

## ESPECIALIZACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE ADAPTATIVA

Paula Andrea Velilla, María Teresa Rugeles  
Universidad de Antioquia

### Abreviaturas usadas en este capítulo

<b>Ag:</b>	Antígeno
<b>CD:</b>	Células dendríticas
<b>CDM:</b>	Células dendríticas mieloides
<b>CDP:</b>	Células dendríticas plasmocitoides
<b>CMH:</b>	Complejo mayor de histocompatibilidad
<b>CPA:</b>	Células presentadoras de antígeno
<b>DTH:</b>	Hipersensibilidad retardada
<b>ICAM:</b>	Molécula de adhesión intercelular
<b>ICOS:</b>	Molécula coestimuladora inducible
<b>ICOSL:</b>	Ligando de ICOS
<b>IFN:</b>	Interferón
<b>IRF-1:</b>	Factor de respuesta al interferón
<b>JAK:</b>	Janus tirosina quinasas
<b>LB:</b>	Linfocito B
<b>LFA-1:</b>	Antígeno asociado a la función leucocitaria
<b>LT:</b>	Linfocitos T
<b>NK:</b>	Asesina natural
<b>Rag:</b>	Genes activadores de recombinación
<b>TCR:</b>	Receptor de células T
<b>Th:</b>	Linfocito T ayudador
<b>TGF:</b>	Factor transformante del crecimiento
<b>TNF:</b>	Factor de necrosis tumoral
<b>OVA:</b>	Ovalbúmina
<b>STAT:</b>	Transmisores de señal de activación y activadores de la transcripción

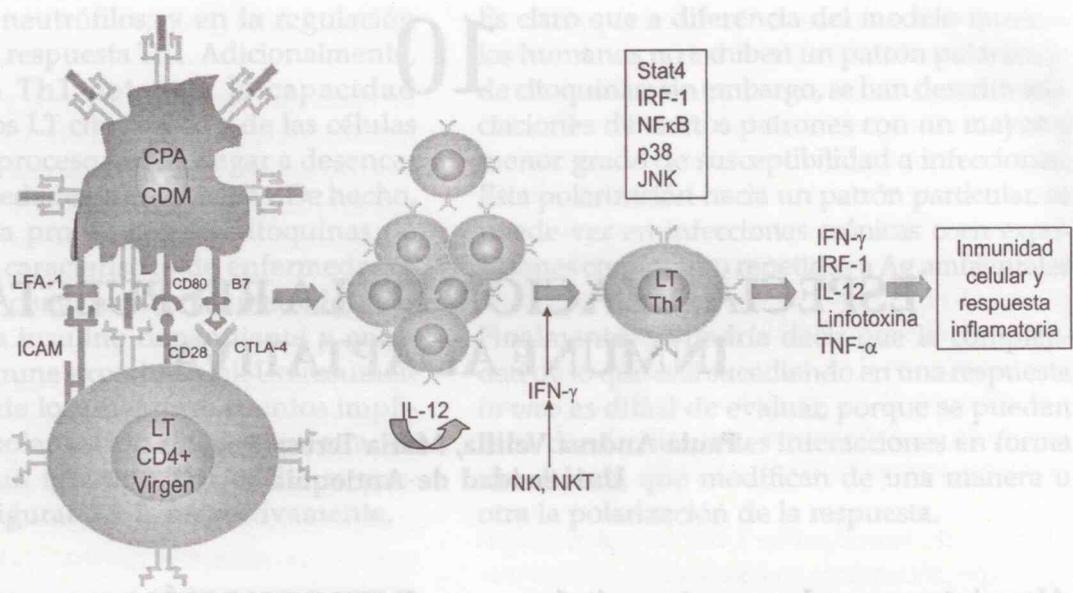
### INTRODUCCIÓN

A pesar de que muchas células y componentes del sistema inmune participan en la respuesta inmune adaptativa, los LT CD4<sup>+</sup> son críticos en determinar el tipo de respuesta que se genera. Estudios *in vivo* han hecho evidente que dependiendo del tipo de agente infeccioso, se desarrolla una forma de inmunidad particular. La inmunidad celular es generalmente la responsable del control de la infección por microorganismos intracelulares como virus, algunas bacterias y protozoos. En contraste, la respuesta inmune humoral es la encargada del control de patógenos extracelulares como helmintos y bacterias. La mayoría de microorganismos son usualmente más susceptibles a una de estas formas de inmunidad, por tanto, la resistencia o susceptibilidad a la infección va a depender del tipo de respuesta inmune que se establezca.

En 1986, en el modelo murino, se identificó distintos subgrupos de clonas de LT CD4<sup>+</sup>, con respuestas funcionales diferentes y un perfil particular de producción de citoquinas. Estas clonas, representaban células efectoras terminales diferenciadas y recibieron el nombre de

células Th1 y Th2. En humanos, también se han identificado estas subpoblaciones; sin embargo, ante un estímulo antigénico determinado, la polarización de la respuesta es menos evidente que la que ocurre en los ratones.

Durante la respuesta a un tipo particular de Ag, se inicia una serie de eventos que conducen a la polarización de la respuesta, hacia un patrón de respuesta tipo Th1 o Th2, lo cual dependerá de la vía de ingreso y localización de dicho Ag, así como de las características genéticas del hospedero. Se ha establecido que el fenotipo funcional se fija en las 48 horas después de la activación de los LT CD4+ vírgenes y depende de una variedad de factores, entre los cuales se destacan: la naturaleza del estímulo antigénico; la fuerza de la señal que recibe el LT, que a su vez depende de la densidad del complejo CMH-péptido-TCR, de la duración

