

SISTEMA INMUNE INTESTINAL PORCINO

MARCO ANTONIO VEGA LÓPEZ

*Departamento de Inmunología CENID-Microbiología
Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y
Agropecuarias*

*Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos Km.
15 1/2 Carretera México- Toluca,
Palo Alto, 05110, México, D.F.*

I. Introducción	146
II. Sistema inmune intestinal	147
1. Mecanismos inespecíficos de defensa en el intestino	148
2. Mecanismos de defensa específicos en el intestino	149
a). Inmunoglobulinas	149
b). Células del sistema inmune intestinal.....	150
III. Desarrollo del sistema inmune intestinal	151
1. Distribución de células en el intestino	151
a). Linfocitos en la lamina propia intestinal del cerdo adulto	152
b). Desarrollo de células Ten la lamina propia	153
c). Linfocitos intraepiteliales en el cerdo adulto... ..	154
d).Linfocitos intraepiteliales en el lechón	155
2.Células accesorias	155
a). Macrófagos intestinales en el cerdo adulto	155
b). Macrófagos intestinales después del nacimiento	156

3. Antígenos inducibles	156
a). Células clase II+ en cerdos adultos	156
b). Desarrollo de células clase II+	157
c). Células con receptor para IL-2 en cerdos adultos	158
d). Desarrollo de células con receptor para IL-2R+	159
IV. Mecanismo de activación del sistema inmune intestinal.....	160
V. Conclusiones	161
Referencias	168

I. Introducción

El tejido linfoide asociado a intestino (GALT por sus siglas en inglés) es una de las partes del tejido linfoide asociado a mucosas (MALT). Veinticinco por ciento de la mucosa intestinal está compuesta por tejido linfoide (1). Se estima que existen alrededor de 10^{10} células productoras de anticuerpo por metro de intestino delgado (2), por 10 que, en seres humanos, su densidad va de 500,000 a un millón de células por cm^2 (3). Esto hace al intestino el órgano con mayor densidad de células inmunes del organismo, superando la cantidad total de células linfoides de los ganglios linfáticos, bazo y médula ósea en conjunto, por 10 que sus funciones inmunes son tan importantes como las digestivas.

La inducción de la respuesta inmune requiere del procesamiento y la presentación de los antígenos a los linfocitos T cooperadores (CD4^+) por células accesorias (CPA) que expresen en su superficie moléculas del Complejo Principal de Histocompatibilidad. Después de la presentación antigénica, las células T se activan expresando en su superficie receptores para interleucina 2; luego, secretan diversas citocinas. La

relación anatómica entre las CPA, los linfocitos T y las células así activadas proporciona información clave en la elucidación de los sitios de contacto del sistema inmune con el antígeno. A pesar de los múltiples estudios realizados en el sistema inmune porcino, existe poca información acerca de la microanatomía del sistema inmune intestinal en la lámina propia.

El entendimiento de los mecanismos de regulación de las respuestas inmunes mucosales, la identificación de los probables sitios de contacto entre las células del sistema inmune y la naturaleza de dicho contacto, así como la relación que se establece con el antígeno, son conocimientos esenciales para el diseño y desarrollo de vacunas y terapéuticos más específicos y efectivos, así como para la comprensión de los problemas generados por la regulación alterada de los mecanismos inmunes que dan lugar a patologías por intolerancia, tan importantes en seres humanos y animales. En este trabajo se describe la distribución de los componentes celulares del sistema inmune intestinal porcino, como un paso previo en el entendimiento de la inducción y regulación de las respuestas inmunes mucosales.

II. Sistema Inmune Intestinal

El sistema inmune mucosal en el intestino desempeña una función doble. Por una parte, debe identificar nutrimentos inocuos y suprimir cualquier respuesta inmune sistémica que pudiera generarse en contra de ellos (4). Por otra parte, debe reaccionar vigorosamente para excluir cualquier invasión por virus, bacterias, parásitos y hongos (5). Esta tarea de selección sólo puede efectuarse después de la eliminación de la mayoría del material de desafío por los procesos de digestión y de defensa inespecíficos (6, 7).

1. Mecanismos inespecíficos de defensa en el intestino

La barrera mucosal posee mecanismos no inmunes que trabajan independientemente y en conjunción con el sistema inmune local. Su función principal es evitar la adhesión y penetración de antígenos (Ags) y fragmentos presentes en el lumen intestinal (8). Esos mecanismos inespecíficos incluyen una amplia gama de barreras físicas (fluidos, motilidad, epitelio, moco), químicas (secreciones, enzimas, pH, ácidos grasos) y biológicas (microflora). La mayoría de las funciones de esas barreras son bien conocidas, pero algunas no han sido muy estudiadas. Por ejemplo, se postula que la mayor susceptibilidad de los neonatos a infecciones entéricas podría deberse a diferencias en la composición química de la membrana de las microvellosidades de los enterocitos. Una relación baja de proteínas/lípidos en la membrana, incrementaría su fluidez y podría permitir una mayor penetración y paso de Ags o toxinas (9,10). Asimismo una reducción en la capacidad de glucosilación de la membrana, en recién nacidos, permitiría la aparición de carbohidratos distintos a los normales en la superficie de las microvellosidades, 10 que podría explicar el aumento en la adhesión de bacterias, toxinas y Ags (9).

El grosor (aproximadamente 450 μm) así como la composición del moco que cubre las microvellosidades, contribuyen a la defensa de la superficie mucosal contra la adherencia y penetración de Ags (11). Sus funciones incluyen la de actuar como barrera física para la difusión de Ags, como filtro polimérico seleccionando el tamaño de las partículas antigénicas, bloqueando los receptores de los microorganismos con carbohidratos similares a los encontrados en las microvellosidades (12) y actuando sinérgicamente con inmunoglobulinas de secreciones (IgA, IgM) en un proceso denominado "exclusión inmune" (7, 8,13). Se ha demostrado

que la composición de este moco en animales neonatos tiene una menor relación molar de carbohidratos/proteína y cantidades disminuidas de fucosa y n-acetilgalactosamina, lo que posiblemente limita la defensa superficial contra agentes nocivos (14).

2. Mecanismos de defensa específicos en el intestino

El epitelio intestinal es una barrera permeable que permite el paso de sustancias externas. La mayoría de esas sustancias no provocan una respuesta inmune debido a su tamaño pequeño y baja antigenicidad. Las barreras humoral, celular y mecánica reducen la absorción de Ags no digeridos, pero aun así, cantidades inmunológicamente significativas se absorben a través del epitelio y de las células M de las Placas de Peyer (PP) (15).

a). Inmunoglobulinas

Las IgA secretadas en la mucosa pueden limitar la toma de Ag al bloquear su adsorción al enterocito, lo que prolonga su estancia en el lumen y potencia su proteólisis (exclusión inmune) (16). La importancia de esta inmunoglobulina se manifiesta porque su producción, en un individuo, es mayor que la de todos los demás isotipos (17). El lechón recién nacido recibe la protección pasiva de la madre a través de las inmunoglobulinas del calostro y leche, y la IgA es el isotipo más abundante en la leche.

