Science 1990; 250: 1273.

32. **Mimura C, Holbrook S, Ferro-Luzzi G.** Structural model of the nucleotide binding conserved component of periplasmic permeasas. Proc Natl Acad Sc USA 1991; 88: 84.

33. **Felmlee T, Pellett S, Welch R.** Nucleotide sequence of an *Escherichia coli* chromosomal hemolysin. J Bacteriol 1985; 163: 94.

34. **Higgins C, Hiles I, Salmond G, et al.** A family of related ATP-binding subunits coupled to many distinct biological processes in bacteria. Nature 1986; 323: 448.

35. **Golberg A, Rock K. Proteolysis,** proteasomes and antigen presentation. Nature 1992; 357: 375.

36. **Seeling A, Kloetzel PM, Kuehn L.** Molecular interaction of the proteasome (multicatalytic proteinase). Evidence that the proteasome is not a constituent of the «26 S» complex. Biochem J. 1991; 280: 225.

37. **Driscoll J, Goldberg AL.** The proteasome (multicatalytic protease)is a component of the 1500 KDa proteolytic complex which degrades ubiquitin-conjugated proteins. J Biol Chem 1990; 265: 4789.

38. **Brown M, DriScioll J, Monaco J.** Structural and serological similarity of MHC-linked LMP and proteasome (multicatalytic proteinase) complexes. Nature 1991; 355: 357.

39. **Glynne R, Powis S, Beck S. A** proteasome related gene between the two ABC transporter loci in the Class II region of the human MHC. Nature 1991; 353: 357.

40. **Kelly AP, Monaco JJ, Cho SG.** A new human HLA Class II related locus, DM. Nature 1991; 353: 571.

41. **Martínez CK, Monaco JJ.** Homology of proteasome subunits to a major histocompatibility complex-linked LMP gene. Nature 1991; 353: 664.

42. **Kelly A, Powis SH, Glynne R.** Second proteasome-related gene in the human MHC Class II region. Nature 1991; 353: 667.

43. **Yang Y, Waters J, Früh K.** Proteasomes are regulated by interferon gamma: Implications for antigen processing. Proc Nat Acad Sc (USA) 1992; 89: 4928.

44. **Driscoll J, Finley D.** A controlled breakdown: Antigen processing and the turnover of viral proteins. Cell 1992; 68: 823.

45. **Ortiz-Navarrete, Seeling A, Garnold M, et al.** Subunit of the 20S proteasome (multicatalytic proteinase) encoded by the major histocompatibility complex. Nature 1991; 353: 662.

46. **Li-XC, Gu-MZ, Etlinger-JD.** Isolation and characterization of a novel endogenous inhibitor of the proteasome. Biochem 1991; 30: 9709.

47. **Banerji J, Sands J, Strominger J, et al.** A gene pair from the human major histocompatibility complex encodes large proline rich proteins with multiple repeated motifs and a single ubiquitin-like domain. Proc Natl Acad Sc USA 1990; 87: 2374.

48. **Hochstenbach F, David V, Watkins S, et al.** Endoplasmic reticulum resident protein of 90 kilodaltons associates with the T and B-cell antigen receptors and major histocompatibility complex antigens during their assembly. Proc Nat Acad Sc USA 1992; 89: 4734.