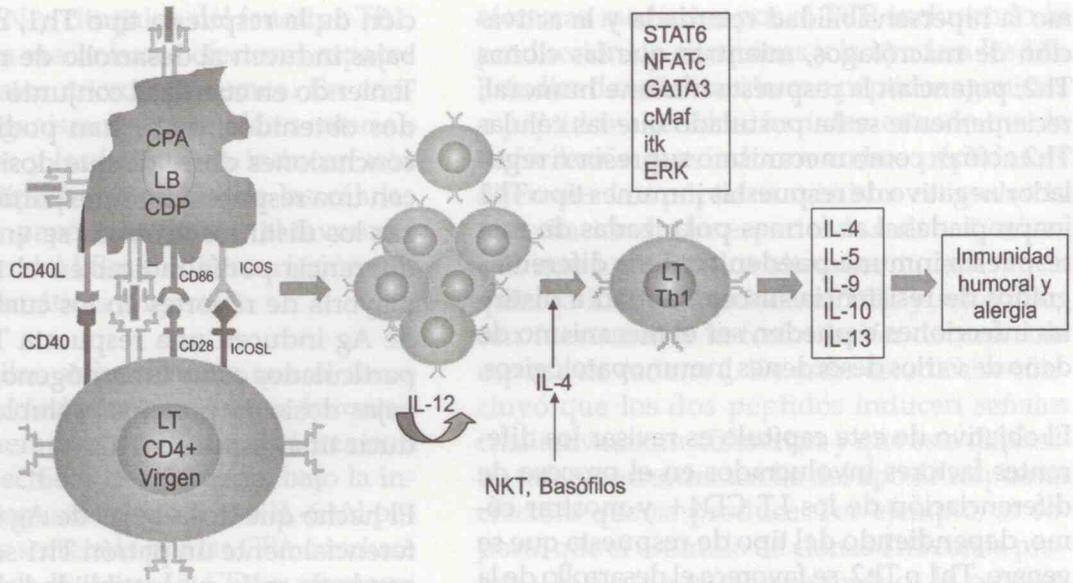


**Figura 1. Perfil Th1.** La polarización de la respuesta inmune hacia un patrón tipo Th1 se caracteriza por desarrollarse en presencia de una variedad de estímulos entre los cuales se destacan las infecciones por patógenos intracelulares; la presentación antigénica por parte de las CDM y los macrófagos; la interacción de ciertas moléculas coestimuladoras y de adhesión expresadas en estas células, como son las moléculas B7, es especial CD80, y de ICAM, con ligandos expresados en los LT como CTLA-4, CD28 LFA-1, respectivamente, al igual que una alta densidad de complejos CMH-péptido. Estos estímulos, junto con la IL-2, conducen a la proliferación y subsiguiente activación y diferenciación del LT hacia el fenotipo efector Th1, con la ayuda de citoquinas como el IFN- $\gamma$ , el cual es producido por células del sistema inmune innato como células NK y NKT. Adicionalmente, las vías de señalización implicadas en esta diferenciación incluyen factores de transcripción como el IRF-1, STAT 4, NF $\kappa$ B y las quinasas p38 y JAK; estas vías convergen para inducir la producción de citoquinas como el IFN- $\gamma$ , la IL-12 el TNF- $\alpha$ , las cuales favorecen el desarrollo de una respuesta celular e inflamatoria.

del estímulo y de las moléculas coestimuladoras; del tipo de célula presentadora involucrada; de la predisposición genética; de las vías de señalización y en particular del microambiente de citoquinas y quimioquinas presente en el momento de la activación del LT (Figuras 1 y 2). Después de la respuesta primaria, estas clonas persisten en niveles bajos como células efectoras de larga vida ó células de memoria, que pueden conferir protección ante un segundo reto antigénico.

Las células Th1 se caracterizan por la producción de IL-2, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  y TNF- $\beta$ , mientras las células Th2 producen preferencialmente IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL13. Además, se ha descrito un subgrupo de clonas de LT CD4+ denominado Th0, el cual corresponde a un fenotipo intermedio, que se caracteriza por producir una mezcla del perfil de citoquinas Th1/Th2; este patrón se ha

observado en estados de activación temprana o en ciertas infecciones. Un subgrupo adicional de LT CD4+, designado Th3, fue identificado en un modelo murino, en estudios de tolerancia oral a la proteína básica de la mielina, en los cuales se demostró que estas células evitan la inducción de encefalitis alérgica experimental. Las células Th3 se caracterizan por producir TGF- $\beta$ , citoquina que es importante en la regulación de la respuesta inmune y la homeostasis del LT. Hasta el momento, no existen marcadores de superficie que permitan la



**Figura 2. Perfil Th2.** La polarización de la respuesta hacia un patrón Th2, se caracteriza por desarrollarse en presencia de infecciones por patógenos extracelulares, especialmente por parásitos de esta naturaleza; igualmente, la presentación de antígenos por parte de los LB y de las CDP, así como, la interacción de moléculas coestimuladoras y reguladoras de la respuesta inmune como son CD86, OX40L, ICOS, con ligandos expresados en las células T como CD28, OX40 e ICOSL, respectivamente, favorecen el desarrollo de este fenotipo. Adicionalmente, se ha observado que la expresión de un número bajo de complejos CMH-péptido, favorecen este perfil. Al igual que en el desarrollo del patrón Th1, estos estímulos inducen la proliferación, activación y diferenciación del LT. La citoquina que favorece la diferenciación hacia un perfil Th2 es la IL-4, producida tempranamente por las células NKT y basófilos. En la diferenciación de este patrón, las vías de señalización implicadas son los factores de transcripción como el NFATc, STAT6, GATA3, cMAf, y las quinasas itk y ERK; estas vías inducen la producción de citoquinas como IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 e IL-13 las cuales son indispensables en el desarrollo de la inmunidad humoral y de las reacciones alérgicas.

diferenciación de estas subpoblaciones y la única manera de distinguirlas es con base en sus funciones, las cuales se derivan de las citoquinas que producen. Estudios con animales transgénicos para las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  del TCR, específicos para complejos conocidos de CMH-II-péptido, han permitido establecer que un precursor común da lugar al desarrollo de las diferentes subpoblaciones efectoras de LT CD4+.

En términos generales las clonas Th1 participan en la inmunidad mediada por células, co-

mo la hipersensibilidad retardada y la activación de macrófagos, mientras que las clonas Th2, potencian la respuesta inmune humoral; recientemente se ha postulado que las células Th2 actúan como mecanismo supresor o regulador negativo de respuestas inmunes tipo Th1 inapropiadas. Las formas polarizadas de esta respuesta inmune pueden conferir diferentes grados de resistencia/susceptibilidad a distintas infecciones o pueden ser el mecanismo de daño de varios desórdenes inmunopatológicos.

El objetivo de este capítulo es revisar los diferentes factores involucrados en el proceso de diferenciación de los LT CD4+ y mostrar cómo, dependiendo del tipo de respuesta que se genere, Th1 o Th2, se favorece el desarrollo de la inmunidad celular y la respuesta inflamatoria o de la inmunidad humoral, respectivamente.

## FACTORES QUE INFLUYEN EN LA POLARIZACIÓN DE LA RESPUESTA DEL LT CD4+

### *Estímulo antigénico*

#### *Dosis y características del antígeno*

Los estudios sobre el efecto de la dosis de Ag en la inducción del patrón Th1 o Th2 son contradictorios. Varios estudios sugieren que dosis altas de Ag favorecen respuestas Th2, mientras que dosis bajas favorecen una respuesta Th1. Es el caso de estudios donde ratones de la cepa BALB/c infectados con dosis altas de *Leishmania major* desarrollan respuesta tipo Th2 que se correlacionan con la susceptibilidad, mientras que la infección con bajas dosis resulta en respuesta tipo Th1 y en la resolución de la infección. Sin embargo, en otros estudios se han encontrado efectos contrarios, ya que al inmunizar con dosis altas de péptidos de colágeno tipo IV se conduce a la genera-

ción de la respuesta tipo Th1, mientras dosis bajas inducen al desarrollo de respuesta Th2. Teniendo en cuenta el conjunto de los resultados obtenidos, no se han podido establecer conclusiones claras de que dosis de Ag inducen una respuesta inmune particular. Al analizar los distintos estudios se encontró que la diferencia podía radicar en el tipo de Ag; la mayoría de reportes en los cuales dosis bajas de Ag inducen una respuesta Th1 utiliza Ag particulados como inmunógeno, mientras que bajas dosis de proteínas solubles parecen inducir una respuesta Th2.

El hecho que dosis bajas de Ag induzcan preferencialmente un patrón Th1 se ha explicado con base en la susceptibilidad diferencial que presentan las células Th1 y Th2 a la apoptosis en presencia de diferentes concentraciones de Ag. Las clonas Th1 son más susceptibles a la muerte celular inducida por activación en respuesta a altas concentraciones de Ag; por tanto, cuando hay una alta densidad de ligando se promueve la proliferación y el desarrollo de células Th2, pues desaparece la regulación negativa de este patrón, normalmente ejercida por las células Th1. Se ha propuesto que para inducir un patrón Th2 con Ag solubles se requiere de una dosis mucho más alta para equiparar el número de epítopes antigénicos reconocidos por el TCR en el caso de los Ag particulados. Adicionalmente, se ha sugerido que la diferencia podría radicar en las diferentes formas de procesamiento y presentación antigénica que puede variar entre las diferentes CPA.

