

La glicosilación de los anticuerpos y su efecto patogénico

Nesty Olivares,* Rogelio Hernández-Pando*

* Sección de Patología Experimental, Departamento de Patología, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

Glycosylation of antibodies and their pathogenic effect

RESUMEN

ABSTRACT

Immunoglobulin G (IgG) has covalently linked a sugar chain in the crystallizable fragment (Fc). This structure consists of double stranded glycosidic complexes with a high degree of heterogeneity that contribute to define the affinity to their specific receptors, and partly determine their biological activity. Recently was identified an anti-inflammatory mechanism mediated by IgG based on their different alternatives of Fc glycosylation and their interaction with the specific adhesion receptor of dendritic cells (DC-SIGN). This mechanism has clinical and therapeutic implications in autoimmune diseases. The objective of this review is to describe the biochemical structure of sugars associated to the Fc of IgG and its variants in relation to specific functions and pathogenicity, particularly in tuberculosis, in which may also have therapeutic implication.

Key words. Glycosylation. Antibodies. Tuberculosis.

Las inmunoglobulinas de clase G (IgG) tienen unida covalentemente una cadena de azúcares en el fragmento cristalizante (Fc), estructura que está constituida por complejos glucosídicos bicatenarios con un alto grado de heterogeneidad que contribuyen en definir la afinidad de los Ac por sus receptores específicos, determinando en parte su actividad biológica. Recientemente se identificó un mecanismo antiinflamatorio mediado por las IgG con base en las diferentes alternativas de glicosilación del Fc y su interacción con el receptor de adhesión específico de células dendríticas (DC-SIGN). Este mecanismo ha tenido implicaciones clínicas y terapéuticas en los procesos autoinmunes. El objetivo de esta revisión es describir la estructura bioquímica de los azúcares asociados al Fc de la IgG, así como sus variantes en relación con las funciones específicas que éstas le confieren como factor patogénico en las enfermedades autoinmunes e infecciosas, particularmente en la tuberculosis donde también podría tener implicación terapéutica.

Palabras clave. Glicosilación. Anticuerpos. Tuberculosis.

INTRODUCCIÓN

Los anticuerpos (Ac) son los componentes básicos de la inmunidad humoral. Estas moléculas proteicas funcionan como receptores en la superficie de los linfocitos B y su interacción con el antígeno (Ag) induce la activación y proliferación del linfocito, lo cual concluye con la secreción de Ac de clase IgM (respuesta primaria). Los encuentros posteriores con el mismo antígeno inducirán la producción y secreción de Ac de las clases IgG, IgA e IgE (respuesta secundaria). En los humanos existen cuatro subclases de IgG (IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4) y dos subclases de IgA (IgA1 e IgA2).¹

Luego de la síntesis de las cadenas proteicas de los Ac, éstas son modificadas por la glicosilación; un

proceso enzimático postraduccional consistente en la adición de sacáridos a la cadena peptídica. Los carbohidratos se unen a la proteína mediante enlaces N-glucosídicos o enlaces O-glucosídicos. La unión N-glucosídica ocurre con el nitrógeno del grupo amida de la asparagina (Asn), y el enlace O-glucosídico es con el oxígeno del grupo hidroxilo de la serina (Ser), treonina (Thr) o hidroxilisina (Hyp).²

Las investigaciones sobre la glicosilación de los Ac han generado mucho interés recientemente debido a su implicación en la patogenia de algunas enfermedades y por su importancia en los procesos biotecnológicos de obtención de Ac terapéuticos.³ Estos estudios se han enfocado principalmente en la IgG, por ser la clase predominante en el suero³ y el prototipo molecular estructural y funcional de los Ac.⁴

En esta revisión se abordan las generalidades de la estructura molecular de la IgG, la heterogeneidad de la glicosilación en su porción Fc, el efecto de ésta sobre la función de los Ac y su posible contribución en la patogenia de las enfermedades autoinmunes e infecciosas, así como su potencial importancia desde el punto de vista terapéutico.

ESTRUCTURA DE LA IgG

La IgG es una glicoproteína constituida por dos cadenas pesadas y dos ligeras de aminoácidos unidas entre sí por puentes disulfuro. Otras uniones disulfuro intracatenarias en las cadenas pesadas conforman los dominios globulares CH1, CH2 y CH3, y en la cadena ligera el dominio constante y el variable. La IgG se divide en dos regiones: el fragmento de unión al Ag (Fab) y el fragmento cristalizante (Fc).⁵ El Fab está formado por el dominio CH1, el dominio constante de cadena ligera y por el sitio de unión al antígeno. La variabilidad del sitio de unión al Ag teóricamente puede llegar a 10^9 alternativas diferentes y está determinada por la existencia de segmentos hipervariables que corresponden a tres hélices que sobresalen y conectan hebras adyacentes de las cadenas peptídicas que forman los dominios variables de las cadenas pesadas y ligeras. De esta forma se establece la capacidad de los Ac para unirse a un elevado número de Ag distintos. El Fc está

constituido por los dominios CH2 y CH3, y funciona como ligando del factor del complemento C1q y de los receptores específicos (FcRs). En la estructura del Ac también se reconoce la región bisagra que da flexibilidad a la molécula (Figura 1).³

Los Ac presentan una glicosilación de tipo N, caracterizada por la unión covalente de la N-acetilgalactosamina (GlcNAc) de una cadena de oligosacáridos a un residuo de Asn de la cadena de aminoácidos del Fc. El proceso de glicosilación comienza con el ensamblaje del oligosacárido pirofosforildolico y su transferencia a los polirribosomas, donde se une a las apoglicoproteínas receptoras en la superficie luminal del retículo endoplásmico rugoso. Para la formación de cadenas complejas de azúcares son necesarios otros pasos adicionales, primero se movilizan varios residuos de monosacáridos y luego se adicionan otros como GluNAc, manosa (Man), fucosa (Fuc), galactosa (Gal) y ácido siálico, también conocido como ácido N-acetilneuramínico (NANA).⁶

