

MECANISMOS DE REGULACIÓN NEGATIVA DE LA RESPUESTA INMUNE

Diana Castaño Monsalve, Pablo Javier Patiño
Universidad de Antioquia

Abreviaturas usadas en este capítulo

Ac:	Anticuerpos	ITAM:	Motivos de activación de inmunoreceptores basados en tirosinas
ADCC:	Citotoxicidad dependiente de anticuerpos	ITIM:	Motivo de inhibición de inmunoreceptores basados en tirosinas
BCR:	Receptor de antígeno de la célula B	IP₃:	Inositol trifosfato
Btk:	Tirosina kinasa de Bruton	JAK:	Quinasas de la familia Janus
CDK:	Quinasas dependientes de ciclinas	kDa:	Kilodalton
CMH:	Complejo mayor de histocompatibilidad	KIR:	Receptores de muerte de la superfamilia de las Igs
CPA:	Célula presentadora de antígeno	LAT:	Unidor de células T activadas
CTLA-4:	Antígeno-4 de linfocitos T citotóxicos	LB:	Linfocitos B
ERK:	Quinasa regulada por señales extracelulares	LFA:	Antígeno asociado a la función leucocitaria
FcR:	Receptores para los dominios Fc de las inmunoglobulinas	LPS:	Lipopolisacárido
G-CSF:	Factor estimulador de colonias de granulocitos	LT:	Linfocitos T
GM-CSF:	Factor estimulador de colonias de granulocitos y monocitos	MAPK:	Proteínas quinasas activadas por mitógenos
ICAM:	Molécula de adhesión intercelular	M-CSF:	Factor estimulador de colonias de monocitos
ICOS:	Molécula coestimuladora inducible	MIP:	Proteína inhibitoria del macrófago
IFN:	Interferón	NK:	Asesinas naturales
Ig:	Inmunoglobulina	OVA:	Ovalbumina
IL:	Interleuquina	PAF:	Factor activador de plaquetas
IL-1ra:	Antagonista del recetor de IL-1	PD-1:	Receptor de muerte programada 1
		PGE-2:	Prostaglandina E ₂

- PLC:** Fosfolipasa C
RB: Retinoblastoma
SH2: Dominios de homología 2 a la proteína Src
STAT: Transmisores de señal de activación y activadores de la transcripción
TCR: Receptor de antígeno de la célula T
TGF: Factor transformante del crecimiento
TNF: Factor de necrosis tumoral
Tr1: Células T reguladoras tipo 1
vIL-10: IL-10 viral

INTRODUCCIÓN

Una característica sobresaliente del sistema inmune de los vertebrados es su habilidad de mantener un equilibrio entre la activación y la inhibición, lo cual ocurre gracias a su capacidad de regular las distintas respuestas que dicho sistema desencadena. Esta modulación permite que el sistema conserve la capacidad de reconocer y eliminar agentes extraños del organismo a la vez que limita las repuestas efectoras, inactivando (suprimiendo) o prescindiendo de las vías empleadas para dicho fin. En ausencia de estas señales inhibitorias la respuesta inmune puede resultar en condiciones anormales tales como la autoinmunidad y la atopia, fenómenos que finalmente ilustran el papel esencial de los mecanismos reguladores durante la respuesta inmune.

El tema de la regulación de la respuesta inmune ha sido uno de los temas más álgidos en toda la historia de la inmunología; de hecho, cuando se evidenció la existencia de un sistema de defensa en los seres vivos, el primer interrogante que surgió era de cómo dicho sistema no atacaba las células o tejidos propios. Precisamente, la era moderna de la inmunología nació en la segunda mitad del siglo XX cuando se establecen los paradigmas de la delección clonal y la tolerancia inmunológica, como los mecanismos fundamentales para expli-