De otro lado, numerosas evidencias señalan que la respuesta que se establece durante infecciones por patógenos intracelulares se caracteriza por ser una respuesta pro-inflamatoria, en la cual el perfil de LT CD4+ Th1 tiene un papel importante (Figura 1). Ejemplos de estos hallazgos se ven en la respuesta que se desarrolla contra la *Mycobacteria* y *Salmonella spp*,

en la cual el IFN- $\gamma$ , citoquina del fenotipo Th1, induce o activa mecanismos efectores capaces de eliminar estos microorganismos. En contraste, microorganismos extracelulares como algunas bacterias y los helmintos, inducen una respuesta de tipo humoral donde las células Th2 tienen un papel importante, al favorecer la proliferación del LB y su diferenciación hacia células plasmáticas (Figura 2).

En forma similar, se ha descrito que el desarrollo de enfermedades alérgicas es favorecido por la generación de LT ayudadores con perfil Th2 específicos del alérgeno, bajo la influencia de citoquinas como IL-4 e IL-6. Al parecer, la IL-6 es secretada por las CPA e induce la producción de IL-4 por LT CD4+ vírgenes; adicionalmente, la IL-4 puede ser producida por mastocitos. Posteriormente, esta citoquina conduce al desarrollo de células Th2, las cuales a su vez producen IL-4, IL-5 e IL-13, cuando entran en contacto con las CPA que están presentando el alérgeno. Modelos de asma en murinos han permitido establecer el papel de la respuesta Th2 en enfermedades alérgicas.

### **Fuerza de la señal que recibe el linfocito T**

#### *Ligandos alterados del TCR*

El TCR reconoce unos pocos residuos aminoácidos en el péptido unido al CMH, lo cual desencadena una serie de eventos de señalización intracelular, entre ellos la fosforilación de diferentes proteínas que conllevan a la proliferación celular y a la generación de células efectoras. Si el ligando natural del TCR es alterado, es decir, no es un 100% complementario al TCR, la señal que se genera puede ser más débil y el resultado final de esa activación puede ser diferente. En algunas ocasiones el péptido alterado no estimula la proliferación de los LT, pero tiene la capacidad de activar funciones

efectoras mediadas por el TCR incluyendo la producción de citoquinas y la ayuda a los LB. Estudios de señalización con péptidos agonistas y péptidos alterados, han demostrado que la fosforilación que inducen ambos péptidos es diferente. Los péptidos agonistas estimulan la fosforilación de dos especies de cadena  $\zeta$ , mientras que los péptidos alterados no activan la quinasa ZAP-70 asociada al TCR y solo inducen fuertemente la fosforilación de una sola especie de cadena  $\zeta$ . De estos estudios se concluyó que los dos péptidos inducen señales cualitativamente diferentes y que esta diferencia influye en el desarrollo del tipo de respuesta efectora que se produce. Por ejemplo, se reportó que el estímulo de clones Th0 con la proteína básica de la mielina, induce la producción de IL-2, IL-4, IL-10 e IFN- $\gamma$ , mientras que el estímulo con un péptido alterado de esta misma proteína, induce la producción de TGF- $\beta$ 1. El cambio del perfil de citoquinas, cuando se estimula con péptidos alterados, de menor afinidad, ha sido un hallazgo consistente en otros estudios.

Algunos estudios sugieren que la respuesta de células T CD4+ puede ser modificada por el genotipo de la molécula del CMH-II y que los efectos son debidos a diferencias en la estructura y densidad del complejo CMH-II-péptido. En experimentos *in vivo* donde se utilizaron péptidos alterados del colágeno tipo IV, algunos de ellos con mayor o menor afinidad por el CMH, se observó que los LT CD4+ de ratones con genotipo I-A<sup>s</sup>, producían IFN- $\gamma$  ante el Ag nativo; por el contrario, al recibir el estímulo con un péptido alterado, que tenía unión débil, los LT se convirtieron exclusivamente en células productoras de IL-4. De otro lado, ratones con genotipo I-A<sup>b</sup>, que producían IL-4 en respuesta al estímulo nativo, al ser estimulados con un péptido alterado, que presentaba unión fuerte, produjeron IFN- $\gamma$ . En este estudio se identificó el péptido  $\alpha$ 2 del colágeno tipo

IV como el mayor determinante antigénico y además se demostró que la respuesta inmune en ambas cepas de animales estaba dirigida principalmente contra el mismo epítipo. Estudios posteriores demostraron que la afinidad de unión del péptido  $\alpha 2$  a la molécula I-A<sup>s</sup> era 10.000 mayor que la afinidad con que se unía al CMH I-A<sup>b</sup>. Se ha propuesto, que los LT de ambas cepas de animales ven una densidad de CMH/péptido diferente. Esta evidencia sugiere que la afinidad con que un péptido se una a la molécula del CMH tiene influencia sobre la calidad y cantidad de señal que reciba un LT por su TCR y que, dependiendo de la naturaleza de esta señal se genera un patrón Th1 o un patrón Th2.

#### *Duración del estímulo*

La duración del estímulo del TCR es un parámetro crucial que puede determinar el efecto de polarización hacia un patrón determinado. Esta duración es facilitada por una interacción estable entre la CPA y el LT, lo cual resulta en una señalización sostenida del TCR. Se ha encontrado que un estímulo prolongado del TCR permite a los LT responder a bajas dosis de Ag, aún en ausencia de coestimulación. En ausencia de IL-2, un estímulo corto del TCR puede ser suficiente para inducir la proliferación; sin embargo, no conduce a la polarización del LT, mientras un estímulo prolongado permite la polarización espontánea de una fracción de LT hacia un fenotipo Th1 o Th2.

En estudios *in vitro*, en los cuales se evaluó la respuesta de LT provenientes de ratones transgénicos deficientes de Rag, que expresaban un TCR específico para un péptido del virus de influenza, se encontró que aún en presencia de IL-4, se requiere de un estímulo prolongado del TCR para inducir la polarización hacia Th2, ya que la capacidad para producir IL-4 e IL-13 se adquiere lentamente. En contraste, la

producción de IFN- $\gamma$  es adquirida rápidamente y la polarización hacia Th1 requiere solo de estímulos de corta duración.

#### *Moléculas Coestimuladoras*

Para que el LT se active de forma óptima en respuesta a un Ag, el reconocimiento de complejos CMH/péptido por el TCR debe estar acompañado por una segunda señal. Esta señal es proporcionada por las moléculas coestimuladoras, presentes en las CPA, las cuales son indispensables para aumentar la fuerza de la señal. Diferentes estudios han demostrado claramente que las moléculas coestimuladoras influyen sobre la diferenciación del LT; entre estas moléculas se destacan las siguientes:

**CD80 (B7-1) y CD86 (B7-2):** Esta familia de moléculas presenta un patrón diferencial de expresión; mientras que CD86 se encuentra expresado constitutivamente en CD, macrófagos, LB y monocitos, la molécula CD80 aparece más lentamente después de la activación y su nivel de expresión es menor. Ambas moléculas se unen a CD28 en LT vírgenes y a CTLA-4 en LT activados. La presencia de alguna de ellas es esencial en la activación de células vírgenes. CD86 se regula positivamente a las 6 horas de activación y hace el pico entre las 18-24 horas, mientras que CD80 empieza aparecer 24 horas post-activación y el pico lo hace 48-72 horas más tarde. El nivel de expresión varía: B7-2 se expresa 100 veces más que B7-1 en CD y al parecer el Ag y las citoquinas regulan la expresión de estas moléculas.

