ANTÍGENS

Comunicació presentada el dia 26 d'abril de 1974
pel doctor

J. GRAS

del Departament d'Investigació de l'Hospital
de Ntra. Sra. del Mar. Barcelona

Són antígens totes les substàncies amb capacitat d'induir la formació d'anticossos o d'una població de cèl·lules específicament sensibilitzades; la unió de l'antigen amb el corresponent anticòs o cèl·lula sensibilitzada, desencadena específicament una sèrie de reaccions d'ordre físico-químic i biològic. Entre les substàncies naturals que presenten aquesta propietat tenim, en primer lloc, les proteïnes i els hidrats de carboni. En l'estudi d'aquesta capacitat hem de diferenciar els factors responsables de l'especificitat i els responsables de la inducció.

Els factors determinants de l'especificitat foren estudiats especialment en els antígens proteics modificant-ne els grups específics, i, amb molta més eficàcia, copulant-los molècules orgàniques amb grups funcionals coneguts. Aquest camí fou iniciat brillantment per LANDSTEINER a començaments de segle. Un exemple molt demostratiu és presentat en el quadre I, en què hom comprova l'efecte de copular, a una proteïna, l'anilina, l'àcid p-aminobenzoic, el p-aminobenzèn sulfònic i el p-amino fenil arsònic. Les proteïnes copulades a aquests radicals donen anticossos que reaccionen específicament enfront dels mateixos radicals copulats a una altra proteïna. L'especificitat arriba a diferenciar l'anilina de tots els altres radicals àcids i també aquests entre ells mateixos. Aquest camí ha estat seguit amb múltiples radicals i, fins i tot, amb antígens totalment sintètics, com ara polímers d'aminoàcids integrats per un nombre diferent dels mateixos aminoàcids o de diferents.

No hi ha dubte que l'especificitat ve determinada per grups funcionals petits o un nombre també petit d'aminoàcids, de l'ordre de tres a cinc. Hom ha demostrat, també, que aquests grups funcionals tenen capacitat d'unir-se aïlladament amb el corresponent anticòs i bloquejar-ne la unió amb l'antigen, però no tenen la capacitat d'induir, per si sols, la

formació d'anticossos. A aquestes molècules, LANDSTEINER [8] els donà el nom d'*haptens*. En les molècules de proteïna o d'hidrats de carboni, els grups funcionals o les parts de molècula que en determinen l'especificitat són coneguts com a *determinants antigènics*; recentment, JERNE ha proposat una nova nomenclatura en què aquests determinants antigènics són

QUADRE 1. — *Efecte de radicals d'àcids forts en l'especificitat de les azoproteïnes*

Antisèrums per a azoproteïnes que contenen:	Antígens de prova: azoproteïnes que contenen:			
	Anilina	Àcid — p amino-benzoic	Àcid — p amino-bencen sulfònic	Àcid — p amino-fenil arsònic
	NH_2	NH_2	NH_2	NH_2
		COOH	SO_3H	AsO_3H_2
Anilina	+++	—	—	—
Àcid — p aminobenzoic	—	+++±	—	—
Àcid — p aminobencen sulfònic	—	—	+++±	—
Àcid — p aminofenil arsònic	—	—	—	++++

denominats *epitops,* i els grups funcionals dels anticossos *paratops*. La majoria de proteïnes presenten diferents determinants antigènics, generalment n'hi ha algun amb major capacitat anomenat *immunodominant*. El nombre de determinants per molècula és petit; el quadre II, de PORTER [13], n'estudia el nombre en diferents proteïnes molt investigades com a antígens.