HETEROGENEIDAD ESTRUCTURAL DE LA GLICOSILACIÓN EN LA REGIÓN Fc

Los azúcares que se encuentran en la región Fc se organizan formando una región nuclear de dos residuos de GlcNAc unidos a tres residuos de Man. A esta estructura se asocian diferentes residuos de azúcares que determinan la heterogeneidad de la gli-

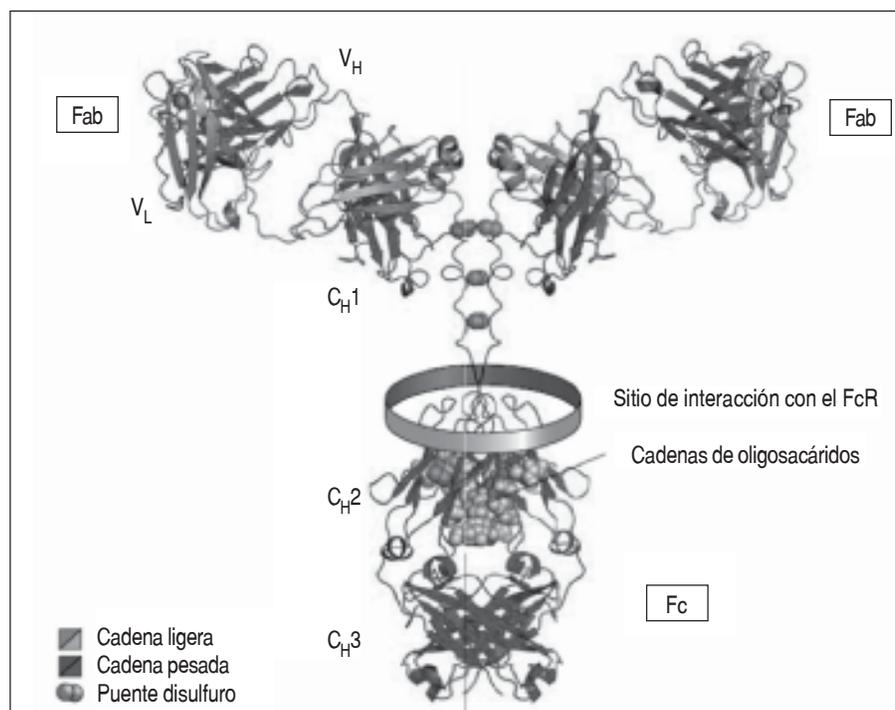


Figura 1. Estructura de la IgG. Por regiones se divide en dos fragmentos de unión al antígeno (Fab) y un fragmento cristalizante (Fc) en cuyo dominio CH2 se unen oligosacáridos. Modificado de Nat Biotechnol 2006; 24(10): 1230-1.

INFLUENCIAS DE LAS ALTERNATIVAS DE GLICOSILACIÓN DEL Fc EN LA INTERACCIÓN DE LA IgG Y SU RECEPTOR ESPECÍFICO

NANA-Gal-GlcNAc-Man NANA-Gal-GlcNAc-Man	Man-GlcNAc-GlcNAc	G2S2
NANA-Gal-GlcNAc-Man Gal-GlcNAc-Man	Man-GlcNAc-GlcNAc	G2S2 (α 1, 6)
Gal-GlcNAc-Man NANA-Gal-GlcNAc-Man	Man-GlcNAc-GlcNAc	G2S2 (α 1, 3)
Gal-GlcNAc-Man Gal-GlcNAc-Man	Man-GlcNAc-GlcNAc	G2
Gal-GlcNAc-Man GlcNAc-Man	Man-GlcNAc-GlcNAc	G1 (α 1, 6)
GlcNAc-Man Gal-GlcNAc-Man	Man-GlcNAc-GlcNAc	G1 (α 1, 3)
GlcNAc-Man GlcNAc-Man	Man-GlcNAc-GlcNAc	G0

Figura 2. Estructura de los principales N-glicanos encontrados en la IgG humana. Se clasifican según la presencia de residuos terminales de galactosa (Gal) y/o ácido siálico (NANA) en: G0, G1, G2, G2S2. Modificado de Current Opinion in Immunology 2008; 20: 471-8.

cosilación. De esta forma los N-glicanos encontrados en la región Fc de la IgG son estructuras bicatenarias complejas que se clasifican según la presencia de residuos terminales de Gal y/o de ácido siálico. En la figura 2 se muestran estas alternativas.^{7,8}

La heterogeneidad de la glicosilación también se incrementa por la presencia de pares de glicofomas simétricas y asimétricas unidas al Fc de la IgG.¹ De esta manera en un individuo sano existen alrededor de 32 variables diferentes de oligosacáridos que pueden unirse a la IgG⁶ y potencialmente generan más de 400 glicofomas por el apareamiento aleatorio en las cadenas pesadas.⁹ También existen otros factores que contribuyen de manera fisiológica en la heterogeneidad de glicosilación de la IgG, por ejemplo, el número de alternativas de glicosilación aumenta desde del nacimiento hasta los 25 años y posteriormente disminuye hasta el final de la vida; en las mujeres se encuentra menor nivel de glicofomas agalactosiladas de IgG que en los hombres; sin embargo, durante el embarazo se incrementa la glicosilación.³