Los estudios sobre la influencia de estas moléculas coestimuladoras en la polarización de la respuesta del linfocito son contradictorios; las primeras evidencias del papel de estas moléculas en la especialización de la RI se obtuvieron en modelos de autoinmunidad. La encefalomielitis alérgica experimental es indu-

cida por clonas Th1 autoreactivas y la progresión de este proceso es generalmente autolimitada por clonas reguladoras Th2. El tratamiento de ratones con anticuerpos anti-B7-1 disminuyó la incidencia de la enfermedad mientras que el tratamiento con anti-B7-2 aumentó la severidad. Los animales tratados con anti-B7-1 desarrollaron un patrón Th2 mientras que el grupo de animales tratados con anti B7-2 desarrollaron un patrón Th1. Resultados similares se obtuvieron en modelos de animales transgénicos con TCR específico para la proteína básica de mielina. Sin embargo, otros estudios señalan que estas moléculas pueden tener o no tener un efecto inverso en el proceso de diferenciación de los LT CD4+. En otro modelo de autoinmunidad de ratones diabéticos no obesos, mediado por clonas Th1 autoreactivas, el tratamiento con anti-B7-2 previno el desarrollo de la diabetes; de otro lado, el tratamiento con anti-B7-1 aumentó la incidencia y la severidad de la enfermedad, contrario a lo esperado, con base en reportes previos de asociación entre la molécula B7-1 y B7-2 y el patrón Th1 y Th2, respectivamente.

A partir de estos resultados contradictorios se ha propuesto que no existe una diferencia radical en la señalización mediada por B7-1 y B7-2. Adicionalmente, se propone que cuando hay una baja densidad de Ag, como probablemente ocurre durante las etapas iniciales de la respuesta inmune, la interacción con CD28 es esencial ya que hay una interacción débil entre el CMH-II-péptido-TCR. Teniendo en cuenta la cinética de estas dos moléculas la interacción de B7.2 va a predominar en las etapas iniciales de activación de LT y sería la molécula responsable de modular la respuesta durante este período. Posteriormente, viene la regulación positiva de B7.1 que, en conjunto con las citoquinas, debe participar en la regulación de la respuesta inmune en proceso. Cuando se encuentran grandes cantidades de Ag, la coes-

timulación puede no ser indispensable y el tratamiento con anticuerpos bloqueadores pueden no tener efecto sobre las respuestas observadas; esto puede explicar, aunque sea parcialmente, los resultados contradictorios obtenidos en los diferentes estudios.

**CD28/CTLA4:** Para la activación del LT y para la producción de citoquinas, por parte de las CPA y de los LT, se requiere de la interacción de CD28 en el LT con las moléculas CD80 y CD86 en la CPA. El CD28 se expresa en forma constitutiva en todas los LT CD4+ y se regula negativamente inmediatamente después de la activación; por el contrario, la molécula CD152 (CTLA-4) se expresa después de 48 horas de activación; esta expresión diferencial indica que las funciones de estas moléculas en el proceso de activación de LT son diferentes.

El CD28 proporciona la señal coestimuladora en la CPA que aumenta y sostiene la producción de IL-12, al igual que la producción de IL-2 y la proliferación de los LT; además, induce una señal que previene la apoptosis de LT durante la activación celular. Evidencias experimentales iniciales sugerían que el efecto de CD28 sobre la diferenciación hacia Th1/Th2 dependía del tipo de molécula B7 a la cual se une esta molécula; sin embargo, estudios más recientes indican que la molécula CD28 es esencial en la inducción de un patrón Th2 (Figura 2), independiente del tipo de molécula B7 que esté uniendo. Un ejemplo de este hallazgo son los estudios en ratones diabéticos no obesos en los que se ha eliminado el gen CD28 (CD28<sup>-/-</sup>); en los cuales se desarrolla la enfermedad en forma más agresiva, como resultado de una reducción en la respuesta protectora Th2. En forma similar, animales "knock-out" para CD28 presentaron un defecto severo en la producción de anticuerpos en respuesta al virus de la coriomeningitis linfocítica, respuesta que es mediada por un patrón Th2; en contraste, es-

tos animales presentaron una respuesta citotóxica normal.

Por su parte, la molécula CTLA-4 está implicada en la regulación negativa de la respuesta inmune. La interacción de CD80 o CD86 con esta molécula restringe la producción de IL-12 por la CPA y la progresión del ciclo celular en los LT. El papel de esta molécula en la polarización de la respuesta es ambiguo; existen reportes en los cuales se indica que el bloqueo de CTLA-4 exacerba la encefalitis autoinmune experimental, al conducir la respuesta hacia un perfil Th1. Por el contrario, otros estudios sugieren que esta molécula promueve la respuesta Th1 limitando la Th2. Es el caso de estudios en los cuales se analizó el fenotipo de LT CD4+ de cepas de ratones transgénicos para un TCR específico de OVA, que al mismo tiempo era deficiente de CTLA-4; se encontró que, en ausencia de esta molécula se desarrolló un perfil Th2 en respuesta a OVA, mientras que las células de ratones transgénicos no deficientes de CTLA-4 presentaban un patrón Th1. Sin embargo, recientemente se ha postulado que la contribución de CTLA-4 en la diferenciación Th depende del contexto, en donde esta molécula puede regular la función del grupo de LT CD4+ activados, al controlar tanto el tamaño de esta población como la frecuencia de células respondedoras Th1 o Th2.

**ICOS:** Esta molécula es un miembro de la misma familia de proteínas a la que pertenece CD28, y cumple un papel importante en la activación y diferenciación del LT. Esta molécula se expresa tanto en LT CD4+ como LT CD8+ y su expresión se induce durante las primeras 48 horas después de la activación del LT, posterior a la señalización del CD28. Su ligando, ICOS-L, se expresa constitutivamente en bajos niveles en las CPA y es un miembro de la familia de ligandos coestimuladores B7. La interacción ICOS/ICOS-L, tiene un impac-

to importante en la respuesta inmune mediada por los LT. Se ha demostrado que ICOS regula la diferenciación del LT Th1 y Th2 de una manera diferente a CD28: mientras esta última molécula es responsable de la activación del LT, la señalización de ICOS regula la respuesta efectora. Diferentes estudios han mostrado que ratones deficientes de ICOS tienen alteraciones tanto en la formación de centros germinales como en el cambio de isotipo en respuestas de LB dependientes de LT y en la producción de IL-4 e IL-13. En modelos de enfermedades autoinmunes, como el de la encefalomielitis, se ha visto que el bloqueo de la interacción ICOS/ICOS-L, durante la activación del LT CD4+, deteriora el desarrollo del perfil Th2 y polariza la respuesta hacia Th1, exacerbando la enfermedad autoinmune.

**OX40L/OX40:** Las moléculas coestimuladoras OX40L y OX40 se expresan de una manera transitoria, aproximadamente durante 2 días, en la superficie de LB y LT activados, respectivamente. Se ha postulado que su interacción es importante en las respuestas generadas por el contacto de LT/LB; su expresión coincide con la aparición de transcritos para IgG y algunas citoquinas, particularmente IL-4. De hecho, se ha reportado que la coestimulación de LT vírgenes mediadas por OX40, al igual que por el CD28, promueve la expresión de IL-4, favoreciendo el desarrollo de respuestas tipo Th2 (Figura 2), al inhibir la expresión de IFN- $\gamma$ .