car la falta de respuesta contra lo propio. Sin embargo, desde entonces la evolución del conocimiento ha sido enorme y los mecanismos reguladores de la respuesta inmune han atravesado por distintos modelos explicativos, los cuales han ido de la mano con los desarrollos metodológicos para el estudio del sistema inmune. Con el desarrollo de las técnicas de biología celular en los años 1960s y a comienzos de los años 1970s se pudo establecer que ciertas células del sistema inmune, particularmente de la línea de los linfocitos T, ejercían una inhibición específica de ciertas respuestas inmunes, lo que incluso se pudo atribuir a una subpoblación de estas células, los linfocitos T CD8+, que durante mucho tiempo se conocieron como las células supresoras del sistema inmune. Sin embargo, con el desarrollo de las técnicas de biología molecular a finales de los 1970s y principios de los 1980s, no fue posible demostrar una base molecular para tal efecto y rápidamente las células supresoras perdieron crédito, lo cual fue ayudado por la caracterización de una serie de moléculas solubles que permitían explicar los distintos efectos del sistema inmune, incluyendo la inhibición de la respuesta inmune. Luego, el acelerado desarrollo de la genómica estructural llevó a la identificación de un gran número de genes, muchos de ellos relacionados con el sistema inmune, y empezaron a caracterizarse muchas proteínas no solubles que actuaban como receptores de membrana o como moléculas involucradas en la señalización intracelular, que cumplen funciones reguladoras negativas en la activación de las células inmunes, lo cual introdujo un mayor nivel de complejidad al control de la respuesta inmune. Sin embargo, los nuevos desarrollos en la genómica funcional y la posibilidad de contar con un número mayor de marcadores celulares, han restituido el papel protagónico de las células T como supresoras específicas de la respuesta inmune, aunque ahora la modulación negativa parece que la realizan los linfocitos T CD4+.

De acuerdo a lo anterior, en este capítulo se hará una revisión de los elementos reguladores negativos de la respuesta inmune que se conocen hasta el momento, empezando por las células reguladoras o supresoras, siguiendo con las principales citoquinas consideradas inmunosupresoras, luego describiendo los receptores inhibidores más importantes y finalizando con algunos mecanismos reguladores que aún no se conocen completamente o que han sido dejados de lado porque no tenemos la capacidad de entenderlos, como es el caso de la red idiotípica. Sin embargo, es necesario aclarar que ninguno de estos mecanismos puede explicar completamente la regulación de la respuesta inmune y como sucede con los sistemas biológicos, su complejidad solo la podemos explicar cuando ponemos a interactuar los mecanismos que hemos evidenciado gracias al estudio reduccionista de los sistemas vivos.

CÉLULAS REGULADORAS

Se han identificado varios subgrupos de células T reguladoras con fenotipos y mecanismos de acción que difieren entre ellas. Las células reguladoras pueden inhibir o suprimir las respuestas inmunes dirigidas hacia antígenos propios o extraños. Se incluyen principalmente dentro de este grupo las células T CD4+CD25+, las células Tr1 y las células Th tipo 3 (Th3). Muchos aspectos biológicos y fisiológicos de estas poblaciones celulares aún se desconocen, por lo que a continuación se ofrece un panorama inconcluso de los principales conocimientos que se tienen actualmente de estas células.

Células T CD4+ CD25+

La capacidad de suprimir la respuesta inmune por parte de las células T fue reportada por

primera vez a comienzos de los años 1970s, y como se mencionó antes, esta actividad se atribuyó a las células T CD8+, pero la imposibilidad de demostrar de manera inequívoca esta asociación llevó a que se descartara la existencia de células supresoras específicas de antígeno. Sin embargo, en 1995 Sakaguchi y colaboradores describieron una subpoblación de linfocitos T CD4+ en ratones con la capacidad de regular negativamente la respuesta inmune y de mantener la tolerancia ante antígenos específicos, que como característica importante, estos LT expresaban constitutivamente la cadena α del receptor de IL-2 (CD25); esta subpoblación constituye aproximadamente el 10% de los LT totales. Hasta ese momento no se conocía que estas células pudieran tener una función inhibitoria específica de antígeno. Recientemente se caracterizó una población con un fenotipo y función similar en humanos.

Estos LT CD4+CD25+, ahora conocidos como "células supresoras naturales", tienen una expresión baja de CD45RB (CD45RB^{lo}) y una expresión constitutiva elevada de CTLA-4. Aunque se conoce del papel regulador negativo que el CTLA-4 tiene en la respuesta inmune, su función en la regulación mediada por los LT CD4+CD25+ no es claro. En ciertos estudios se ha observado que el bloqueo de CTLA-4 con anticuerpos específicos, inhibe la función reguladora de estos linfocitos, mientras otros trabajos han encontrado que el uso de LT CD4+CD25+ deficientes de CTLA-4, así como el bloqueo de esta vía de coestimulación, no altera la supresión mediada por estas células.