La IgG y la IgM también son sintetizadas en el intestino. La IgM es la principal inmunoglobulina secretoria en animales jóvenes (18). La IgG es importante en roedores y rumiantes, aunque en otros mamíferos la IgG es sólo un componente menor en las secreciones intestinales, al parecer producto de la trasudación de suero, o la producción local por células presentes en la Lamina Propia (LP) intestinal. La IgG podría

ser importante en la patogénesis de procesos inflamatorios que pueden producir daño intestinal (activación del complemento, opsonización y citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos) (13). Otra inmunoglobulina importante en el intestino es la IgE, que se encuentra asociada a las células cebadas en la LP. Su importancia radica en la protección contra infestaciones parasitarias y en la regulación y amplificación de la respuesta inmune local (19). Las reacciones de hipersensibilidad mediadas por IgE pueden ser una causa importante de problemas intestinales (20). Por ejemplo, al destete, el lechón recibe una cantidad masiva de nuevos Ags y su regulación inmune local puede ser deficiente a esa edad. Estas dos circunstancias, en conjunto, pueden producir una reacción de hipersensibilidad a Ags de la dieta (16). Se sabe que estas reacciones existen y que su duración no va más allá de los diez días, pues son autolimitantes (21). Sin embargo, en ese periodo, el animal es mas vulnerable a las infecciones oportunistas.

b). células del sistema inmune intestinal

Linfocitos y Células Plasmáticas (CP), Macrófagos (Mo), eosinófilos, células cebadas y varios tipos de Células Presentadoras de Ag (CPA) pueblan el tejido conectivo de la Lamina Propia (LP) intestinal. Ciertos linfocitos también se encuentran entre las células epiteliales del intestino (Linfocitos Intraepiteliales o LIE) (22). Además, grupos de nódulos linfoides organizados (placas de Peyer, agregados linfoides), así como folículos linfoides dispersos, se encuentran a lo largo del tracto intestinal. Los linfocitos y las CP en la LP están separados del contacto con el contenido intestinal por las células epiteliales y la membrana basal. En cambio, los LIE están separados de los Ags del lumen intestinal únicamente por las uniones de los enterocitos. Las células linfoides de las Placas de Peyer (PP) están separadas del lumen intestinal por un epitelio especializado que contiene células membranosas (M)

fagocíticas, que forman una delgada capa entre los linfocitos y el lumen intestinal (23).

III. Desarrollo del Sistema Inmune Intestinal

1. Distribución de células en el intestino

La LP del intestino delgado contiene una de las acumulaciones más grandes de células del sistema inmune. Por lo general se le considera como un sitio de almacenamiento de células efectoras de "memoria", pero aún no se realiza un análisis preciso y detallado de su función. Esto se debe a las dificultades en el aislamiento de las células intestinales y en su enumeración *in situ*. Por ello, se recurre a la ayuda de computadoras que permiten un análisis preciso y cuantitativo. Entre las ventajas de realizar estudios cuantitativos está la posibilidad de hacer comparaciones entre muestras, individuos y grupos, lo que evita las estimaciones subjetivas de áreas y proporciones. El programa de la computadora permite el cálculo exacto del área de la LP intestinal bajo observación, descartando la ocupada por los epitelios glandular e intestinal y dando un resultado más confiable que puede expresarse como "densidad de células", es decir, el número de células por unidad de área (células/mm²). Por medio de esta técnica, junto con la detección de marcadores de superficie celular por inmunohistoquímica, ha sido posible comprobar que, al menos en el cerdo, el concepto generalmente aceptado de células distribuidas homogéneamente en la LP intestinal carece de fundamento (25). Es evidente que hay una distribución especial de células en la lámina propia. Algunas se concentran en las vellosidades (CD2, clase II del CPR, CD4 y CDS), mientras que otras aparecen más a menudo en la LP que rodea las criptas (*Mo/PMN*, células Ig+).

a). Linfocitos en la lamina propia intestinal del cerdo adulto

El análisis de la densidad de células en la LP del intestino delgado de cerdos convencionales de 6 meses de edad, hace evidente las marcadas diferencias de distribución entre las vellosidades y las criptas. La mayoría de los linfocitos T (CD2) se encuentran en las vellosidades y la diferencia en número con las criptas es altamente significativa ($p < 0.001$). Aun cuando la densidad de células CD2+ en las criptas fue inferior a la encontrada en las vellosidades, representan una población numéricamente importante en criptas (25).

Dentro de las células CD2+, las subpoblaciones de células CD4 (linfocitos T cooperadores) y CDS (linfocitos T supresores/citotóxicos) ocuparon sitios diferentes en las vellosidades. La mayoría de las células CDS+ se encontró alrededor de la membrana basal, mientras que la mayor parte de las células CD4+ se localizó hacia la parte central de la LP de la vellosidad, alrededor del vaso quilífero. La relación CD4/CDS en vellosidades es menor de uno (incluyendo los LIE). En cambio, en las criptas, esta relación alcanzó valores de 1.6; e110 indicó que la distribución de estas subpoblaciones debe estar relacionada con su función, es decir, que actividades supresoras/ citotóxicas son más probables en las vellosidades. En cambio las funciones cooperadoras/inductoras prevalecen en las criptas. Del total de células CD2+ en las vellosidades, hasta el 55% en duodeno (59% en íleon) se detectan en el compartimiento intraepitelial. Las células CDS+ se localizan en la zona de contacto antigénico (la membrana basal), en posición óptima para regular la respuesta hacia antígenos inocuos absorbidos. Por otro lado, las células cooperadoras/inductoras (CD4+) se encuentran en sitios más profundos en la LP, con menor contacto antigénico, lo que evitaría reacciones exageradas a antígenos de la dieta. Sin embargo, si el antígeno

representa un peligro para el tejido, estarían disponibles para actuar (25).

b). Desarrollo de células Ten la lamina propia

Los lechones recién nacidos poseen todas las células necesarias para montar una respuesta inmune en el intestino. Existen linfocitos T, Mo/PMN y células con alta expresión de antígenos de clase II del Complejo Principal de Histocompatibilidad (CPR), aunque todas presentes en reducido número a esta edad. La distribución celular no parece conformar un patrón definido como el descrito en animales mayores, ya que se encuentran números similares de células en las vellosidades y las criptas. Esto sugiere que el estímulo antigénico podría ser esencial para alcanzar la arquitectura organizada de la LP.

La mayoría de linfocitos Ten la LP del recién nacido se localiza en el epitelio y carece de los marcadores CD4 o CDS (doble negativas) (27). Esta población de células doble negativas (CD2+CD4-CD8-) se ha descrito en la circulación sanguínea del cerdo adulto (24) y, recientemente, en intestino porcino (26), pero se desconoce su función en el sistema inmune.