**LFA-1/ICAM:** LFA-1 e ICAM-1 y 2, son moléculas de adhesión que incrementan el contacto entre LT y CPA. Diferentes estudios han reportado que la interacción de estas moléculas tiene un papel importante en la regulación negativa de la producción de IL-4 e IL-5 por los LT CD4+, indicando que estas moléculas inducen el desarrollo de un fenotipo Th1 (Figura 1). Por ejemplo, cuando se activan LT por medio de anticuerpos anti-CD3 y de moléculas

las ICAM-1 unidos al plato de cultivo, se observa una diferenciación de LT CD4 secretores de IFN- $\gamma$ . Similarmente, se ha visto que al bloquear la interacción LFA-1/ICAM se aumenta el desarrollo del perfil Th2.

En conclusión, se puede decir que existe un número importante de moléculas coestimuladoras capaces de influir en el proceso de diferenciación de los LT CD4+; de esta manera, la polarización de la respuesta está determinada por el conjunto de las señales que resultan de la interacción de todas las moléculas coestimuladoras y sus ligandos, y no es el resultado de la señal generada por una interacción individual.

### ***Células presentadoras de antígeno***

Las CPA son indispensables para la activación del LT; proporcionan la primera señal de activación por medio del CMH-péptido y la segunda señal gracias a las moléculas coestimuladoras. Adicionalmente, se ha encontrado que dependiendo del tipo de CPA que activa al LT CD4+, ocurre la diferenciación de la respuesta de estas células hacia un patrón Th1 o Th2.

### ***Células Dendríticas***

Las CD son consideradas las CPA más eficientes y por lo tanto constituyen las principales centinelas del sistema inmune. El proceso de maduración de las CD ocurre a medida que la célula migra hacia órganos linfoides secundarios, proceso que es indispensable para aumentar la capacidad de estimular al LT y de producir citoquinas. Éste proceso comienza con la exposición de la CD a citoquinas proinflamatorias que se producen en respuesta a la infección.

En humanos, se pueden diferenciar dos tipos de precursores de CD en circulación: CDM y CDP, también conocidas como CD1 y CD2,

respectivamente. Estos dos tipos de CD, parecen ejercer diversas formas de control, que influyen en la diferenciación del LT CD4+. Inicialmente, estudios *in vitro* sugirieron que los LT CD4+ vírgenes al interactuar con las CDM o CD1 secretan grandes cantidades de IFN- $\gamma$  y bajos niveles de IL-4, IL-5 e IL-10; en contraste, los LT CD4+ al interactuar con CDP o CD2 secretan bajas cantidades de IFN- $\gamma$  y grandes cantidades de IL-4, IL-5 y IL10. Sin embargo, la asociación de CD1 con patrón Th1 y de CD2 con patrón Th2 no ha sido consistente en todos los estudios realizados, aunque parece ser el patrón predominante en la mayoría de reportes recientes. El hecho que el mismo linaje de CD tenga la capacidad de polarizar la respuesta sea hacia un patrón Th1 o Th2 permite que se induzca la respuesta adecuada de acuerdo a las circunstancias en que se haya desarrollado el proceso de activación del LT.

Evidencia reciente señala que el grado de maduración y de activación de la CD y la naturaleza de la señal que indujo su maduración es fundamental en el papel que estas células pueden tener en el proceso de diferenciación de los LT. Las CD inmaduras, en particular las CD1, secretan altas cantidades de IL-12, citoquina que induce el desarrollo de células Th1. La maduración de estas células se caracteriza por una pérdida gradual en la capacidad de producir esta citoquina, lo que favorecería el desarrollo del patrón Th2; esto, claramente indica que las CD pueden tener un efecto o función diferente en el proceso de especialización de la respuesta inmune dependiendo de su estado de maduración. La capacidad de la CD1 de promover un patrón Th1 o Th2 también parece ser dependiente de la proporción de células estimuladoras y respondedoras. Cuando hay una proporción CD/LT baja (1:300), las CD1 maduras favorecen el patrón Th2, el cual fue dependiente de la interacción CD28/B7 y de OX40/OX40L. Una proporción alta (1:4) favorece el desarrollo de un patrón mixto de citoquinas.

### Linfocitos B

Los LB, aunque de una manera menos eficiente, tienen la capacidad de presentar Ag a los LT. Diferentes estudios han mostrado que la inmunización con Ag proteicos en ausencia de LB, induce la activación de células Th1. Consistente con estos resultados, estudios *in vitro* han mostrado que las clonas Th2 son estimuladas por los LB (Figura 2), mientras las clonas Th1 son activadas óptimamente por macrófagos (Figura 1).

Las cepas de ratones BALB/c son generalmente susceptibles a la infección por *Leishmania major*, lo cual se ha asociado con el patrón Th2 que producen estos animales en respuesta al parásito. La eliminación de LB en esta cepa de ratones, en particular del subgrupo B1, se asoció con el desarrollo de resistencia a la infección por este parásito al desarrollar una respuesta Th1. Estos resultados corroboran la asociación entre el desarrollo del patrón Th2 con la presentación antigénica por parte de los LB.

La evidencia mostrada en este aparte, resalta la importancia que tienen las CPA en la polarización de la respuesta inmune, al influir sobre diferentes factores que determinan esta diferenciación, como es el caso de la coestimulación, la fuerza del estímulo recibido por el LT mediante su TCR y el microambiente de citoquinas proporcionado por estas células.

### Citoquinas

Se considera al microambiente de citoquinas como el principal factor inductor de la polarización de la respuesta de LT CD4+. Inicialmente se identificaron las citoquinas IFN- $\gamma$  e IL-12 como las principales inductoras del patrón Th1 (Figura 1), mientras que el perfil Th2 es inducido por la IL-4 (Figura 2). Sin embargo, evidencia reciente sugiere que otras citoquinas

como la IL-18, IL-23 y la IL-27 determinan de manera importante el desarrollo del patrón Th1.

Estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado que el tiempo que transcurre entre la activación y la diferenciación de las clonas Th0 en alguno de los fenotipos efector es muy corto. Por tanto, para que las citoquinas tengan influencia en el desarrollo de un fenotipo particular de respuesta inmune se requiere que estas moléculas estén presentes durante el proceso de presentación antigénica a los LT. Las células del sistema inmune innato son la principal fuente de las citoquinas que participan en este proceso. Los basófilos y mastocitos producen IL-4 en respuesta a la interacción de IgE e IgG con los receptores Fc en la membrana de estas células, mientras que la producción de IFN- $\gamma$  por células NK se da en respuesta a la IL-12 producida por macrófagos o CD activadas. Las células NKT también pueden producir IL-4 e IFN- $\gamma$  en respuesta a ciertos estímulos. Algunos de estos estímulos pueden estar presentes o no, dependiendo del tipo de infección.

### IL-12

La IL-12 es una citoquina inmunoreguladora, producida principalmente por monocitos, macrófagos y CD, cuya expresión depende de factores como el IRF-1, al igual que de otros miembros de esta familia de factores de transcripción. Esta citoquina está conformada por dos subunidades, p35 y p40 y su receptor está compuesto por dos cadenas: IL-12R $\beta_1$  e IL-12R $\beta_2$  cuya expresión es inducida en el LT por la activación del TCR o por la acción de IFN- $\gamma$  e IFN- $\alpha$ . La modulación de la cadena  $\beta_2$  es un factor crítico durante el proceso de diferenciación de los LT CD4+, ya que la expresión se mantiene en las clonas Th1 y se regula negativamente en las clonas Th2. Esta subunidad es necesaria para la señalización de la IL-12 por medio de la vía de señalización JAK/STAT, específicamente de las

quinasas JAK2 y Tyk2 y de los factores de transcripción STAT1, STAT3 y STAT4.