Para que los LT CD4+CD25+ cumplan su función supresora necesitan reconocer antígenos específicos en el contexto del CMH clase II y ser activados mediante su TCR. Se ha comprobado que la extensión de la supresión mediada por LT CD4+CD25+ depende de la fuerza de estimulación específica del antígeno dada

tanto a las células efectoras como a las células supresoras. El repertorio de TCR de estos linfocitos es altamente variable, sin embargo, no se conoce si es tan diverso como el de los LT CD4+CD25- (células efectoras). Los LT CD4+CD25+ son considerados anérgicos, ya que ante un estímulo dado por el TCR proliferan pobremente, no producen IL-2 y requieren de la adición exógena de esta citoquina para su supervivencia, diferenciación y función *in vitro*. No se tienen claros los mecanismos moleculares involucrados en el origen o la generación de las células CD4+CD25+; sin embargo, existen las siguientes hipótesis y evidencias al respecto:

1. Se ha observado que existe una población de LT CD4+CD25+ que se expresa en el timo, parte de la cual sale posteriormente a sangre periférica. Se cree que estas células sufren en el timo una especie de selección negativa alterada, en la cual las células reciben una señal que les confiere el fenotipo anérgico y supresor. Datos recientes apoyan esta hipótesis del origen tímico de los LT CD4+CD25+. En un estudio en el que se cruzaron ratones que expresaban un TCR transgénico, específico para un antígeno de la hemaglutinina del virus de la influenza, con otros ratones transgénicos para la expresión de dicho antígeno, se observó que el 30% de los timocitos y el 50% de los linfocitos de ganglio linfático en los ratones nacidos del cruce eran positivos para el transgen del TCR y eran CD25+, lo cual indica que en estos animales estaban seleccionando preferencialmente células no respondedoras contra la hemaglutinina.
2. Foxp3 es un gen regulador clave en el desarrollo de LT CD4+CD25+ en el timo o en la periferia. Este gen codifica para un factor de transcripción (Scurfy) que se expresa selectivamente en los linfocitos T reguladores y

es esencial para la generación, desarrollo y diferenciación de estos linfocitos. Este factor se encuentra genéticamente alterado en algunos pacientes y en ratones con síndromes inflamatorios y autoinmunes, asociado a una disminución marcada de LT reguladores. Se ha sugerido que Foxp3 es un marcador más específico para la selección de LT CD4+CD25+ que los actualmente utilizados (CD25, CD45RB, CTLA-4, entre otros).

3. Parte de los hallazgos sugieren que los LT CD4+CD25+ se pueden generar a partir de LT CD4+CD25- de memoria. Un estudio que soporta esta hipótesis muestra que la estimulación de LT CD4+CD25- de memoria, por medio de un anticuerpo anti-CD3 junto con una vía de coestimulación recién descrita que usa el antígeno 4C8 (anti-4C8), permite la generación de LT CD4+CD25+ con el fenotipo inmunosupresor definido para los LT CD4+CD25+ de ocurrencia natural.
4. Debido a la similitud funcional de los LT CD4+CD25+ con las células anérgicas que se generan *in vitro*, éstas se han comparado entre sí y se ha demostrado que presentan un fenotipo y una capacidad supresora prácticamente idéntica. Por esto, se ha propuesto que los protocolos usados para anergizar células T pueden utilizarse para la generación de LT CD4+CD25+ con capacidad supresora. Estos hallazgos están a favor de la hipótesis de que los LT supresores se pueden generar a partir de LT efectoras obtenidos de sangre periférica.

De la misma manera que los mecanismos que explican el origen de los linfocitos T CD4+CD25+, parecen existir distintas formas de acción de estas células. A continuación se presentan varios modelos que explican y apoyan la capacidad inmunoreguladora de estas células (Figura 1):

1. Los LT CD4+CD25+ tienen la capacidad de inhibir la proliferación de LT CD4 + CD25- estimulados con anticuerpos anti-CD3, lo cual se asocia con un bloqueo en la producción de IL-2 en esta población efectora. La supresión se corrige con la adición de IL-2 o con la estimulación de la vía CD28.

2. Los LT CD4+CD25+ tienen la capacidad de suprimir la proliferación y la producción de citoquinas efectoras (IFN γ) por los LT CD8+, mediante un mecanismo dependiente de contacto LT-LT.