A la semana de edad, las células comienzan a distribuirse diferencialmente en las vellosidades y las criptas. Un rasgo interesante es que la densidad de células en las vellosidades aumenta con la edad, pero se mantiene constante en las criptas (Figura 1) (27). Así, el mecanismo de llegada y retención de los linfocitos T en esas zonas parece estar influenciado por la carga antigénica del lumen intestinal.

En estimaciones cualitativas de las subpoblaciones de células CD4 y CD8, se observa que a la semana de edad hay un aumento repentino de células CD4+ en la LP. Esas células muestran tendencia para localizarse en la parte central de las vellosidades, cerca del vaso quilífero. En contraste, las células CD8+ no son detectables sino hasta las 4 ó 5 semanas de edad

en animales sin destetar, o hasta los cuatro días posdestete en animales destetados alas tres semanas (27). En ambos casos se encuentran números bajos de células CD8+, mostrando localización preferencial por el epitelio, sobre todo en animales destetados. Los linfocitos CD2 aumentan Constantemente después del nacimiento; luego podría concluirse que ese incremento se debe alas células CD4. Sin embargo, debe establecerse que también podría tratarse de células doble negativas o de células con expresión baja de CD8. Se desconoce la importancia de estos hallazgos, mas la aparente incapacidad de lechón para montar respuestas inmunes eficientes, así como la mayor propensión para desarrollar reacciones de hipersensibilidad encontrada en animales jóvenes y muy pequeños de edad (7, 14, 16 y 28), podría explicarse parcialmente por esta ausencia de células CD8+ (29). Además, el cociente CD4/CD8 en animales jóvenes esta alterado; esto podría traducirse en una pobre o inmadura regulación inmune (27).

c). Linfocitos intraepiteliales en el cerda adulto

La mayoría de los LIE en cerdos adultos expresan el marcador CD2, pero algunos otros aparentemente no expresan marcadores de linfocitos T (¿células nulas?) (24). Esta población de células nulas está presente cerca del lumen intestinal (zona apical de los enterocitos), por lo que se podría tratar de células en proceso de extrusión. Su función e importancia son desconocidos, pero se sugiere que son una subpoblación de células en fase terminal de diferenciación (30), programada para morir. Al menos se han identificado dos subpoblaciones de LIE CD2+. Una de ellas tiene el fenotipo CD2+CD4-CD8(doble negativa). La otra subpoblación de LIE se concentra en la membrana basal del epitelio y expresa el fenotipo CD2+CD4-CD8+ (25). Su papel en el sistema inmune mucosal es controversial, pero es posible su efecto regulador en el establecimiento de supresión de la respuesta inmune (31).

Esta distribución de células puede ser explicada únicamente por patrones de migración específicos. La entrada de células, su retención y salida del tejido deben estar reguladas por la expresión diferencial de receptores hacia moléculas del medio (adhesinas, adresinas, etcétera). Quizá la estructura de la membrana basal, que contiene colágena de tipo IV y laminina (32), puede dirigir dichas células a ese sitio. Se sugiere que la presencia de estas células en tejidos linfoides podría indicar cierta función del marcador CD2 en su ecotaxia ("homing") (24).

d). Linfocitos intraepiteliales en el lechón

Muchos LIE aparecen en el intestino del lechón durante el desarrollo; la mayoría muestra el fenotipo de células doble negativas. Su proporción, dentro del total de la población de células CD2+, aumenta de menos del 40%, al nacimiento, a más del 50%, a las 7 semanas de edad, en las vellosidades duodenales ($P < 0.001$), y hasta cerca de 65% en íleon ($P < 0.0001$) (27). A esa edad algunos LIE también expresan el marcador CD8. Debido al papel desconocido de los LIE en el sistema inmune local, es difícil concluir acerca de la significancia de estos hallazgos, aunque se sugieren actividades reguladoras (31) y citotóxicas (33) de estas células.

2. *Células accesorias*

a). Macrófagos intestinales en el cerdo adulto

Este tipo de células se encuentra presente en la LP intestinal, aunque en número muy inferior a las células CD2+. Hay más macrófagos en íleon que en el duodeno y las criptas mostraron mayor densidad de células que las vellosidades (Figura 2) (25). Este tipo de células, al ser activado, es capaz de expresar antígenos de clase II y receptores para IL-2 en su superficie, (34,35). Se ha demostrado (25) que hasta 30% de los Mo/PMN

de la LP de las criptas intestinales expresan el receptor para IL-2. En contraste, la mayoría de macrófagos intestinales no expresa antígenos de clase II. Los macrófagos se distribuyen en el intestino de manera semejante a las células productoras de inmunoglobulinas (36, 37). La función de estas células parece concretarse a la "limpieza" de los restos celulares de las células plasmáticas que abundan en las criptas, aunque es posible que se trate de un reservorio de células listas para actuar como barrera de defensa y en el procesamiento y presentación de antígeno, después de ser activadas por linfocitos T.

b). Macrófagos intestinales después del nacimiento

Las células Mo/PMN + se encuentran en el intestino del cerdo al nacer. Casi todas se localizan en las criptas y en mayor número en el íleon, siendo su distribución diferente a la de las células clase II +. Esta localización diferencial sugiere diversas funciones para ambos tipos de células (27). En las criptas, la llegada de antígeno es menos probable, por lo que su acción como Células Presentadoras de Antígeno (CPA) no es plausible.

3. Antígenos inducibles

a). Células clase II+ en cerdos adultos

El CPH porcino se ha estudiado con detalle (45). Dentro de los antígenos de clase II se han demostrado alelos para DR y DQ. Dichos antígenos pueden ser expresados por diferentes células; en el cerdo, se informa su expresión constitutiva en linfocitos T (45). La importancia de los Ags de clase II en la respuesta inmune, estriba en su capacidad de "retener" el determinante antigénico exógeno en la superficie de la CPA, para su presentación al linfocito CD4. La expresión de antígenos de clase II en la LP intestinal se limita a células con morfología

dendrítica, localizadas debajo de la membrana basal de las vellosidades y en algunas áreas cerca del epitelio glandular de las criptas (25).

Células DQw+ fueron detectadas en las vellosidades en mayor número que en las criptas ($P < 0.01$), con densidades similares en duodeno e ileon (Figura 3). Esas células parecen ocupar una posición intermedia entre los linfocitos CD4+ de la LP y los CD8+ de la membrana basal (25). Tal distribución es similar a la descrita en otras especies (29, 46, 47). La morfología dendrítica y la fuerte expresión de antígenos de clase II, hacen de estas células los candidatos más probables para la presentación antigénica. Las células clase II + ocupan un lugar diferente al de los Mo/PMN. Las primeras se localizan bajo la membrana basal de las vellosidades y las segundas en la LP de las criptas y la base de las vellosidades.