Estudios iniciales que examinaban la influencia de las citoquinas en la diferenciación de la respuesta de LT CD4<sup>+</sup> resaltaron la importancia de la IL-12 en el desarrollo de clonas Th1. Sin embargo, existe evidencia tanto *in vitro* como *in vivo* que muestran el desarrollo de clonas Th1, aún en ausencia de IL-12 o de factores de transcripción como STAT4. En ratones deficientes de IL-12 se ha observado el desarrollo de clonas Th1 en respuesta a infecciones como *Toxoplasma gondii*, *Mycobacterium avium* y algunos agentes virales, aunque las células de estos ratones sí exhiben una menor capacidad de producir IFN- $\gamma$ . Con base en estos resultados, se ha propuesto que la IL-12 puede no ser requisito indispensable para iniciar el proceso de diferenciación de clonas Th1 pero sí ser el elemento crítico para potenciar la producción de IFN- $\gamma$  necesaria para el control de las infecciones.

### IFN- $\gamma$

El IFN- $\gamma$  es una citoquina pleiotrópica que juega un papel esencial tanto en la respuesta inmune innata como en la adquirida. Las células NK, NKT, LT CD8<sup>+</sup> y células Th1 son las principales fuentes de esta citoquina, aunque otras células como macrófagos, LB e inclusive LT vírgenes pueden llegar a ser fuente importante en ciertos procesos infecciosos. El IFN- $\gamma$  interactúa con su receptor, compuesto por dos cadenas: IFN- $\gamma$ R1 e IFN- $\gamma$ R2, el cual se expresa en todas las células nucleadas del organismo. La unión del IFN- $\gamma$  a su receptor induce la vía de señalización JAK/STAT, específicamente de las quinasas JAK1 y JAK2; estas quinasas activadas inducen la fosforilación, dimerización y translocación al núcleo del factor de transcripción STAT1. El papel esencial de esta citoquina es la activación de macrófagos: aumenta su capacidad de fagocitar, regula positivamente

la expresión del CMH-I y II, aumenta la producción de IL-12 y de agentes microbicidas como son las especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno, todas ellas moléculas indispensables para la eliminación de patógenos intracelulares.

El papel que juega el IFN- $\gamma$  en el proceso de diferenciación Th1 *in vivo* es controvertido. Ratones resistentes al parásito *Leishmania major*, que producen citoquinas Th1 en respuesta a este protozoo, se convirtieron en susceptibles a esta infección al ser tratados con anticuerpos anti-IFN- $\gamma$ , lo cual se asoció con una respuesta Th2. Sin embargo, otros estudios con animales deficientes del receptor para esta citoquina fueron capaces de desarrollar una respuesta Th1 ante la infección por el mismo parásito. Los estudios *in vitro* son igualmente contradictorios; algunos de ellos señalan la importancia de esta citoquina en el proceso directo de diferenciación Th1 mientras que otros demuestran que el IFN- $\gamma$  no es suficiente para la diferenciación del patrón Th1, y que su papel principal radica en alterar el proceso de diferenciación Th2. Una de las características del proceso de diferenciación Th2 es que estas células regulan negativamente el IL-12R $\beta_2$  y por lo tanto se hacen insensibles a esta citoquina; si durante este proceso se adiciona IFN- $\gamma$ , se restaura la expresión del receptor de IL-12 y se altera todo el proceso de diferenciación Th2.

La importancia del papel del IFN- $\gamma$  en el desarrollo del perfil Th1 se ha fundamentado en observaciones que demuestran que ratones deficientes de esta citoquina o de su receptor, muestran susceptibilidad a infecciones por patógenos intracelulares como *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium bovis*, entre otros. Adicionalmente, estudios en modelos de lupus murino, con ratones deficientes del gen de IFN- $\gamma$  o de su receptor, muestran una significativa reducción de las características severas de la enfermedad, la que es mediada por un patrón de citoquinas Th1.

### IL-18

La IL-18 es una citoquina que es miembro de la familia de IL-1 y es producida principalmente por macrófagos y CD. El receptor consiste en una subunidad que une la citoquina, IL-18R $\alpha$  y una subunidad que traduce las señales, IL-18R $\beta$ . Este receptor está ausente en LT vírgenes y se expresa en células Th1, lo que ha llevado a sugerir que la señalización desencadenada por la IL-12 es necesaria para su expresión. La vía de activación es similar a la de la IL-1, la cual involucra la quinasa IRAK, la proteína adaptadora MyD88 y el factor de transcripción NF $\kappa$ B. Esta citoquina no es esencial para el proceso de diferenciación Th1 pero sí tiene un efecto en el desarrollo de células efectoras Th1 ya que optimiza la producción de IFN- $\gamma$  favoreciendo las respuestas inflamatorias. Animales doblemente "knock-out" para IL12 e IL18 tienen alterado significativamente el proceso de diferenciación Th1; sin embargo, algunas de estas células pueden ser detectadas en respuesta a ciertas infecciones, lo que ha llevado al descubrimiento de citoquinas alternativas que promueven el desarrollo del patrón Th1 como es el caso de la IL-23 e IL-27.

### IL-23

La IL-23 es un heterodímero formado por la subunidad p40 de la IL-12 y una subunidad p19. Es secretada principalmente por CD activadas y tiene funciones muy similares a la IL-12. El receptor está compuesto por el IL-12R $\beta_1$  y una cadena nueva relacionada con el IL-12R $\beta_2$  y se encuentra expresado en células NK, macrófagos y LT CD4+ de memoria. Su interacción con la IL-23 activa la vía de señalización JAK/STAT, específicamente de las quinasas JAK2 y Tyk2 y de los factores de transcripción STAT1, STAT3, STAT4 y STAT5. Esta citoquina no está involucrada en el proceso inicial de diferenciación de clones Th1 pero sí participa en mantener la producción de IFN- $\gamma$  en las etapas posteriores del desarrollo de LT.

### IL-27

La IL-27 es un heterodímero compuesto por una subunidad p28 y por EBI3 (gen 3 inducido durante la infección por el virus Epstein Barr), que tiene homología con el gen p40 de la IL-12. Esta citoquina es producida principalmente por células de la línea mieloide como monocitos, macrófagos y CD; comparte varias características de la IL-12 y la IL-18. Induce la diferenciación y la proliferación de células efectoras Th1 al actuar sinérgicamente con la IL-12 para potenciar la producción de IFN- $\gamma$ . Su receptor pertenece a la familia tipo I de receptores de citoquinas y se expresa solamente en células linfoides, particularmente en células NK y LT CD4+ en reposo. Durante el proceso de diferenciación de los LT CD4+ el receptor se regula negativamente tanto en Th1 como en Th2. Ratones deficientes para este receptor exhiben respuestas Th1 alteradas con una disminución significativa en la producción de IFN- $\gamma$  en condiciones en que normalmente se induce esta citoquina. La vía de señalización utilizada por esta citoquina es aún objeto de estudio.