Los Fc γ Rs están constitutivamente expresados en macrófagos, células dendríticas (CD) y en algunos linfocitos. Estos receptores pueden ser de activación o de inhibición, según presenten en sus dominios citoplasmáticos motivos de activación basados en tirosina (ITAM) o motivos de inhibición basados en tirosina (ITIM). La mayoría de los receptores de activación son de baja y mediana afinidad (humanos: Fc γ RIIA, Fc γ RIIC, Fc γ RIIIA y Fc γ RIIIB; ratones: Fc γ RIII y Fc γ RIV), en humanos y ratones sólo hay un receptor de activación de alta afinidad, el Fc γ RI. Existe sólo un FcR inhibitor en humanos y ratones, el Fc γ RIIB de baja a mediana afinidad.⁵ Otro receptor de Fc es el neonatal (FcRn), identificado en la placenta humana como transportador de IgG de la madre al feto y luego del nacimiento mediando el catabolismo de la IgG y su vida media.¹

Cuando el Fc γ R activador es entrecruzado por un complejo inmune se produce la transducción de señales que conducen a la generación de trifosfato de inositol, diacilglicerol y a la movilización mantenida de calcio. La respuesta a estos mediadores son la transcripción de genes que codifican para la síntesis de citocinas, productos inflamatorios y enzimas microbicidas, así como la estimulación de la fagocitosis, exocitosis y migración celular.^{5,10,11} El entrecruzamiento del Fc γ R inhibitor induce la fosforilación de tirosina de los ITIM, lo que induce el reclutamiento y la activación de la fosfatasa SHIP y la inhibición de la vía de señalización de los receptores de activación.^{5,11} Los estímulos simultáneos de los Fc γ Rs inhibitorios y activadores establecen límites para la activación celular y, por tanto, se genera una respuesta inmunológica equilibrada.⁵ La expresión de los Fc γ Rs es regulada por las citocinas de la respuesta inflamatoria.¹

Los estudios sobre la interacción entre el Fc y el Fc γ R han mostrado que sólo un dominio de este último hace contacto con la región distal de la bisagra y la proximal de la hendidura formada por el fragmento Fc. Esta interacción es débil e induce cambios estructurales en el receptor y el ligando.⁵ Las glicofomas que se encuentran en la zona intervienen en la interacción y aunque su contacto con el receptor es mínimo, tienen un impacto significativo en el reconocimiento de los Fc γ R y consecuentemente en la activación cuantitativa y/o cualitativa de los mecanismos efectores de la respuesta inflamatoria.¹

Cuadro 1. Efecto de las variaciones de expresión en los residuos de azúcares sobre la función efectora de la IgG.

Variaciones en los residuos de azúcares del Fc de la IgG	Efecto sobre la función de la IgG
Aumento de GlcNAc*	<ul style="list-style-type: none"> • Activación del complemento por la vía de las lectinas debido al aumento de la afinidad de las ficolinas del suero por la IgG.¹³ • Reducción de la CDC por disminución de la afinidad de la IgG por el C1q.¹⁴
Ausencia del núcleo de Fuc	<ul style="list-style-type: none"> • Aumento de la ADCC debido al incremento de la afinidad de la IgG por el FcRγRIIA por aumento de la accesibilidad en la interacción.¹⁵
Aumento de Sia Aumento de Man**	<ul style="list-style-type: none"> • Disminuye la ADCC por efecto negativo sobre la unión de la IgG al FcRγRIIA.¹⁶ • Aumento de la ADCC por aumento de la afinidad de la IgG al FcRγRIIA.¹⁷ • Disminución de la CDC por disminución de la afinidad de la IgG por el C1q.¹⁷

* La presencia de residuos de GlcNAc en la IgG es inversamente proporcional a la de Gal, por lo que los efectos observados por aumento de GlcNAc son los mismos que por disminución de Gal. ** En general, la presencia de manosa en la IgG es variable. En los receptores de IgG el contenido de manosa varía según la línea celular.

La función biológica del Fc de los Ac tiene su base en los mecanismos de citotoxicidad dependiente de complemento (CDC) y citotoxicidad celular dependiente de Ac (ADCC). La activación del complemento consiste en una cascada de reacciones enzimáticas que resulta en la formación del complejo de ataque de membrana que genera poros en la célula blanco y consecuentemente su lisis. Durante este proceso también se generan fragmentos de proteínas que actúan reclutando leucocitos y aumentando la respuesta inflamatoria.¹ El complemento tiene tres vías de activación: alterna, clásica y de las lectinas, pero las modificaciones en la glicosilación del Fc solamente involucran a las dos últimas. Los estudios de ingeniería de proteína muestran que la interacción entre la IgG y el C1q ocurre en la región de la bisagra proximalmente al dominio CH2 para la cual resulta esencial la glicosilación del Fc, ya que se ha demostrado que la constante de asociación se reduce en un orden de magnitud para las IgG aglicosiladas con la consecuente pérdida de su función en la CDC.⁹ Por otra parte, es conocido que la activación del complemento a través de las lectinas puede ser mediada por las ficolinas, que son lectinas que reconocen selectivamente al GlcNAc. De esta manera cuando una IgG es rica en GlcNAc puede ser reconocida por las ficolinas y entonces activarse la CDC.^{9,11}