L'estructura dels determinants antigènics ha estat estudiada desintegrant les proteïnes i examinant la capacitat antigènica i la de reacció amb l'anticòs dels fragments obtinguts. Aquest estudi, l'iniciaren LA-

PRESLE [9, 10] i WEBB amb la seroalbúmina humana, i comprovaren que fragments relativament petits mantenen la capacitat antigènica i l'especificitat. Una proteïna especialment estudiada ha estat la mioglobina. Hom n'ha separat tres o quatre pèptids i ha arribat a la conclusió que la molècula sencera conté un mínim de 4 determinants antigènics. Un d'ells,

QUADRE 2. — *Nombre màxim de molècules d'anticós lligades a una molècula-gram d'antigen*

Antigen	Pes mol.	Nombre d'anticossos lligats
Ribonucleasa	13 000	2,8
Mioglobina	17 000	3
Ovalbúmina	45 000	5
Sero-albúmina	70 000	6
Tiroglobulina	700 000	40

situat a l'extrem C-terminal, ha permès comprovar que si bé el determinant antigènic inclou probablement de 3 a 5 aminoàcids, és important la presència dels aminoàcids adjacents, que permeten mantenir la conformació espacial de la proteïna. Hom ho ha demostrat clarament en altres exemples com en el cas de la ribonucleasa; sotmesa a l'acció d'agents que alliberin ponts disulfurs, dóna lloc a anticossos que no reaccionen amb la ribonucleasa nativa, i els obtinguts per la injecció d'aquesta no ho fan amb la modificada. Estudis similars han estat fets amb la lisozima i la quimotripsina.

Del conjunt d'aquests treballs s'ha arribat a la conclusió que existeixen dos tipus diferents de determinants antigènics en les proteïnes: n'hi ha uns que depenen fonamentalment de la seqüència d'aminoàcids en la cadena polipeptídica o *determinants seqüencials,* i n'hi ha uns altres que depenen de l'estructura secundària o terciària, és a dir, que depenen del plegament de les cadenes i que fins poden ésser integrats per aminoàcids pertanyents a cadenes polipeptídiques diferents, però que, pel plegament en l'espai, es troben situats pròxims; són els *determinants conformacionals.*

També poden existir, a l'interior de la molècula sencera, determinants que no puguin manifestar la seva capacitat, si no és amb la molècula fragmentada o desnaturalitzada; són els *determinants ocluïts.*

Un altre punt interessant és el nombre de determinants antigènics de diferent especificitat que pot contenir un antigen i el nombre, petit o gran, de determinants d'una mateixa especificitat. Les proteïnes con-

tenen, en general, determinants de diferent especificitat, però el nombre de cadascun és petit o únic; són *antígens poliespecífics i oligo- o univalents.* Un exemple d'antígens amb disposició inversa de determinants antigènics, és a dir, *oligoespecífics i multivalents,* són els vírics. Per exemple (fig. 1) el virus del mosaic del tabac és constituït per un cos central de RNA cobert per una proteïna integrada per 2.130 polipèptids iguals,

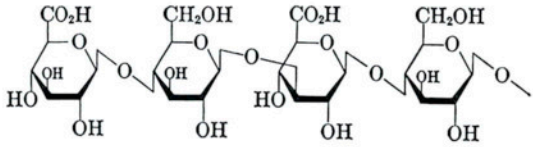

FIG. 2. — Àcid aldobiurònic, unitat fonamental del carbohidrat capsular del Neumococ tipus III (HEIDELBERGEN i GOEBEL, 1927, REEVES i GOEBEL, 1941).

és a dir, en un nombre molt gran, multivalent, d'un mateix determinant específic. Els hidrats de carboni són antígens d'aquest darrer model, és a dir, que contenen múltiples determinants antigènics d'una mateixa especificitat, com, per exemple, els polisacàrids de les càpsules dels neumococs (fig. 2) o de les parets bacterianes (fig. 3). El fet de la multivalència d'un

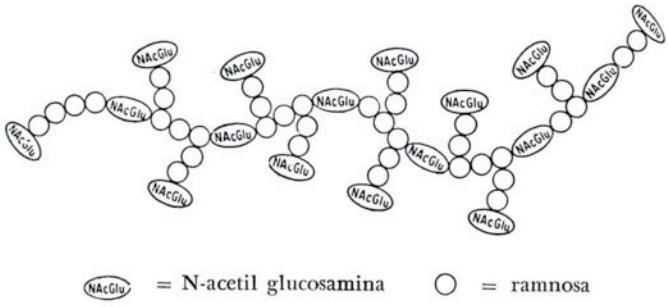

FIG. 3. — Esquema de l'estructura del carbohidrat antigen de la paret cel·lular de l'estreptococ de Grup A. (KRAUSE, 1963).

determinant sembla que és important en relació amb la seva major o menor capacitat de desencadenar la resposta en anticossos; en general, aquesta capacitat seria superior en augmentar la València.