### IL-4

La IL-4 es producida por células NKT, basófilos y mastocitos, durante la fase temprana de la respuesta inmune y por células Th2 diferenciadas. Su receptor es un heterodímero que consiste en una cadena  $\alpha$  asociada con la cadena  $\gamma$ c que comparte con los receptores de IL-2, IL-7, IL-9, IL-15 e IL-21. La señalización se realiza por medio de la vía JAK/STAT y los factores de transcripción AP1, NFAT y STAT6. Es la única citoquina que activa la proteína STAT6, la cual es responsable de la mayoría de efectos inducidos por esta citoquina.

La IL-4 es una citoquina clave en el cambio de isotipo de los anticuerpos hacia IgE y en el proceso de diferenciación de células Th2; adicio-

nalmente, funciona como factor de crecimiento autocrino de esta subpoblación celular. El papel de la IL-4 en el desarrollo del fenotipo Th2, ha sido establecido en modelos de leishmaniosis murina, en donde se ha visto que la neutralización temprana de la producción de esta citoquina incrementa la resistencia de cepas BALB/c al promover la respuesta protectora Th1 e inhibir el desarrollo de la respuesta Th2. Sin embargo, estudios en cepas BALB/c "knock-out" para IL-4 muestran que estos ratones, aunque tienen un desarrollo alterado del patrón Th2, pueden eventualmente producir otras citoquinas de este patrón, lo que hace evidente la importancia de otros factores, en el desarrollo de una respuesta Th2. De hecho, se ha encontrado que la IL-5 también es importante para inducir la polarización de la respuesta hacia un perfil Th2, ya que al evaluar la presencia del fenotipo Th2 en ratones "knock-out" para el gen de IL-4 o en presencia de anticuerpos anti-IL-4, se encuentra que aunque la respuesta Th2 disminuye, no se elimina, gracias a la presencia de IL-5. Se ha demostrado además, que la IL-4 inhibe la expresión de la subunidad  $\beta_2$  del IL-12R, por lo que se pierde la respuesta a la IL-12 y por tanto se induce la diferenciación hacia subgrupos Th2.

#### IL-10

La IL-10 tiene una estructura de 4 dominios globulares y se une a un receptor de citoquina tipo II. Es sintetizada principalmente por macrófagos y su función primordial es regular negativamente la función de estas células fagocíticas; sin embargo, los LT e inclusive células no linfoides como los queratinocitos pueden producir cantidades significativas de esta citoquina. Durante la respuesta inmune, la IL-10 actúa como regulador negativo, permitiendo que una vez se haya erradicado el Ag, las células del sistema inmune vuelvan a un estado de reposo. La regulación negativa ocurre mediante la inhibición de la producción de cito-

quinas por parte del macrófago, particularmente de IL-12, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ , lo cual conduce a que se inhiba la expresión de moléculas coestimuladoras y del CMH. Por esta razón aunque se ha reportado que esta citoquina promueve el desarrollo de un patrón Th2, su papel parece estar más dirigido a suprimir el desarrollo de clonas Th1.

#### Quimioquinas

Las quimioquinas son mediadores solubles que tienen como papel central el de inducir la migración de las células de la respuesta inmune; sin embargo, también pueden modular tanto la respuesta proliferativa del LT como su respuesta efectora. De hecho, varias  $\beta$ - quimioquinas potencian la activación clonal de células Th1 y Th2, así como la liberación de citoquinas. Es el caso de MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ - y RANTES, producidas por las células NK y los LT CD8, que en conjunto con el IFN- $\gamma$  actúan como coactivadores de los macrófagos y en respuesta a algunos patógenos inducen un fenotipo Th1. Por otro lado, se ha visto que quimioquinas como MCP-1/CCL-2 estimulan la producción de IL-4 y su sobreexpresión está asociada con defectos en la inmunidad celular, lo que indica que estas quimioquinas pueden estar involucradas con la polarización hacia un fenotipo Th2. Estudios en ratones deficientes de estas quimioquinas, conducen a la incapacidad para desarrollar una respuesta Th2. De hecho, estas quimioquinas tienen un papel directo en la patogénesis de la fibrosis pulmonar, la cual es mediada por citoquinas Th2.

#### Características genéticas del individuo

El control genético del balance Th1/Th2 ha sido descrito en modelos murinos durante la infección experimental con *Leishmania major*, donde cepas C57BL son resistentes a la infección y producen una respuesta Th1, mientras que ra-

tones BALB/c producen una respuesta Th2 y desarrollan la enfermedad. Se ha postulado que esta diferencia puede estar regida por múltiples genes entre ellos los del CMH; sin embargo, estudios con ratones transgénicos para el locus H-2, no demostraron influencia de este complejo génico, lo que indica que deben existir otros factores genéticos involucrados.

Ratones transgénicos de las cepas BALB/c y B10.D2, que son susceptibles y resistentes respectivamente a la infección por *L. major*, exhiben diferencias en las citoquinas que producen sus LT en respuesta a la IL-12. Los LT vírgenes de ambas cepas responden inicialmente a la IL-12; sin embargo, la cepa BALB/c pierde rápidamente su capacidad de respuesta a esta citoquina después del estímulo *in vitro*. Por esta razón, se postula que el mecanismo de esta respuesta diferencial a la IL-12 es intrínseco del LT y no es atribuible a la presencia de otros factores extracelulares como la IL-4. A este respecto, se ha encontrado una región en el cromosoma 11 que contiene varios genes candidatos para influir el desarrollo de células Th, entre los cuales se incluye el IRF-1. Se plantea que diferencias alélicas en este gen pueden determinar, en parte, la resistencia/susceptibilidad a la infección con *L. major*, ya que este factor media algunas respuestas inducidas por el IFN- $\gamma$ .

### Vías de señalización

Diversos estudios han mostrado la importancia de factores de transcripción y de tirosinas quinasas en la polarización de la respuesta inmune; de hecho se ha encontrado que proteínas como STAT6, GATA-3, c-Maf y NFATc y las quinasas I $\kappa$ k y ERK contribuyen al desarrollo de la respuesta tipo Th2 (Figura 2).

Entre la evidencia experimental que involucra a estos factores en la polarización de la respuesta de LT CD4<sup>+</sup> hacia Th2 se destaca:

- Los LT CD4<sup>+</sup> deficientes de Lck muestran alteraciones *in vitro* en el desarrollo de células Th2; sin embargo, recientemente se demostró que la tirosina I $\kappa$ k, que es activada por Lck, es esencial en el desarrollo del perfil Th2. Experimentos con LT CD4<sup>+</sup> que no expresan I $\kappa$ k exhibieron una capacidad disminuida de producir IL-4, defecto que se asoció a una disminución en la translocación al núcleo del factor NFATc1. Consistente con estos resultados *in vitro*, animales "knock-out" para I $\kappa$ k son incapaces de desarrollar un patrón Th2 en respuesta a microorganismos que inducen este tipo de respuesta en los animales normales.
- La diferenciación de Th2 requiere de proteínas quinasas como ERK, pues ésta aumenta los eventos de fosforilación tanto del receptor de IL-4 como de STAT6, inducida por la IL-4.
- La señalización que ocurre por CD28 conduce principalmente a un patrón Th2, gracias a una fosforilación sostenida de tirosinas, a la reorganización de los lípidos de membrana y a la acumulación del factor de transcripción NFATc, que se une a los sitios NFAT-AP1 en el promotor de la IL-4.
- GATA-3 es otro factor de transcripción involucrado en la diferenciación del patrón Th2; esto se ha demostrado en estudios en los que se utiliza RNA antisentido o la expresión de mutantes dominantes negativas para este factor, en los que se observa una pérdida de la expresión de RNAm para IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13. Un hecho más convincente de su papel en la diferenciación a Th2, es el reporte de que este factor puede rescatar la diferenciación de Th2 en células deficientes de STAT6.