El mecanismo de ADCC se reconoce cuando las células naturales citolíticas (NK) u otros leucocitos liberan el contenido de sus gránulos al reconocer a través sus FcγRs a los Ac IgG que recubren las células blanco.¹¹ En la ADCC, la influencia de los oligosacáridos en la interacción entre el FcR y el Fc está determinado por su efecto sobre la conformación estructural del Fc.⁹ Esto se demostró al observarse du-

rante un estudio experimental, que la ADCC es más activa en neutrófilos cuando es mediada por anticuerpos monoclonales (AcMo) ricos en fucosa.¹ Adicionalmente, la experiencia de trabajo con el AcMo terapéutico rituximab ha mostrado que cuando presenta un nivel bajo de galactosilación impacta negativamente en la activación de la vía clásica del complemento y que cuando se le adicionan residuos de bisección N-acetilglucosamina mejoran su función en la ADCC.⁹ Posteriormente, el resultado experimental de otro estudio demostró que un AcMo terapéutico recombinante IgG1 no fucosilado es óptimo neutralizando moléculas solubles o destruyendo células, mientras que uno IgG2 aglicosilado tiene una actividad mínima en esta función.¹² Estas observaciones han llevado a especular que el sistema inmunológico no sólo responde produciendo Ac de una subclase óptima, sino también con glicofomas óptimas.¹ En el cuadro 1 se presentan algunos ejemplos que muestran cómo los diferentes residuos terminales de azúcares de la Fc-IgG le confieren al Ac características particulares en cuanto a su afinidad por el ligando y la consecuente influencia en su mecanismo de acción.⁸

ALTERACIONES DE LA GLICOSILACIÓN DE LA IgG EN LA PATOGENIA DE LAS ENFERMEDADES AUTOINMUNES E INFECCIOSAS

La respuesta inmune se caracteriza por la integración de señales activadoras e inhibitoras que determinan su cinética, magnitud y duración. Las fallas en cualquiera de estos procesos puede ser perjudicial; por ejemplo, las reacciones debido al incremento en las señales de activación o fallas en las de inhibición pueden provocar el desarrollo de enferme-

dades autoinmunes; por otra parte, el exceso de señales negativas puede dar lugar a respuestas inmunes insuficientes e incapaces de eliminar las infecciones microbianas.⁵ Se ha reportado que los azúcares asociados a las regiones Fc de los Ac contribuyen en la patogenia de algunas enfermedades autoinmunes e infecciosas. Recientemente estas observaciones han tenido implicaciones en el diseño de nuevas estrategias de tratamiento.¹⁸

Enfermedades autoinmunes

En las enfermedades autoinmunes el fallo de los mecanismos de tolerancia da lugar a reacciones inmunológicas en contra de células y tejidos del propio organismo. Los Ac que participan en esta respuesta se conocen como autoanticuerpos (aAc). Los aAc activan la cascada del complemento y además actúan como opsoninas facilitando la acción de los fagocitos que son atraídos al sitio de inflamación como parte de la respuesta inflamatoria, donde adicionalmente liberan productos inflamatorios y citocinas que producen lesión tisular. De esta manera, los aAc contribuyen al establecimiento de la inflamación tisular crónica que caracteriza la autoinmunidad.¹¹

Una característica de varias enfermedades autoinmunes son las alteraciones en la glicosilación del Fc-IgG. Los primeros estudios en este sentido en la artritis reumatoide (AR) se enfocaban en correlacionar la avidéz y afinidad del factor reumatoide (FR) por el Fc de la IgG autóloga en dependencia de la presencia o ausencia de galactosa en su residuo terminal, sugiriendo que la galactosa protegía la región hidrófoba del aAc y que una menor proporción de galactosa haría a la molécula más propensa a la agregación ocasionando un efecto autoinmunogénico.^{19,20} Sin embargo, los estudios recientes indican que no es la falta de residuos de galactosa en sí, sino más bien, la ausencia concomitante de residuos terminales de ácido siálico quien puede ser el responsable del aumento de la actividad inflamatoria ejercida por las glicofomas G0.^{21,22} Por otra parte, en AR el anticuerpo IgG anti-proteína citrulinada (ACPA, por sus siglas en inglés) es altamente específico para un subgrupo de pacientes. El papel de este aAc en la patogenia de la AR aún no está bien dilucidado, pero los estudios de su porción Fc indican falta significativa de residuos de ácido siálico y una tendencia no significativa hacia la disminución en sus residuos de galactosa, incrementando el potencial inflamatorio del ACPA. De esta forma, los resultados muestran que la IgG reconocida por el RF presenta un perfil de glicosilación similar al encontrado en el ACPA.²¹

Desde hace varias décadas se describió un déficit de residuos de galactosa en la IgG de los pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES) y enfermedad de Crohn.²³ En el LES los antígenos derivados de las células apoptóticas estimulan respuestas inmunes que conducen a la formación de complejos inmunes (CI). Al depositar los CI en los tejidos, causan manifestaciones clínicas como nefritis, pleuritis, vasculitis y afectaciones en la piel y el sistema nervioso central.²⁴

En la trombocitopenia aloinmune fetoneonatal se han descrito IgG con marcada disminución en el nivel de fucosa e incremento de la galactosa y del ácido siálico, en comparación con los patrones de glicosilación de la IgG total del suero.²⁵

Una de las opciones terapéuticas para el tratamiento de formas graves de enfermedades autoinmunes son las formulaciones de inmunoglobulina intravenosa (IgIV) administradas en altas dosis (1-2 g/kg de peso corporal) debido a su efecto antiinflamatorio.²⁶ Estas formulaciones están constituidas por Ac policlonales de clase IgG y de hecho su uso más amplio en la práctica clínica es como terapia de reemplazo en el tratamiento de las inmunodeficiencias humorales.^{7,26}