A diferencia de los hallazgos en roedores (46) y seres humanos (46, 48), el epitelio intestinal en el cerdo no expresa antígenos de clase II (25). Aun así, la expresión constitutiva de antígenos de clase I puede ser importante en la activación de células CD8 para generar respuestas citotóxicas. Entonces, incluso cuando la expresión de antígenos de clase II parece limitarse a células con morfología dendrítica y, quizá, a células CD4 en la LP, la respuesta inmune intestinal puede producirse por vías alternativas. En este contexto, se enfatiza que todos los elementos necesarios están presentes en la LP.

b). Desarrollo de células clase II+

Al nacimiento, es posible detectar células clase II+ en el intestino del cerdo, las que aumentan significativamente con la edad (Figura 3) (27). Morfológicamente, estas células parecen dendríticas o interdigitales, con largos y sinuosos procesos citoplasmáticos. Al nacimiento su distribución es homogénea; al madurar el intestino, su distribución se modifica encontrándose más células en las vellosidades, mientras que

en las criptas su número permanece constante. Como en las otras subpoblaciones celulares, su mayor densidad se encuentra a las 5 semanas de edad. Al parecer, el estímulo antigénico dirige a estas células a concentrarse en las vellosidades. La expresión de antígenos de clase II por el epitelio intestinal no pudo demostrarse a ninguna edad, por lo que la superficie epitelial podría no estar involucrada en la presentación antigénica.

c). Células con receptor para IL-2 en cerdos adultos

Los antígenos de activación celular incluyen los de clase II y al receptor de IL-2. Este último puede ser expresado por varios tipos de células, entre las que se incluyen linfocitos T y B y células accesorias (38). El receptor para IL-2 es un heterodímero glucoproteínico de superficie celular. Cuando sus dos subunidades (alfa y beta) se unen, se convierte en un receptor de alta afinidad (39, 40). Su presencia sobre la superficie celular en linfocitos y Mo, se considera como indicio de activación reciente después de la estimulación con el antígeno y la coestimulación con IL-1 e IL-2 (35, 41). Su expresión sobre la célula como heterodímero es transitoria y dura alrededor de una semana sin reestimulación (42).

El número de células IL-2R+ en LP intestinal es relativamente bajo (Figura 4). Su distribución es más bien homogénea, lo que concuerda con la idea de que este marcador puede ser expresado por varios tipos de células. La proporción de estas células en el total de células de la LP de los animales de 6 meses es muy baja (25). En animales jóvenes, la proporción de células activadas es relativamente alta, pero, al aumentar la infiltración del intestino con otras células, esta proporción disminuye con rapidez, aun cuando el número absoluto de células IL-2R+ permanece constante (27). De modo interesante, el desafío antigénico, como el que ocurre al desmante, no altera de manera apreciable la densidad de células positivas; lo

anterior sugiere que podría tratarse de una población de células independiente de antígeno, como en el caso de células en diferenciación o maduración terminal (27).

d). Desarrollo de células con receptor para IL-2R+

Al nacimiento, muchas células expresan el receptor para IL-2, aun cuando el ambiente uterino es estéril (no hay estimulación antigénica externa). Estas células se distribuyen homogéneamente en la LP y algunas se encuentran en el epitelio. Su morfología es blastoide, con gran núcleo y abundante citoplasma. Estímulos maternos (¿antígenos de histocompatibilidad?) podrían provocar la activación de estas células, pero la placentación epiteliochorial que separa el feto de la madre hace remota esta posibilidad. La expresión constitutiva del receptor en una subpoblación especial de células es otra posibilidad, aunque difícil de entender en ausencia de estimulación antigénica. Por otra parte, sería posible que dichas células estén bajo un proceso de diferenciación, como el que ocurre a los linfocitos T en timo, donde expresan el receptor para IL-2 temporalmente, antes de su diferenciación final en células CD4 y CD8 (43). En el caso de LIE, el intestino ha sido propuesto como el órgano de diferenciación (30, 44).

Incluso después de la exposición a un ambiente altamente contaminado como es el caso del des tete, la densidad de células IL-2R+ no cambia de manera drástica (27). La expresión temporal de este marcador podría explicar parcialmente tales hallazgos o, como se dijo antes, se trata de células independientes del estímulo antigénico, en proceso de diferenciación. Si éste fuera el caso, esas células deben permanecer constantes en número en la LP, pero su proporción en la población celular total del intestino debe disminuir con el tiempo, como se ha observado (27).

IV. Mecanismo de Activación del Sistema Inmune Intestinal

La activación del sistema inmune intestinal se resume en cinco pasos fundamentales:

1. El Ag es tomado por el epitelio intestinal y por el epitelio especializado de las PP.
2. El Ag es presentado a los linfocitos T por las CPA, que expresan en su superficie Ags de clase II del CPR.
3. Los linfocitos T activados (PT4 y PT8) liberan factores inmunorreguladores (linfocinas), para iniciar y expandir la respuesta inmune específica para el Ag. Se generan células inductoras de linfocitos B alfa (productores de IgA) y supresoras para los demás isotipos.
4. Las células "vírgenes" (que nunca han estado en contacto con el Ag) reciben sus "primeras señales" de los linfocitos T activados en el micromedio ambiente de la LP o las PP. Estas células "vírgenes" se activan, esto es, proliferan e inician su emigración a través de la linfa y sangre periférica para, finalmente, alojarse en diversos tejidos mucosales (glándula mamaria, árbol respiratorio, LP intestinal) como células de "memoria".
5. Las células de "memoria" en reposo que reciben una "segunda señal" (nuevo contacto antigénico) sufren su diferenciación final y se convierten en células efectoras, Ag específicas, bajo la regulación de células T. En el caso de los linfocitos B, esto significa su diferenciación en células plasmáticas productoras de anticuerpos. Los linfocitos T darán lugar a células efectoras que pueden ser citotóxicas o reguladoras (supresoras o cooperadoras).

V. Conclusiones

La distribución selectiva de células en el intestino del cerdo, claramente desafía la noción de que los únicos tejidos linfoides organizados en el intestino son las Placas de Peyer y los folículos linfoides. Las células en la LP del intestino se distribuyen conforme a una arquitectura definida, mostrando una sorprendente microanatomía y una distribución en compartimientos que, seguramente, tiene relación directa con su función (Figura 5). Los linfocitos T se encuentran preferentemente en la LP de las vellosidades y dentro del epitelio. Existen varias subpoblaciones de células en esos sitios. En cambio, las células accesorias y las células plasmáticas se localizan de preferencia en las criptas. Las células clase II+, con morfología dendrítica, se encontraron debajo de la membrana basal, entre los linfocitos CD4 y los CDS, 10 que indica su probable función como células presentadoras de antígeno. Adicionalmente, se demostró que el epitelio intestinal no expresa antígenos de clase II, así que su papel en la respuesta inmune es incierto.