De otro lado, factores como STAT4, IRF-1, NF $\kappa$ B, T-bet y particularmente quinasas como p38 y JAK, ayudan a la diferenciación del perfil Th1 (Figura 1). Ratones deficientes de JAK-2

exhiben alteraciones en la diferenciación de precursores de LT CD4<sup>+</sup> hacia un fenotipo Th1 debido a defectos en la producción de IFN- $\gamma$  en fases tempranas de la activación. De otro lado, en ratones deficientes de JAK-1, se ha hecho evidente un aumento en la producción de citoquinas Th2, debido a la acumulación nuclear del factor de transcripción NFATc; se ha postulado que JAK-1 es un regulador negativo de los niveles de NFATc1, por tanto controla la producción de IL-4. La inhibición de la MAPK p38 bloquea la producción de IFN- $\gamma$  que depende de las señales mediadas por IL-12, pero en forma independiente a STAT4.

El factor de transcripción T-bet se induce rápidamente y específicamente en células Th1 en desarrollo; su expresión es controlada por el TCR y por la vía de IFN- $\gamma$ R/STAT1 pero no por la vía de IL-12/STAT4. De esta forma el IFN- $\gamma$  induce la producción de T-bet, el cual activa la producción de más IFN- $\gamma$ , creando una retroalimentación positiva que promueve el proceso de diferenciación hacia Th1. T-bet también induce la expresión de IL-12R $\beta_2$ , favoreciendo la señalización mediada por IL-12/STAT4 y optimizando la producción de IFN- $\gamma$ . Animales deficientes de T-bet tienen alterada su capacidad de producir IFN- $\gamma$  en respuesta a estímulos que normalmente inducen esta citoquina.

Existe evidencia de que la señalización generada por NF- $\kappa$ B/Rel es un elemento clave en la modulación de la inmunidad celular. Los datos obtenidos a partir de ratones transgénicos que expresan un inhibidor trans-dominante de la inducción de NF- $\kappa$ B/Rel, en los cuales se evaluaron diferentes parámetros de la respuesta inmune usando modelos de DTH y enfermedad alérgica pulmonar, mostraron que la respuesta Th1, caracterizada por producción de IFN- $\gamma$  e inducción de la producción de IgG2a, se encuentra profundamente alterada. Esto demuestra la importancia de este factor en la diferenciación hacia un perfil Th1.

## CONCLUSIÓN

Es claro que muchos factores, y en particular las citoquinas, tienen un efecto dramático en el proceso de diferenciación de los LT CD4<sup>+</sup>; sin embargo, los mecanismos mediante los cuales se da este proceso no se han aclarado completamente. Aún no es claro si las citoquinas dirigen este proceso de diferenciación o solo promueven el crecimiento de las células cuya diferenciación ha sido determinada por otros factores o por un proceso de selección estocástico. Una de las principales dificultades para definir el papel que tienen las citoquinas en este proceso es la función dual que aparentemente tienen: inducir el proceso de diferenciación y la proliferación de las células efectoras.

La señalización mediada por el TCR, que a su vez depende de muchos factores que determinan las diferentes vías de activación; el tipo de CPA involucrada y la predisposición genética del individuo, también son factores determinantes del tipo de respuesta inmune que eventualmente se desarrolla. De esta manera, está establecido que las células Th1 modulan la respuesta inflamatoria, principalmente por el efecto del TNF- $\alpha$ . Además, son las responsables de la inmunidad contra patógenos intracelulares, al promover su eliminación por medio de la activación de macrófagos y mecanismos antimicrobianos inducidos por el IFN- $\gamma$ , como son la producción de radicales de oxígeno, la expresión de moléculas CMH-I y II y la producción de IL-12. En contraste, las células tipo Th2, promueven la proliferación y diferenciación de LB en células productoras de anticuerpos; potencian la inmunidad contra ciertos patógenos extracelulares como bacterias y helmintos; se encuentran involucradas en el desarrollo de enfermedades alérgicas, principalmente mediadas por eosinófilos,

mastocitos y neutrófilos; y en la regulación negativa de la respuesta Th1. Adicionalmente, la respuesta Th1 potencia la capacidad citolítica de los LT citotóxicos y de las células NK y en este proceso puede llegar a desencadenar enfermedades autoinmunes. De hecho, se sabe que la producción de citoquinas de este perfil, es característico de enfermedades autoinmunes como artritis reumatoide, diabetes mellitus insulino dependiente y encefalitis autoinmune experimental. Un resumen esquemático de los diferentes eventos implicados en la polarización de la respuesta inmune hacia un fenotipo Th1 o Th2 se presenta en las figuras 1 y 2, respectivamente.

## LECTURAS RECOMENDADAS

1. Constant SL, Bottomly K. Induction of Th1 and Th2 CD4+ T cell responses: the alternative approaches. *Annu Rev Immunol* 1997;15:297-322.
2. Guler ML, Gorham JD, Hsieh CS, Mackey AJ, Steen RG, Dietrich WF, Murphy KM. Genetic susceptibility to Leishmania: IL-12 responsiveness in TH1 cell development. *Science* 1996 Feb 16;271(5251):984-7.
3. Szabo SJ, Sullivan BM, Peng SL, Glimcher LH. Molecular mechanisms regulating Th1 immune responses. *Annu Rev Immunol* 2003;21:713-58.
4. Rissoan MC, Soumelis V, Kadowaki N, Grouard G, Briere F, de Waal Malefyt R, Liu YJ. Reciprocal control of T helper cell and dendritic cell differentiation. *Science*. 1999 Feb 19;283(5405):1183-6.
5. Ruedl C, Bachmann MF, Kopf M. The antigen dose determines T helper subset development by regulation of CD40 ligand. *Eur J Immunol* 2000 Jul;30(7):2056-64.
6. Schweitzer AN, Borriello F, Wong RC, Abbas AK, Sharpe AH. Role of costimulators in T cell differentiation: studies using antigen-presenting cells lacking expression of CD80 or CD86. *J Immunol*. 1997 Mar 15;158(6):2713-22.
7. Hamalainen H, Zhou H, Chou W, Hashizume H, Heller R, Lahesmaa R. Distinct gene expression profiles of human type 1 and type 2 T helper cells. *Genome Biology* Vol 2 No 7.
8. Brown DR, Reiner SL. Polarized helper-T-cell responses against *Leishmania major* in the absence of B cells. *Infect Immun* 1999;67(1):266-70.
9. Mattner F, Magram J, Ferrante J, Launois P, Di Padova K, Behin R, Gately MK, Louis JA, Alber G. Genetically resistant mice lacking interleukin-12 are susceptible to infection with *Leishmania major* and mount a polarized Th2 cell response. *Eur J Immunol*. 1996 Jul;26(7):1553-9.
10. Power CA, Wei G, Bretscher PA. Mycobacterial dose defines the Th1/Th2 nature of the immune response independently of whether immunization is administered by the intravenous, subcutaneous, or intradermal route. *Infect Immun*. 1998; 66 (12): 5743-50.
11. Dong C, Flavell RA. Cell fate decision: T-helper 1 and 2 subsets in immune responses. *Arthritis Res* 2000;2:179-188.
12. Langenkamp A, Messi M, Lanzavecchia A, Sallusto F. Kinetics of dendritic cell activation: impact on priming of TH1, TH2 and nonpolarized T cells. *Nat Immunol* 2000;1(4):311.