Existen diferentes hipótesis que trataron de explicar la actividad inmunosupresora de la IgIV en altas dosis sin que ninguna alcanzara un consenso general.⁷ Las hipótesis propuestas estaban basadas en la interacción Fc-FcR y proponían que las dosis altas de IgG saturaban los receptores FcRn, con lo que se evitaba la interacción de los Ac con estos receptores aumentando su depuración del plasma. Sin embargo, la actividad inmunosupresora de la IgIV se mantiene aún en los modelos de púrpura trombocitopénica idiopática en ratones deficientes de FcRn. Un segundo modelo propuso que la IgIV actuaba bloqueando a los FcγR clásicos, pero también falla si se considera que al ser la IgG de formulación monomérica, su afinidad es limitada para los FcR clásicos de mediana y baja afinidad, además de que estos receptores ya están saturados de forma natural por las IgG del suero.²⁶

Recientemente se ha reportado un novedoso modelo que explica de qué manera la IgIV suprime la inflamación en los procesos autoinmunes. Este modelo está basado en la inmunomodulación de la IgG según la heterogeneidad de glicosilación en su Fc y la interacción con los receptores DC-SIGN (CD 209).²⁷ El DC-SIGN es un receptor transmembranal del grupo de las lectinas tipo C, en cuyo extremo carboxilo terminal hay un dominio simple de unión a carbohidratos que presenta gran afinidad por los glicocon-

jugados ricos en manosa. En humanos este receptor se expresa en las células dendríticas (CD) y en los macrófagos alveolares. En los ratones se expresa fundamentalmente en los macrófagos de la zona marginal del bazo.²⁸

El DC-SIGN tiene función inmunorreguladora. Los estudios recientes muestran su afinidad por patrones de reconocimiento de patógenos y receptor de adhesión de CD, de ahí su importancia en la migración y adhesión de las CD, la respuesta inflamatoria, la activación de linfocitos T, la iniciación de la respuesta inmune y el escape inmunológico de patógenos y células tumorales.^{7,28}

El mecanismo inmunosupresivo de la IgIV citado anteriormente se explica de la siguiente manera: las IgG de la formulación de IgIV, que son ricas en ácido siálico en su región Fc, son reconocidas por los DC-SIGN de los macrófagos de la zona marginal del bazo. Esta interacción estimula la liberación de mediadores por los macrófagos que estimula a los basófilos para producir la citocina antiinflamatoria, la cual a distancia provoca aumento de la expresión de FcγR inhibidores en los macrófagos eferentes de los tejidos inflamados. De esta forma se atenúa la respuesta inflamatoria en los sitios de lesión porque la mayoría de los aAc interactúan con los FcR inhibidores (Figura 3). El hecho que explica porqué es necesario utilizar la IgIV a altas dosis para obtener un

efecto antiinflamatorio, es porque la IgG rica en ácido siálico sólo representa 3-10% de la IgG del suero y al tratar un paciente con dosis altas de IgIV se proporciona la cantidad adecuada de IgG rica en ácido siálico para obtener el efecto antiinflamatorio. Estos resultados sugieren la posibilidad de producir una nueva formulación de IgIV rica en ácido siálico que permita tratar ciertas enfermedades autoinmunes con dosis bajas de la formulación.²⁷

Por otra parte el hecho de que los residuos de azúcares sean críticos para mantener la estructura general del Ac y su función efectora, se han utilizado como estrategia para el tratamiento de ciertas enfermedades autoinmunes en modelos murinos. La eliminación de los azúcares en los Ac conduce a la pérdida de su actividad proinflamatoria (Cuadro 1), lo cual se demostró inoculando por vía intravenosa la enzima endoglicosidasa (EndoS) que elimina los residuos de azúcares de la región Fc de la IgG a partir del primer GlcNAc. El Fc desglucosilado disminuye considerablemente su afinidad por los FcγRs activadores y consecuentemente su capacidad de estimular la respuesta inmune inflamatoria.^{7,29}

Recientemente se ha evaluado una alternativa de tratamiento para los pacientes con LES consistente en la modificación de los residuos de azúcares del Fc de los aAc, mediante la enzima Endoglycosidase S. Esta enzima hidroliza los N oligosacáridos en la ca-