La distribución celular específica descrita en el intestino del cerdo se alcanza de modo gradual en el desarrollo. Los linfocitos T pueblan con rapidez la LP y el epitelio, con aumentos importantes en células CD4 y modestos en CDS. Estas últimas no alcanzan niveles de adulto sino tardíamente. El bajo número de células CD8 podría repercutir en la susceptibilidad a enfermedades y en la capacidad del animal joven para montar respuestas inmunes apropiadas.

En síntesis, se puede decir que existen dos zonas perfectamente delimitadas en el sistema inmune intestinal: 1) La zona de las vellosidades, donde se concentran las células inductoras de la respuesta inmune (linfocitos CD4 y CDS, CPA), donde debe efectuarse el contacto primario con el antígeno y 2) la zona de las criptas, donde se localizan las

células efectoras de esa respuesta (células plasmáticas, linfocitos T y Mo). La coordinación adecuada entre ambas zonas y la cinética de flujo celular en esos sitios, debe garantizar su óptimo funcionamiento. Cualquier alteración en este delicado balance podría significar enfermedad en ese órgano.

El sistema inmune gastrointestinal desempeña una función de suma importancia en el mantenimiento de la homeostasis del organismo. Prueba de ello es considerar que se trata del órgano inmune más grande y productivo del cuerpo. En los últimos diez años se ha enfatizado su estudio para comprender mejor su anatomía y fisiología, lo que permitirá su control y manipulación. Esto es de interés para el diseño apropiado de terapias y vacunas más eficientes.

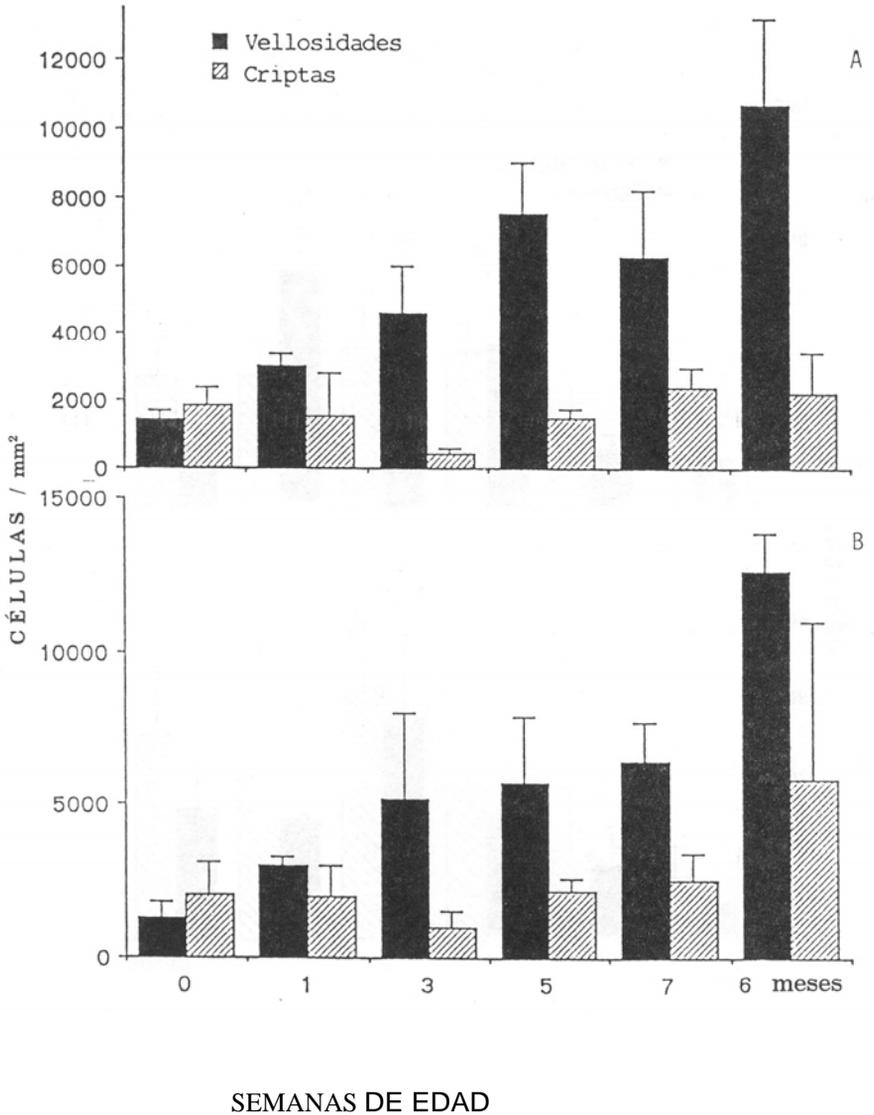


Fig 1. Densidad de células PT2+ (CD2) en la lámina propia de duodeno (A) e íleon (B) de cerdos sin destetar (0-7 semanas) y convencionales (6 meses). Las células se identificaron con anticuerpos monoclonales en inmunohistoquímica y se contaron por análisis de imágenes por computadora (26).