L'existència dels determinants antigènics per si sols no confereix a una molècula la capacitat antigènica. Aquesta depèn d'altres factors, alguns d'ells intrínsecs a la pròpia molècula i d'altres depenen de l'animal

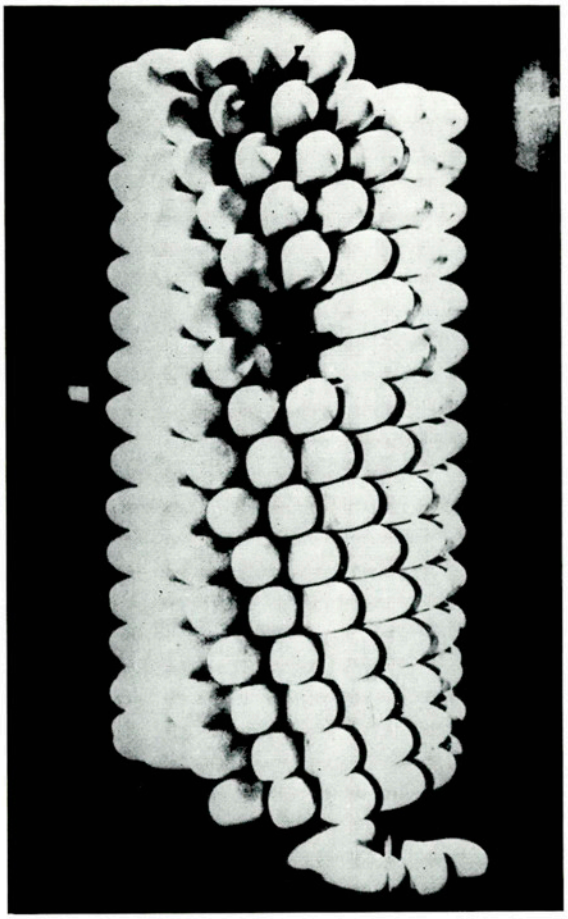

FIG. 1. — Model de la disposició estructural de les subunitat del virus del mosaic del tabac presentat per FRAENKEL CONRAT el 1965. Correspon a un nucli central de RNA i una coberta integrada per 2.130 unitats polipèptiques.

al qual s'introdueixen, és a dir, extrínsecs a dita molècula (quadre III). Entre els intrínsecs tenim:

QUADRE 3. — *Característiques que determinen la capacitat antigènica o immunogenicitat*

I. — Intrínseques.

a) Volum molecular.
b) Conformació molecular.
c) Grau de sensibilitat als mecanismes catabolitzants.

II. — Extrínseques.

a) Relacions d'espècie entre animal del qual procedeix l'antigen i l'animal al qual s'injecta.
b) Factors genètics.

a) El volum molecular. La majoria de molècules que presenten fàcilment capacitat antigènica són de pes molecular superior a 10.000 i aquesta capacitat sembla guardar relació amb el pes molecular. Per exemple, les hemocianines, amb pesos moleculars elevats, són bons antígens, la globulina gamma G de pes molecular 169.000 és més antigènica que l'albúmina, de pes molecular 69.000. La flagelina, proteïna aïllada dels flagels de les *Salmonella,* d'un pes molecular de 40.000, té capacitat antigènica, però molt més en forma polimeritzada. Al contrari, un fragment aïllat, té poca capacitat antigènica. L'acció del volum pot dependre de la repetició dels determinants antigènics. Així, si la flagelina no es polimeritza en forma linial sinó que s'agrega a l'atzar, és molt menys antigènica (PARISH, citat per NOSSAL [12]). No obstant això, hom ha demostrat que proteïnes amb pesos moleculars més petits, com la ribonucleasa (pM ~ 15.000), i un fragment de la seroalbúmina (pM 6.600), o polímers d'aminoàcids amb pesos moleculars de 4.000 a 6.000, tenen capacitat antigènica; en aquests casos, generalment són poc antigènics i la seva capacitat augmenta injectant-los amb adjuvants o units a partícules de làtex.