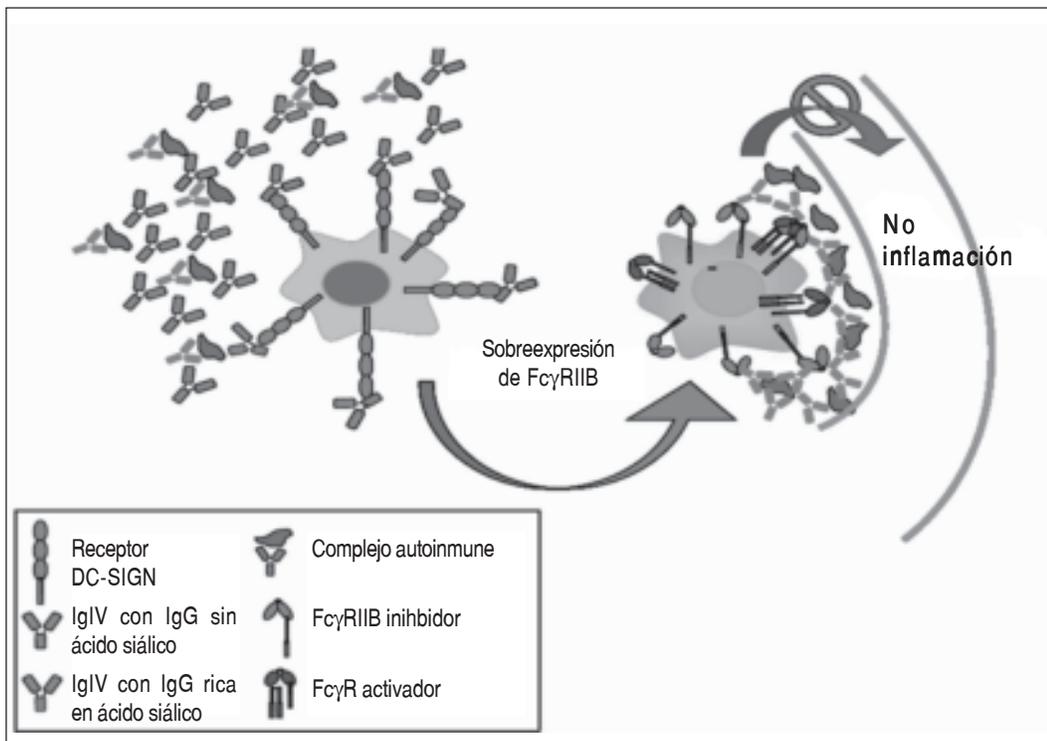


Figura 3. Modelo de la actividad antiinflamatoria de la IgIV rica en ácido siálico en su región Fc. Las IgG ricas en ácido siálico son reconocidas por los DC-SIGN de los macrófagos de la zona marginal del bazo, que liberan mediadores antiinflamatorios que aumentan la expresión del FcR inhibidor (FcγRIIB) en los macrófagos de los tejidos inflamados. La respuesta inflamatoria se atenúa porque la mayoría de los complejos autoinmunes interactúan con los FcγRIIB. Modificado de Immunol Rev 2010; 236: 265-275.

dena pesada de todas las subclases de IgG. Los resultados mostraron que el tratamiento eliminó todas las propiedades proinflamatorias de los CI demostrándose así la participación de los CI en la patogenia del LES.²⁷ Experimentos similares se realizaron en modelos animales de púrpura trombocitopénica inmune (PTI). Los resultados mostraron un efecto antiinflamatorio del tratamiento con IgIV rica en ácido siálico;³⁰ sin embargo, otro grupo de investigación no reportó el mismo efecto.³¹

Enfermedades infecciosas

Las alteraciones cuantitativas o cualitativas en la respuesta inmune humoral pueden implicar una respuesta insuficiente e incapaz de eliminar un agente infeccioso. El estudio de los trastornos en la glicosilación de la IgG en las enfermedades infecciosas es bastante reciente. El primer reporte fue en la lepra eritematosa nodular, en la que el análisis del suero en estos pacientes mostró un incremento de las formas agalactosiladas de la IgG. Se consideró que el déficit en la glicosilación contribuyó en la patogenia de esta enfermedad, porque además de que la glicosilación del Fc es fundamental para la función del Ac (Cuadro 1), las formas agalactosiladas tienen tendencia a agregarse entre ellas, siendo farmacológicamente inactivas. En estos pacientes también se observó disminución del nivel o de la actividad de la enzima β galactosiltransferasa en los linfocitos B; sin embargo, no se identificaron alteraciones moleculares en la regulación de la enzima.³²

Posteriormente se realizaron estudios adicionales para explorar el déficit de glicosilación de la IgG en otras enfermedades infecciosas como: rubéola, parvovirus, parotiditis, fiebre glandular, VIH, *Klebsiella* y lepra; no obstante, no se detectaron diferencias significativas en relación con los grupos control.³³ A diferencia de estas enfermedades, el análisis de la glicosilación en la IgG de pacientes con tuberculosis (TB) ha mostrado resultados diferentes.³² La tuberculosis es una enfermedad crónica causante del mayor número de muertes por un sólo agente bacteriano en todo el mundo y en la cual históricamente el papel de los Ac ha sido incierto o poco importante.³⁴

En el momento del diagnóstico, los pacientes con TB presentan Ac con valores de glicofomas G0 dos desviaciones estándar por encima del esperado en la población control, posteriormente a los nueve meses después de finalizado el tratamiento, el porcentaje de estas glicofomas G0 disminuye.^{32,35} En la patogenia de la TB se ha sugerido una posible asociación

entre la presencia de IgG desglicosilada y la liberación del factor de necrosis tumoral α (TNF- α), mediado por un mecanismo de asociación entre esta IgG agalactosilada y los receptores de unión de GlcNAc de los macrófagos, los cuales se activan y liberan el TNF- α . Esta citocina sería en parte responsable de las manifestaciones clínicas.³³

En los años 90 se realizó el único estudio de monitoreo de glicosilación de IgG durante la infección por micobacterias en un modelo en cabras de infección con *M. paratuberculosis*, en el que se observó un aumento significativo de la IgG G0 durante el transcurso de la infección en comparación con el grupo control.³² Posteriormente esta línea de investigación no tuvo continuidad debido básicamente a la dificultad de relacionar los trastornos de la glicosilación de los Ac con la patogenia de la TB, sumado a que las investigaciones en esta infección intracelular negaba toda participación de los Ac en la prevención y patogenia de la enfermedad. Sin embargo, recientemente se ha reactivado esta línea de investigación debido a que los resultados de varios estudios muestran cierto papel protector de los Ac en la infección por *M. tuberculosis*^{34,36-40} y por las implicaciones fisiopatogénicas del patrón de glicosilación de los Ac en las enfermedades autoinmunes. Nuestro grupo de investigación ha realizado estudios experimentales en un modelo murino de infección pulmonar con *M. tuberculosis*, en el que se evaluó el tratamiento con IgIV intacta o con IgIV desglicosilada (por medio de la enzima EndoS). Los resultados mostraron que en los pulmones de los ratones tratados con IgIV intacta había una cantidad de bacterias vivas significativamente menor, así como menor porcentaje de área neumónica en comparación con los tratados con IgIV desglicosilada.⁴¹