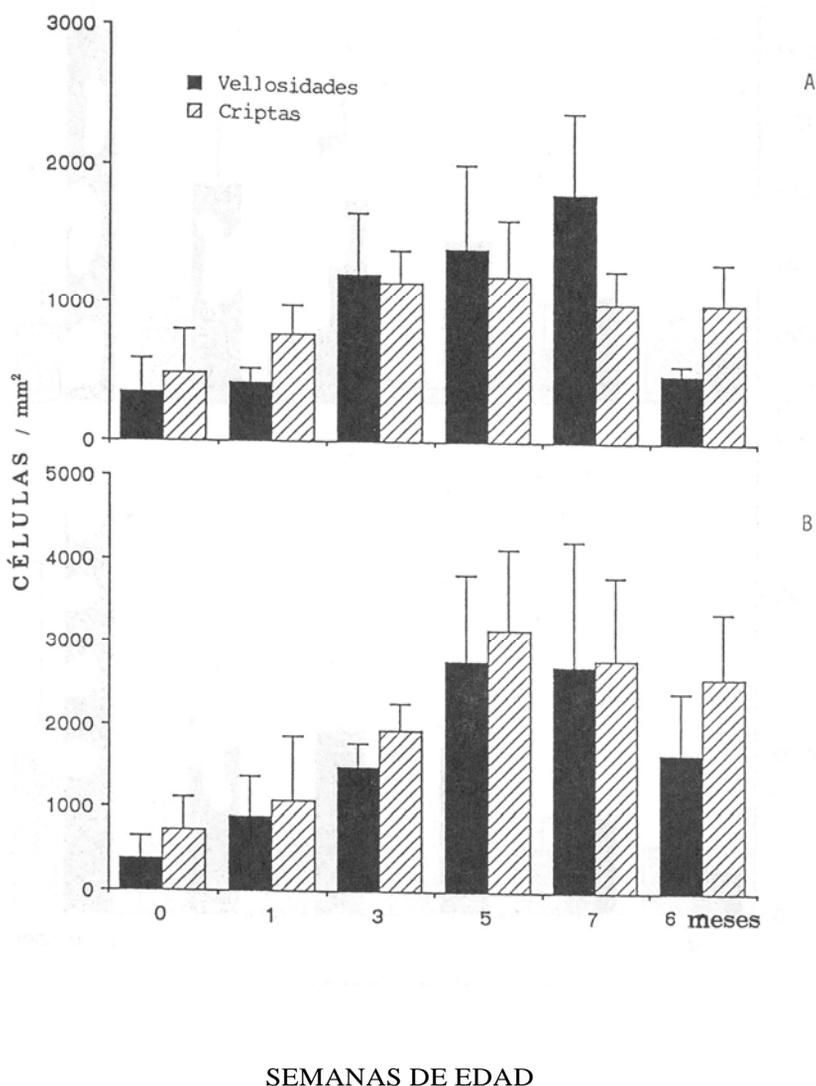


Fig. 2 Densidad de células Mo/PMN+ en la lamina propia de duodeno (A) e íleon (B) de cerdos sin destetar (0-7 semanas) y convencionales (6 meses). Las células se identificaron con anticuerpos monoclonales en inmunohistoquímica y se contaron por análisis de imágenes por computadora (26).

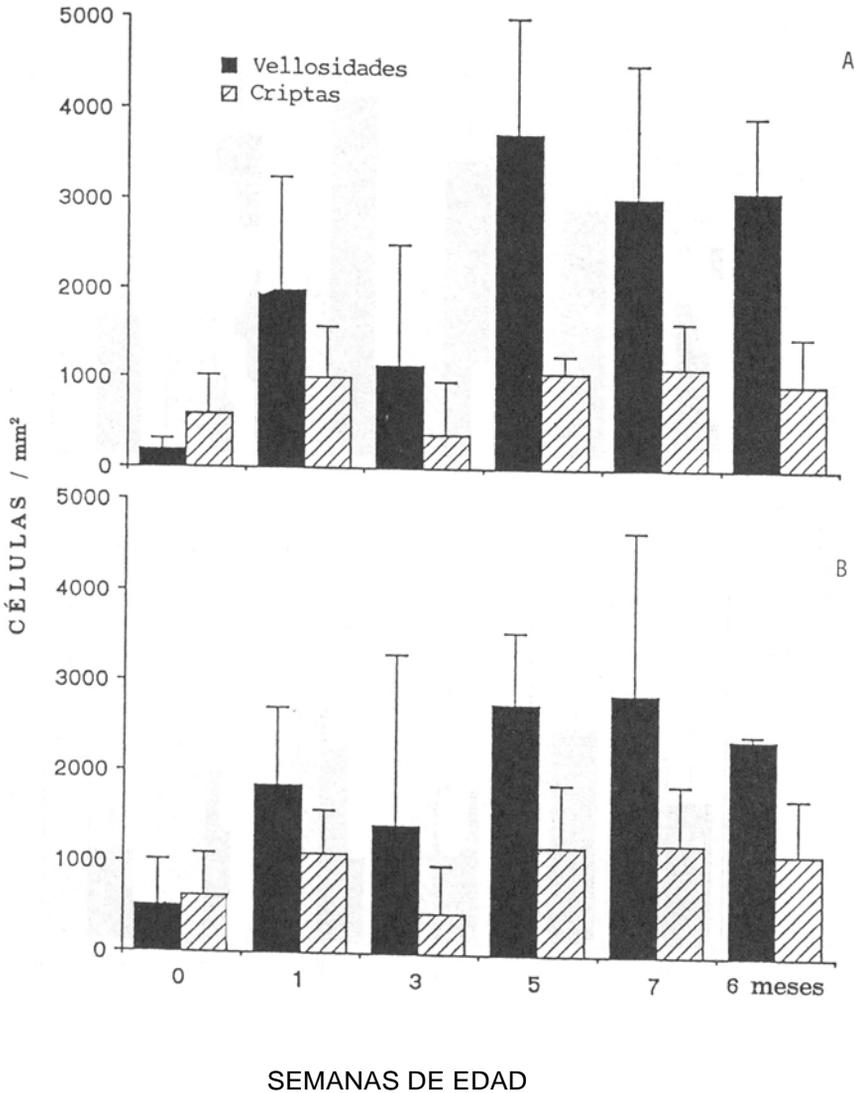
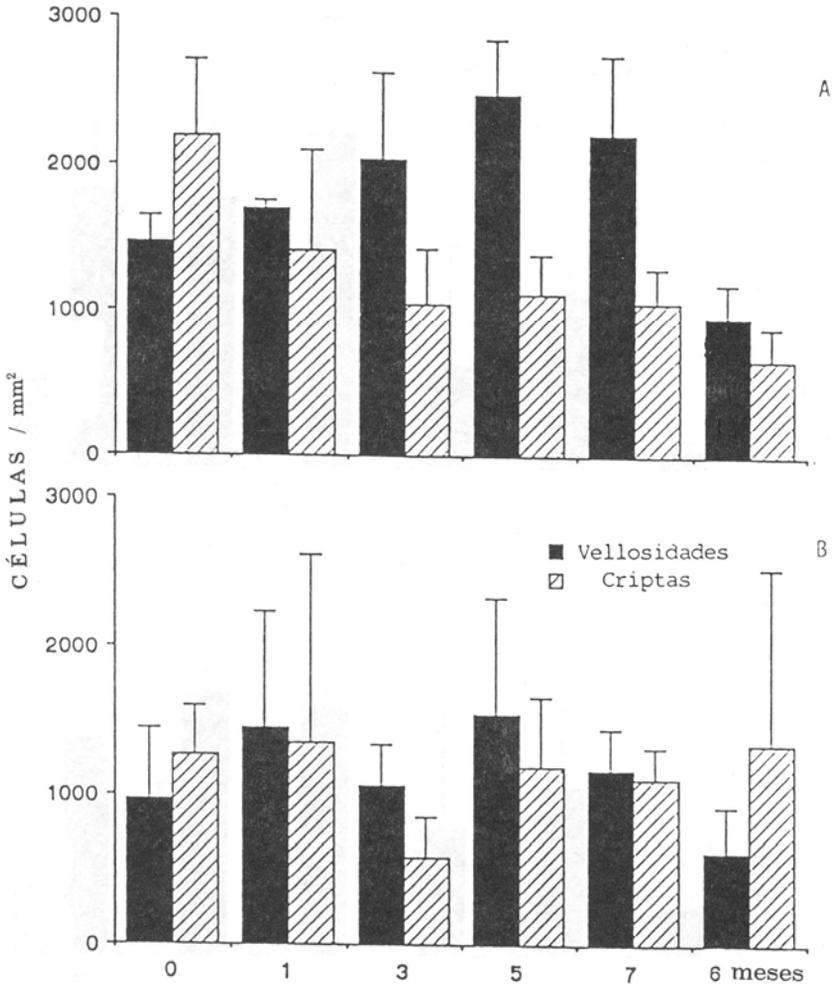


Fig. 3. Densidad de células DQw+ (clase II del CPR) en la lámina propia de duodeno (A) e íleon (B) de cerdos sin destetar (0-7 semanas) y convencionales (6 meses). Las células se identificaron con anticuerpos monoclonales en inmunohistoquímica y se contaron por análisis de imágenes por computadora.