b) L'estructura molecular. Una certa rigidesa del determinant antigènic o de la porció molecular que el conté, sembla necessària per a conferir-li la capacitat antigènica. Això explicaria la gran capacitat antigènica que confereix l'anell aromàtic en els determinants que el contenen, com en els exemples que abans hem emprat (anilina, p-aminobenzoic, p-aminofenil arsònic i p-amino-benzèn-sulfònic) o els anells de l'histidina, triptofan i tirosina. La gelatina és molt poc antigènica i no té una estructura fixa; la incorporació de tirosina o triptofan li

confereix antigenicitat, la qual cosa pot atribuir-se, entre d'altres possibilitats, al fet que n'augmenten la rigidesa molecular, ja que l'addició d'aminoàcids sense anells aromàtics no l'augmenta. També hem vist com, encara que el determinant antigènic sigui constituït només per 3 a 5 aminoàcids, la seva capacitat antigènica és molt millor quan queden molts més residus de la cadena polipeptídica. Això pot explicar la no antigenicitat dels àcids grassos de cadena llarga, que no presenten una estructura rígida.

c) Grau de sensibilitat als mecanismes catabolitzants. Si bé no d'una manera absoluta, la facilitat amb què una molècula d'antigen és catabolitzada influeix en la seva capacitat antigènica. Pot servir d'exemple el cas de l'albúmina i la globulina gamma plasmàtiques. Per diferents mètodes, hom ha demostrat que l'albúmina es reté molt menys temps intracel·lularment que la globulina gamma i, al nostre laboratori, hem comprovat clarament que la primera és molt més fàcilment proteolitzada per les catepsines intracel·lulars; l'albúmina és menys antigènica que la globulina gamma. La falta de catabolització i la llarga persistència de l'antigen pot conduir amb facilitat a la paràlisi immunològica. Els polisacàrids neumocòcics són un exemple típic d'aquesta situació. Els polímers dels D-aminoàcids, que són difícilment metabolitzables, són menys antigènics que els L-polímers, que són molt més fàcilment metabolitzables, si bé, en aquest cas, el factor fonamental pot dependre del fet que els D-aminoàcids no són components normals de proteïnes.

Entre els factors extrínsecs que determinen la capacitat d'un antigen per a induir una resporta, tenim:

a) Les relacions d'espècie entre l'animal del qual procedeix l'antigen i l'animal al qual s'introdueix. Els antígens propis no indueixen, generalment, resposta immunològica i aquesta és més intensa com més allunyades siguin les relacions d'espècie. El fet de la no resposta enfront dels antígens propis ha estat explicat, a partir de Burnet, que postulà l'existència d'un mecanisme de diferenciació entre el «propi» i el «no propi». També pot ésser explicat com depenent d'un mecanisme de tolerància, és a dir, com postulem nosaltres, d'un mecanisme d'homeostasi immunològica antigen dependent.

b) Factors genètics. La resposta a un determinat o determinats antígens, dintre d'una mateixa espècie, depèn de factors genètics. L'acció d'aquets factors pot ésser expressada a diferents nivells. A nivell de la intensitat de la resposta ha estat estudiat per Biozzi i cols.[3] enfront de la resposta als glòbuls roigs de be. Partint d'una població de ratolins blancs molt heterogènia, en seleccionaren 5 o 6 parelles

que presentaven la resposta mínima i 5 o 6 parelles amb els títols màxims; a partir d'aquestes, començaren la selecció genètica i arribaren a obtenir, a partir de la 18.ª generació, dues poblacions netament diferents quant a la resposta als hematies de be, una amb «bona resposta» i una altra amb «resposta dolenta»; això comprova que aquesta diferència es manifesta fenotípicament a nivell de les cèl·lules B, és a dir, de les productores d'anticossos.