Por otra parte, los resultados de estudios llevados a cabo en zonas endémicas de TB con y sin síntomas reumáticos muestran que las infecciones micobacterianas inducen el desarrollo de aAc, por lo que es importante realizar nuevos estudios en este sentido, así como examinar el perfil de aAc en pacientes con TB.⁴²

CONCLUSIÓN

Las diferentes alternativas de la glicosilación en la región Fc de la IgG modifican las características estructurales de los Ac, lo que influye en su función como molécula efectora de la respuesta inmune. La identificación de una variante de glicosilación como elemento patogénico en las enfermedades autoinmunes, ha permitido establecer una nueva terapéutica

antiinflamatoria basada en enriquecer la IgG con ácido siálico. En el caso de las enfermedades infecciosas de manera general no se ha podido identificar patrones de glicosilación que constituyan factores patogénicos; sin embargo, en la TB los resultados experimentales recientes indican que el déficit de glicosilación puede estar implicado en el pobre papel que hasta ahora se le ha atribuido a la inmunidad humoral en esta infección, particularmente durante la enfermedad avanzada.

REFERENCIAS

1. Jefferis R. Isotype and glycoform selection for antibody therapeutics. *Arch Biochem Biophys* 2012; 526(2): 159-66.
2. Zauner G, Selman MH, Bondt A, Rombouts Y, Blank D, Deelder AM, Wuhler M. Glycoproteomic analysis of antibodies. *Mol Cell Proteomics* 2013 [Epub ahead of print].
3. Huhn C, Selman MH, Ruhaak LR, Deelder AM, Wuhler M. IgG glycosylation analysis. *Proteomics* 2009; 9: 882-913.
4. Stadlmann J, Pabst M, Altmann F. Analytical and Functional Aspects of Antibody Sialylation. *J Clin Immunol* 2010, 30 (Suppl. 1): S15-S19.
5. Nimmerjahn F, Ravetch JV. Fc gamma receptors as regulators of immune responses. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 34-47.
6. Murray RK. Glucoproteína En: Murray RK, Granner DK, Mayer PA, Rodwell VW (ed.) Harper's Biochemistry. 10a ed. México, D.F.: El Manual Moderno; 2001.
7. Anthony RM, Ravetch JV. A novel role for the IgG Fc glycan: the anti-inflammatory activity of sialylated IgG Fcs. *J Clin Immunol* 2010; 30: S9-S14.
8. Raju TS. Terminal sugars of Fc glycans influence antibody effector functions of IgGs. *Curr Opin Immunol* 2008; 20: 471-8.
9. Jefferis R. Glycosylation of Antibody Therapeutics: Optimization for Purpose. In: Faye L, Gomord V (ed.). Recombinant Proteins from Plants: Methods and Protocols Springer protocols, 2008.
10. van der Poel CE, Spaapen RM, van de Winkel JG, Leusen JH. Functional characteristics of the high affinity IgG receptor, FcγRI. *J Immunol* 2011; 186(5): 2699-704.
11. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Inmunología celular y molecular. 6a ed. Barcelona Elsevier; 2008.
12. Jefferis R. Antibody therapeutics: isotype and glycoform selection. *Expert Opin Biol Ther* 2007; 7(9): 1401-13.
13. Malhotra R, Wormald MR, Rudd PM, Fischer PB, Dwek RA, Sim RB. Glycosylation changes of IgG associated with rheumatoid arthritis can activate complement via the mannose-binding protein. *Nat Med* 1995; 1(3): 237-43.
14. Hodoniczky J, Zheng YZ, James DC. Control of recombinant monoclonal antibody effector functions by Fc N-glycan remodeling in vitro. *Biotechnol Prog* 2005; 21: 1644-52.
15. Shields RL, Lai J, Keck R, Connell LY, Hong K, Meng YG, Weikert SH, et al. Lack of fucose on human IgG1 N-linked oligosaccharide improves binding to human Fc gamma RIII and antibody-dependent cellular toxicity. *J Biol Chem* 2002; 277: 26733-40.
16. Scallon BJ, Tam SH, McCarthy SG, Cai AN, Raju TS. Higher levels of sialylated Fc glycans in immunoglobulin G molecules can adversely impact functionality. *Mol Immunol* 2007; 44(7): 1524-34.
17. Zhou Q, Shankara S, Roy A, Qiu H, Estes S, McVie-Wylie A, Culm-Merdek K, et al. Development of a simple and rapid method for producing non-fucosylated oligomannose containing antibodies with increased effector function. *Biotechnol Bioeng* 2008; 99: 652-65.
18. Anthony RM, Kobayashi T, Wermeling F, Ravetch JV. Intravenous gammaglobulin suppresses inflammation through a novel T(H)2 pathway. *Nature* 2011; 475(7354): 110-3.
19. Leader KA, Lastra GC, Kirwan JR, Elson CJ. Agalactosyl IgG in aggregates from the rheumatoid joint. *Br J Rheumatol* 1996; 35(4): 335-41.
20. Ciriác D, Milosevic-Jovcic N, Ilic V, Petrovic S. A longitudinal study of the relationship between galactosylation degree of IgG and rheumatoid factor titer and avidity during long-term immunization of rabbits with BSA. *Autoimmunity* 2005; 38(6): 409-16.
21. Scherer HU, van der Woude D, Ioan-Facsinay A, el Bannoudi H, Trouw LA, Wang J, Häupl T, et al. Glycan profiling of anti-citrullinated protein antibodies isolated from human serum and synovial fluid. *Arthritis Rheum* 2010; 62(6): 1620-9.
22. Troelsen LN, Jacobsen S, Abrahams JL, Royle L, Rudd PM, Narvestad E, Heegaard NH, Garred P. IgG glycosylation changes and MBL2 polymorphisms: associations with markers of systemic inflammation and joint destruction in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2012; 39(3): 463-9.
23. Tomana M, Schrohenloher RE, Koopman WJ, Alarcón GS, Paul WA. Abnormal glycosylation of serum IgG from patients with chronic inflammatory diseases. *Arthritis Rheum* 1988; 31(3): 333-8.
24. Lood C, Allhorn M, Lood R, Gullstrand B, Olin AI, Rönnblom L, Truedsson L, et al. IgG glycan hydrolysis by endoglycosidase S diminishes the proinflammatory properties of immune complexes from patients with systemic lupus erythematosus: a possible new treatment? *Arthritis Rheum* 2012; 64(8): 2698-706.
25. Wuhler M, Porcelijn L, Kapur R, Koeleman CA, Deelder A, de Haas M, Vidarsson G. Regulated glycosylation patterns of IgG during alloimmune responses against human platelet antigens. *J Proteome Res* 2009; 8(2): 450-6.
26. Misbah S, Kuijpers T, van der Heijden J, Grimbacher B, Guzman D, Orange J. Bringing immunoglobulin knowledge up to date: how should we treat today? *Clin Exp Immunol* 2011; 166(1): 16-25.
27. Nimmerjahn F, Ravetch JV. Antibody-mediated modulation of immune responses. *Immunol Rev* 2010; 236: 265-75.
28. Zhou T, Chen Y, Hao L, Zhang Y. DC-SIGN and immunoregulation. *Cell Mol Immunol* 2006; 3: 279-83.
29. Albert H, Collin M, Dudziak D, Ravetch JV, Nimmerjahn F. In vivo enzymatic modulation of IgG glycosylation inhibits autoimmune disease in an IgG subclass-dependent manner. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 15005-09.
30. Anthony RM, Nimmerjahn F, Ashline DJ, Reinhold VN, Paulson JC, et al. Recapitulation of IVIG anti-inflammatory activity with a recombinant IgG Fc. *Science* 2008; 320: 373-6.
31. Guhr T, Bloem J, Derksen NI, Wuhler M, Koenderman AH, Aalberse RC, Rispen T. Enrichment of sialylated IgG by lectin fractionation does not enhance the efficacy of immunoglobulin G in a murine model of immune thrombocytopenia. *PLoS One* 2011; 6(6): e21246.
32. McCulloch J, Zhang YW, Dawson M, Harkiss GD, Peterhans E, Vogt HR, Lydyard PM, et al. Glycosylation of IgG during potentially arthritogenic lentiviral infections. *Rheumatol Int* 1995; 14: 243-8.
33. Rademacher TW, Parekh RB, Dwek RA, Isenberg D, Rook G, Axford JS, Roitt I. The role of IgG glycoforms in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Springer Semin Immunopathol* 1988; 10: 231-49.