SEMANAS DE EDAD

Fig. 4. Densidad de células con expresión del receptor para IL-2 en la lámina propia de duodeno (A) e íleon (B) de cerdos sin destetar (0-7 semanas) y convencionales (6 meses). Las células se identificaron por inmunohistoquímica usando anticuerpos monoclonales y se contaron por análisis de imágenes por computadora (26).

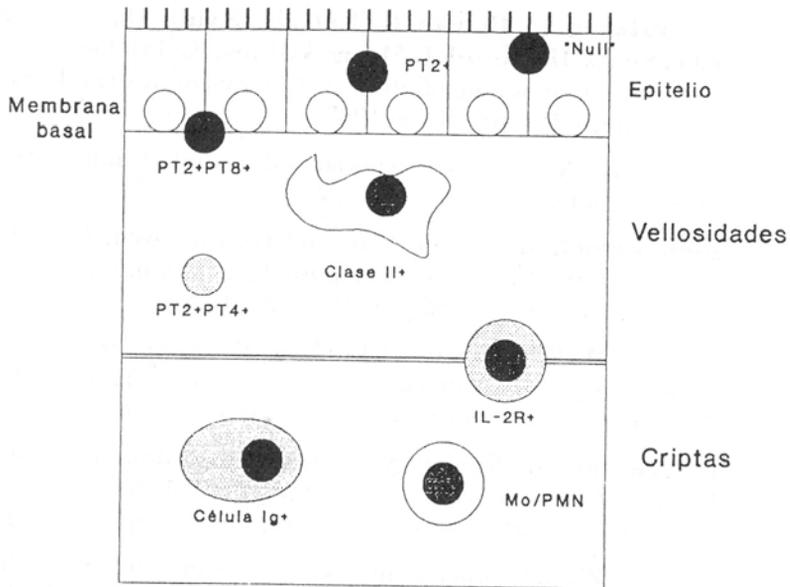


Fig. 5 Distribución de células en el intestino delgado del cerdo adulto. Los linfocitos T se concentran en las vellosidades. Los intraepiteliales tienen 3 fenotipos (Null, PT2 y PT8) según su localización. En la lámina propia, las células de clase II, con morfología dendrítica, se encuentran debajo de la membrana basal, cerca de los linfocitos PT4 que rodean el vaso quilífero. Las células con receptor para IL-2 se distribuyen homogéneamente en el tejido, mientras que las productoras de anticuerpo y los Mo/PMN se encontraron principalmente en las criptas.

Referencias

1. **Kagnoff, M.F.:** Immunology of the digestive system. En: *Physiology of the gastrointestinal tract*. L.R. Johnson (Ed.). Raven Press, NY, USA. pp 1337-1359, 1981.
2. **Brandtzaeg, P., Bjerke, K., Kett, K., Kvale, D., Rognum, T.O., Scott, II., Sollid, L.M. and Valnes, K.:** Production and secretion of immunoglobulins in the gastrointestinal tract. *Ann. Allergy* 59(5)II: 21-39, 1987.
3. **Ferguson, A.:** Lymphocytes and cell mediated immunity in the small intestine. *Adv. Med.* 14: 278-293, 1978.
4. **Bienenstock, J., Ernst, P.B. and Underdown, B.J.:** The gastrointestinal tract as an immunologic organ: state of the art. *Annals of Allergy* 59 part II: 17-20, 1987.
5. **Draper, M.:** Why do we eat? En: *Food allergy and intolerance*. J. Brostoff y SA. Challacombe (Eds.), Bailliere Tindall, W.E. Saunders, London, Reino Unido, pp xxi-xxiv, 1987 .
6. **Mayrhofer, G.:** Physiology of the intestinal immune system. En: *Local immune responses of the gut*. T.J. Newby y C.R. Stokes (Eds.), CRC Press, Inc., Florida, USA., pp 1-96, 1984.
7. **Walker, W.A.:** Role of the mucosal barrier in antigen handling by the gut. En: *Food allergy and intolerance*. J. Brostoff y S.J. Challacombe (Eds.), Bailliere Tindall, W.E. Saunders, Reino Unido, pp 209-222, 1987.
8. **Walker, R.I. and Owen, R.L.:** Intestinal barriers to bacteria and their toxins. *Ann Rev. Med.* 41: 393-400, 1990.
9. **Israel, E.J. and Walker, W.A.:** Development of intestinal mucosal barrier function to antigens and bacterial toxins. En: *Recent advances in mucosal immunology* .• J. Mestecky, J.R. McGhee, J. Bienenstocky P.L. Ogra (Eds.), Plenum Press, NY, USA, pp 673-683, 1987.
10. **Chu, S.W. and Walker, W.A.:** Development of the gastrointestinal mucosal barrier: changes in phospholipid head groups and fatty acid composition of intestinal microvillus membranes from newborn and adult rats. *Pediatr. Res.* 23: 439-442, 1988.

11. **Rozee, K.R., Cooper, D., Lam, K. and Costerton, J.W.:** Microbial flora of the mouse ileum mucous layer and epithelial surface. *Appl. Environ. Microbiol.* 43: 1451-1463, 1982.
12. **Gibbons, R.J.:** Review and discussion of role of mucus in mucosal defense. En: *Recent advances in mucosal immunity*. W. Strober, L.A. Hanson y K.W. Sell (Eds.), Raven Press, NY, USA. pp 343-352, 1982.
13. **Newby, T.J.:** Protective immune responses in the intestinal tract. En: *Local immune responses of the gut*. T.J. Newby y C.R. Stokes (Eds.), CRC Press, Inc., Florida USA, pp 143- 198, 1984.
14. **Israel, E.J. and Walker, W.A.:** Host defense development in gut and related disorders. *Pediatric Clinics of North America* 35(1):1-15, 1988.
15. **Husby, S.:** Dietary antigens: uptake and humoral immunity in man. *APMIS* 96(Suppl. 1):5-40, 1988.
16. **Walker W.A.:** Pathophysiology of intestinal uptake and absorption of antigens in food allergy. *Annals of Allergy* 59: 716, 1987.
17. **Mestecky, J. and McGhee, J.R.:** Immunoglobulin A (IgA): molecular and cellular interactions involved in IgA biosynthesis and immune response. *Adv. Immunol.* 40: 153-245, 1987.
18. **Newby, T.J. and Stokes, C.R.:** The intestinal immune system and oral vaccination. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 6: 67-105, 1984.
19. **Stokes, C.R.:** Immune systems in the porcine gut. *Pig Vet. Soc. Proc.* 20: 19-30, 1988.
20. **Patrick, M.K. and Gall, D.G.:** Protein intolerance and immunocyte and enterocyte interaction. *Pediatr. Clin. N. Amer.* 35(1):17-34, 1988.
21. **Newby, T.J., Miller, B., Stokes, C.R., Hampson, D. and Bourne, F.J.:** Local hypersensitivity response to dietary antigens in early weaned pigs. En: *Recent developments in pig nutrition*. D.J.A. Cole y W. Haresign (Eds.), Butterworths, Londres, Reino Unido. pp 49-59, 1985.