3. En los modelos murinos de autoinmunidad se ha observado que la enfermedad autoinmune inducida por la transferencia adoptiva de LT CD4+CD25- o de LT CD45RB^{hi}, se inhibe mediante la transferencia de LT CD4+CD25+. Un ejemplo representativo de esto se observa en modelos de diabetes en ratones no obesos (NOD) o en los inducidos por LT diabetogénicos, en los cuales los LT CD4+CD25+ inhiben el desarrollo de la enfermedad.

4. Los LT CD4+CD25+ inducen tolerancia a aloantígenos. En un modelo murino de trasplante cardíaco se ha observado que los LT CD4+CD45RB^{lo} o LT CD4+CD25+ confieren tolerancia a los alotrasplantes de tejido cardíaco, mientras los LT CD4+CD45RB^{hi} o

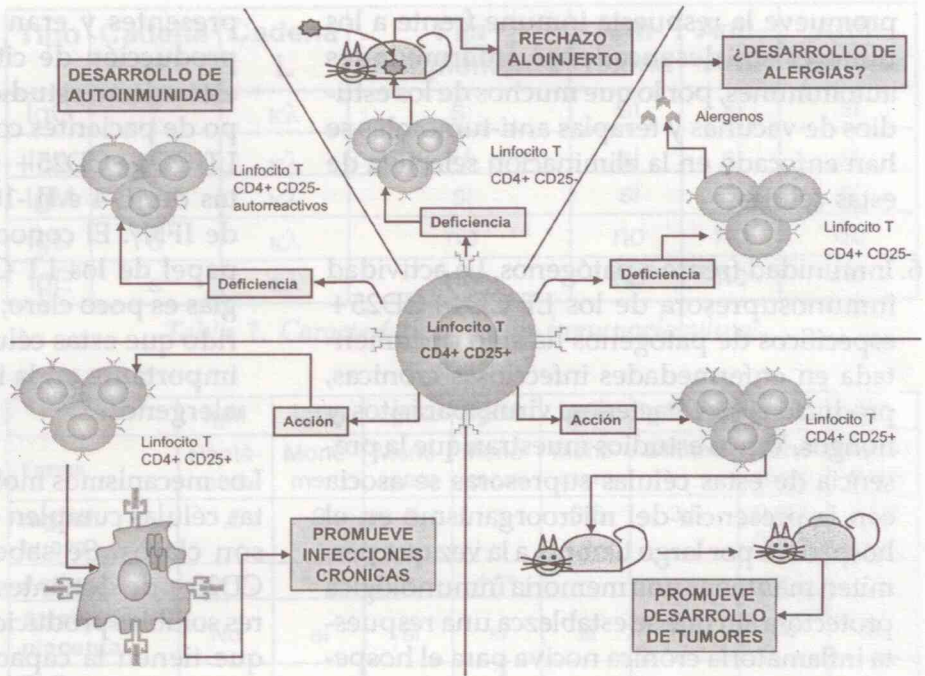


Figura 1. Capacidad inmunoreguladora de los LT CD4+CD25+. En la figura se esquematizan los efectos a los cuales pueden estar llevando la deficiencia (arriba) o de la acción excesiva (abajo) de estos linfocitos reguladores.

LT CD4+CD25- de los mismos ratones no lo hacen. Adicionalmente, en modelos murinos, se ha logrado inducir tolerancia a aloantígenos específicos, asociado con la presencia de clonas reguladoras de LT CD4+CD25+ específicas de dicho aloantígeno.

5. Los LT CD4+CD25+ impiden la inmunidad anti-tumoral. Recientemente se describió que los LT CD4+CD25+ pueden suprimir la respuesta inmune hacia antígenos tumorales, al inhibir la activación de clonas de LT efectoras específicas de tumor. Algunos estudios han comprobado la infiltración de LT CD4+CD25+ específicos de antígenos tumorales en tejido maligno y han demostrado que la eliminación de estas células previene el crecimiento de células tumorales inyectadas en ratones. Hasta el momento, la eliminación específica de LT CD4+CD25+

promueve la respuesta inmune frente a los tumores sin desencadenar enfermedades autoinmunes, por lo que muchos de los estudios de vacunas y terapias anti-tumorales se han enfocado en la eliminación selectiva de estas células.