34. Glatman-Freedman A. The role of antibodies against tuberculosis. In: Mohd-Nor N, Acosta A, Sarmiento ME (eds.). The art and science of tuberculosis vaccine development. Selangor DurulEhsan, Malaysia. *Oxford FajarSdn* 2010; 81-107.
35. Parekh R, Isenberg D, Rook G, Roitt I, Dwek R, Rademacher T. A Comparative Analysis of Disease-associated Changes in the Galactosylation of Serum IgG. *Journal of Autoimmunity* 1989; 2: 101-14.
36. Olivares N, Puig A, Aguilar D, Moya A, Cádiz A, Otero O, et al. Prophylactic effect of administration of human gamma globulins in a mouse model of tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)* 2009; 89: 218-20.
37. Roy E, Stavropoulos E, Brennan J, Coade S, Grigorieva E, Walker B, et al. Therapeutic efficacy of high-dose intravenous immunoglobulin in Mycobacterium tuberculosis infection in mice. *Infect Immun* 2005; 73: 6101-9.
38. López Y, Yero D, Falero-Diaz G, Olivares N, Sarmiento ME, Sifontes S, et al. Induction of a protective response with an IgA monoclonal antibody against Mycobacterium tuberculosis 16 kDa protein in a model of progressive pulmonary infection. *Int J Med Microbiol* 2009; 6: 447-52.
39. Arzuaga NO, Vila Granda A, JC Ramírez, San Miguel ME, Bourzac JF, Hernández YL, et al. The use of Streptomyces for immunization against mycobacterial infections. *Hum Vaccin* 2011; 7(9): 934-40.
40. Acosta A, Norazmi MN, Sarmiento ME. Antibody mediated immunity-a missed opportunity in the fight against tuberculosis? *Malays J Med Sci* 2010; 17(2): 66-7.
41. Olivares N, Marquina B, Mata D, Zatarain BL, Espitia C, Estrada GI, Parada C, et al. The protective effect in murine tuberculosis is dependent on IgG glycosilation. *Pathog Dis* 2013; 69(3): 176-83.
42. Pradhan V, Patwardhan M, Athavale A, Taushid S, Ghosh K. Mycobacterium tuberculosis triggers autoimmunity? *Indian J Tuberc* 2012; 59(1): 49-5.

Reimpresos:

Dr. Rogelio Hernández-Pando

Departamento de Patología Experimental
 Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición
 Salvador Zubirán
 Vasco de Quiroga, Núm.15
 Col. Sección XVI
 14080, México, D.F.
 Tel.: 5487-0900, Ext. 2194
 Correo electrónico: rhdezpando@hotmail.com

*Recibido el 7 de septiembre 2012.
 Aceptado el 15 de noviembre 2013.*