22. **Parrot, D.M.V.:** The structure and organization of lymphoid tissue in the gut. En: *Food allergy and intolerance.* , J. Brostoff y S.J. Challacombe (Eds.), Bailliere Tindall, W.E. Saunders, Londres, Reino Unido. pp 3-26, 1987.
23. **Chu, R.M., Glock, R.D. and Ross, R.F.:** Gut-associated lymphoid tissues of young swine with emphasis on dome epithelium of aggregated lymph nodules (Peyer's patches) of the small intestine. *Am. J. Vet. Res.* 40: 1720-1728, 1979.
24. **Saalmuller, A., Hirt, W. and Reddehase, M.J.:** Phenotypic discrimination between thymic and extrathymic CD4-CD8and CD4+CD8+ porcine T lymphocytes. *Eur. J. Immunol.* 19: 2011-2016, 1989.
25. **Vega-López, M.A., Telemo, E., Bailey, M., Stevens, K. and Stokes, C.R.:** Immune cell distribution in the small intestine of the pig: Immunohistological evidence for an organised compartmentalization in the lamina propia. *Vet. Immunol. Immunopathol.* en prensa, 1992.
26. **Rothkotter, H.J., Ulbrich, H. and Pabst, R.:** The postnatal development of gut lamina propia lymphocytes: Number, proliferation, and T and B cell subsets in conventional and germfree pigs. *Pediat. Res.* 29(3):237-242, 1991.
27. **Vega-Lopez, M.A.:** Immune development in the young pig. *Tesis de Doctorado* (PhD), University of Bristol, Reino Unido, 1991.
28. **Walker-Smith, J. and MacDonald, T.:** Insights provided by the study of the small intestine in the child and the foetus. *Gut Festschrift*, 11-16,1989.
29. **Russel, G.J., Bhan, A.K. and Winter, H.S.:** The distribution of T and B lymphocyte populations and MHC class II, expression in human fetal and postnatal intestine. *Periat. Res.* 27(3):239244,1990.
30. **Guy-Grand, D., Cerf-Bensussan, N., Malissen, B., Malassis-Seris, M., Briottet, C. and Vassalli, P.:** Two gutintraepithelial CD8+ lymphocyte populations with different T-cell receptors: a role for the gut epithelium in T cell differentiation. *J. Exp. Med.* 173: 471-481, 1991.

31. **Fujihashi, K., Taguchi, T., McGhee, J.R., Eldridge, J.II., Bruce, M.G., Green, D.R., Singh, B. and Kiyono, H.:** Regulatory function for murine intraepitheliallymphocyte T cells abrogate oral tolerance. *J. Immunol.* 145(7): 2010-2019, 1990.
32. **Paralkar, V.M., Vulkicevic, S. and Reddi, A.II.:** Transforming growth factor a type 1 binds to collagen IV of basement membrane matrix: implications for development. *Developmental Biol.* 143: 303-308, 1991.
33. **Wilson, A.D., Stokes, C.R. and Bourne, F.J.:** Morphology and functional characteristics of isolated porcine intraepithelial lymphocytes. *Immunology* 59: 109-113, 1986.
34. **Austyn, J.M.:** Antigen-presenting cells. IRLPress, Oxford, Reino Unido. pp 28-45, 1989.
35. **Hamblin, A.S.:** Lymphokines and interleukins. *Immunology Suppl.* 1: 39-41, 1988.
36. **Brown, P.J. and Bourne, F.J.:** Distribution of immunoglobulin - containing cells in alimentary tract, spleen and mesenteric lymph nodes of the pig demonstrated by peroxidase-conjugated antiserum to porcine immunoglobulins G, A and M. *Am. J. Vet. Res.* 37(1):9-13, 1976a.
37. **Brown, P.J. and Bourne, F.J.:** Development of immunoglobulin-containing cell populations in intestine, spleen, and mesenteric lymph node of the young pig, as demonstrated by peroxidase-conjugated antisera. *Am. J. Vet. Res.* 37(11): 1309-1314, 1976b.
38. **Roitt, I.M., Brostoff, J. and Male, D.K.:** *Immunology*, 2a Ed. Churchill Livingstone, Gower Medical Publshng, London, Reino Unido, 1989.
39. **Smith, K.A.:** The interleukin 2 receptor. *Adv. Immunol.* 42: 165-179, 1988.
40. **Sharon, M., Gnarra, J.R. and Leonard, W.J.:** A 100-kilodalton protein is associated with the murine interleukin 2 receptor: Biochemical evidence that p100 is distinct from the Alpha and Beta chains. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87: 4869-4873, 1990.

41. **Hamblin, A.S.:** *Lymphohines*. IRL Press, Oxford, Reino Unido, pp 42-43, 1989.
42. **Cantrell, D.A. and Smith, K.A.:** Transient expression of interleukin 2 receptors. Consequences for T cell growth. *J. Exp. Med.* 158: 1895-1911, 1983.
43. **Boyd, R.L. and Hugo, P.:** Towards an integrated view of thymopoiesis. *Imm. Today*, 12(2): 71-79, 1991.
44. **Goodman, T. and Lefrancois, L.:** Intraepitheliallymphocytes, anatomical site, not T cell receptor form, dictates phenotype and function. *J. Exp. Med.* 170: 1569-1581, 1989.
45. **Lunney, J .K. and Pescovitz, M.D.:** Phenotypic and functional characterization of pig lymphocyte populations. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 17: 135-144, 1987.
46. **Mayrhofer, G., Pugh, C.W. and Barclay, A.N.:** The distribution, ontogeny and origin in the rat of Ia-positive cells with dendrite morphology and of Ia antigen in epithelia, with special reference to the intestine. *Eur. J. Immunol.* 13: 112-122, 1983.
47. **Selby, W.S., Janossy, G., Goldstein, G. and Jewell, D.P.:** T lymphocyte subsets in human intestinal mucosa: the distribution and relationship to MHC-derived antigens. *Clin. Exp. Immunol.* 44: 453-458, 1981.
48. **Trejdosiewicz, L.K., Malizia, G., Badr-el-Din, S., Smart, C.J., Oakes, D.J., Southgate, J., Howdle, P.D., Janossy, G., Poulter, L.W. and Losowsky, M.S.:** T cell and mononuclear phagocyte populations of the human small and large intestine. En: *Recent advances in mucosal immunology*, J. Mestecky; J.R. McGhee; J. Bienenstock and P.L. Ogra (Eds.), Plenum Press, NY, USA. pp 465-473, 1987.