La influència de factors genètics en la resposta immunològica ha estat comprovada a un nivell diferent per BENACERRAF i cols. [2] en el cobai. Utilitzant dos llinatges purs de cobais, el 2 i el 13, i estudiant la resposta a polímers i copolímers sintètics d'aminoàcids. Demostren l'existència d'un gen que controla la resposta, especialment a la poli-L-lisina; aquest gen es troba en el llinatge 2, però no en el 13 L'expressen com a gen I i està lligat a gens que controlen antígens d'histocompatibilitat.

En síntesi, per tant, el fet que una molècula determinada pugui induir una resposta immunològica depèn de característiques intrínseques de la pròpia molècula que en determinen la capacitat potencial o *antigenicitat,* i de factors extrínsecs, que en condicionen la capacitat real per donar lloc a aquesta resposta en una espècie determinada o *immunogenicitat.*

Aquests darrers anys, hom ha obtingut dades a favor de l'afirmació que la immunogenicitat pot dependre, també, del fet que la molècula antigènica tingui, a més dels determinants antigènics, grups amb capacitat mitogènica com, per exemple, els polianions

BIBLIOGRAFIA

1. AMKRAUT, A. A., MALLEY, A. i BEGLEY, D. — *Immunogenicity of hemocyanine and their subunit.* «J. Immunol.», *103,* 1301 (1969).
2. BENACERRAF, B. — *The genetic mechanism that control the immune-response and antigen recognition.* «Ann. Immunol.», *125c,* 143 (1974).
3. BIOZZI, G., STIFFEL, D., MOUTON, D., BOUTILLIER, I. i DEERENSEFOND, C. — *La régulation génétique de la synthèse des immunoglobulines au cours de la réponse immunologique.* «Ann. immunol.» *125,* 107 (1974).
4. BROWN, R. K. — *Studies on the antigenic structure of ribonuclease.* «J. biol. Chem.», *237,* 1162 (1962).
5. BROWN, R. K., DELANEY, R., LEVINE, L. i VAN UNNAKIS, N. — *Studies on the antigenic structure of tribonuclease. I. General role of hydrogen and disulphide bons.* «J. biol. Chem», *243,* 2043 (1959).
6. CAMPBELL, J. S. i GARVEY, J. S. — *Nature of retained antigen and its role in immune mechanisms.* «Adv. Immunol.», *3,* 261 (1963).
7. GRAS, J., TUSET, N. i FONALLEDA, M. A. — *Aspectes immunològics del catabolisme de l'antigen.* «Treballs Soc. Cat. Biol.», *38,* 113 (1968).
8. LANDSTEINER, K. — *The specifity of serological reactions.* Harvard University Press. Cambridge. Mass. (1945.)

9. LAPRESLE, C. — *Étude de la dégradation de la sérum-albumine humaine, par un extrait de rate de lapin. II. Mise en évidence de trois groupements spécifiques différents dans le motif antigénique de l'albumine.* «Ann. Inst. Pasteur», *89*, 654 (1955).
10. LAPRESLE, C. i GOLDSTEIN, I. S. — *Immunogenicity of a fragment of human serum albumin.* «J. Immunol.», *102*, 733 (1969).
11. LEVINE, B. B. i BENACERRAF, B. — *Studies on antigenicity. The relationship between in vivo and in vitro enzymetric dependability of hapten polylysin conjugates and their antigenicities in Guinea pigs.* «J. exp. Med.», *20*, 955 (1964).
12. NOSSAL, G. J. V. i ADA, L. — *Antigens, lymphoid cells, and the immune response.* Academic Press. New York (1971).
13. PORTER, R. R. — *Base structurale de l'antigénicité.* A «L'antigénicité», 21. Edit. per B. Halpern. Flammarion. París, 1963.
14. SELA, M. — *Immunological studies with synthetic polypeptides.* Adv. Immunol., *5*, 29 (1966).