6. Inmunidad frente a patógenos. La actividad inmunosupresora de los LT CD4+CD25+ específicos de patógenos ha sido documentada en enfermedades infecciosas crónicas, producidas por bacterias, virus, parásitos y hongos. Varios estudios muestran que la presencia de estas células supresoras se asocia con la presencia del microorganismo en el hospedero por largo tiempo, a la vez que permiten mantener una memoria inmunológica protectora sin que se establezca una respuesta inflamatoria crónica nociva para el hospedero. Posiblemente, muchos microorganismos han adquirido la habilidad de explotar el proceso homeostático dado por los LT CD4+CD25+, con el fin de suprimir la respuesta inmune efectora, favoreciendo así, su estadía por largo tiempo en el hospedero, siendo una estrategia evolutivamente favorable para la persistencia del patógeno en un microambiente apropiado.

7. Pocos estudios han evaluado el papel de los LT CD4+CD25+ en el desarrollo de las alergias. En un estudio inicial se observó que la eliminación de LT CD4+CD25+ en ratones prevenía la respuesta Th2 inducida por alérgenos e incrementaba la diferenciación hacia Th1, sugiriendo que los LT CD4 + CD25+ son importantes para la diferenciación hacia Th2. Un estudio posterior que analizó los LT CD4+CD25+ en pacientes alérgicos a la leche de vaca, demostró que la respuesta específica de alérgeno era normal por parte de estas células. Más recientemente se ha evidenciado que en muchos pacientes con rinitis alérgica, los LT CD4+CD25+ estaban

presentes y eran funcionales (inhibían la producción de citoquinas Th1 y Th2). En este mismo estudio, se encontró un subgrupo de pacientes con atopía en los cuales los LT CD4+CD25+ producían cantidades altas de IL-4 e IL-10 y una baja producción de IFN γ . El conocimiento que se tiene del papel de los LT CD4+CD25+ en las alergias es poco claro; sin embargo, se ha sugerido que estas células no tienen una función importante en la inducción de tolerancia a alérgenos.

Los mecanismos moleculares por los cuales estas células cumplen su función reguladora no son claros. Se sabe que son los LT CD4+CD25+ de donantes tolerantes y no los factores solubles producidos por estos linfocitos, los que tienen la capacidad de transferir adoptivamente la tolerancia a receptores vírgenes (tolerancia infecciosa) y que al parecer, es el contacto del LT CD4+CD25+ con su célula blanco, el factor esencial para llevar a cabo esa función inmunosupresora.

El papel de las CPA en la supresión dada por los LT CD4+CD25+ no está claro. Si bien se ha visto que esta supresión ocurre en ausencia de CPA, al parecer por un contacto directo entre LT-LT, en los modelos donde se usan CPA, se observa un aumento de la capacidad supresora de los LT CD4+CD25+. Con el fin de determinar si las CPA cumplen un papel pasivo o activo en este proceso, varios investigadores han reemplazado las CPA por perlas cubiertas con anti-CD3 y anti-CD28. Este tipo de modelos han permitido proponer que las CPA no son esenciales para que los LT CD4+CD25+ exhiban su capacidad supresora; al parecer la superficie de la CPA serviría como plataforma para la interacción de células efectoras CD4+ o CD8+ con los LT supresores CD4+CD25+ (Figura 2).

Hasta el momento la mayoría de estudios que se han llevado a cabo en LT CD4+CD25+ no han revelado la producción de algún factor soluble que explique la capacidad reguladora de estas células. Dentro de esta categoría, las citoquinas que principalmente se han estudiado son el TGFβ y la IL-10. En los LT CD4+CD25+ se ha observado la presencia del RNAm que codifica para estas citoquinas, además se ha confirmado la expresión de estas proteínas; sin embargo, cuando se ha estudiado la capacidad reguladora de estas células en ratones TGFβ^{-/-} o IL-10^{-/-} o tratados con anticuerpos neutralizantes para estas citoquinas, no se evidencian alteraciones de la capacidad supresora de dichas células. Sin embargo, hallazgos recientes, en parte, contradicen estas observaciones; en un estudio sobre la persistencia de *Leishmania major* en la piel de ratones C57BL/6, se observó que los LT CD4+CD25+ que se acumulaban en los sitios de la lesión tenían mecanismos supresores independientes de IL-10 importantes para el crecimiento y supervivencia del parásito, pero adicionalmente, poseían mecanismos supresores dependientes de la producción de IL-10, que en este caso fueron esenciales para el establecimiento de infecciones persistentes y para la preservación de la inmunidad adquirida a *L. major*. Son necesarios estudios posteriores para esclarecer cuál es el papel de estas citoquinas en la capacidad reguladora de los LT CD4+CD25+.

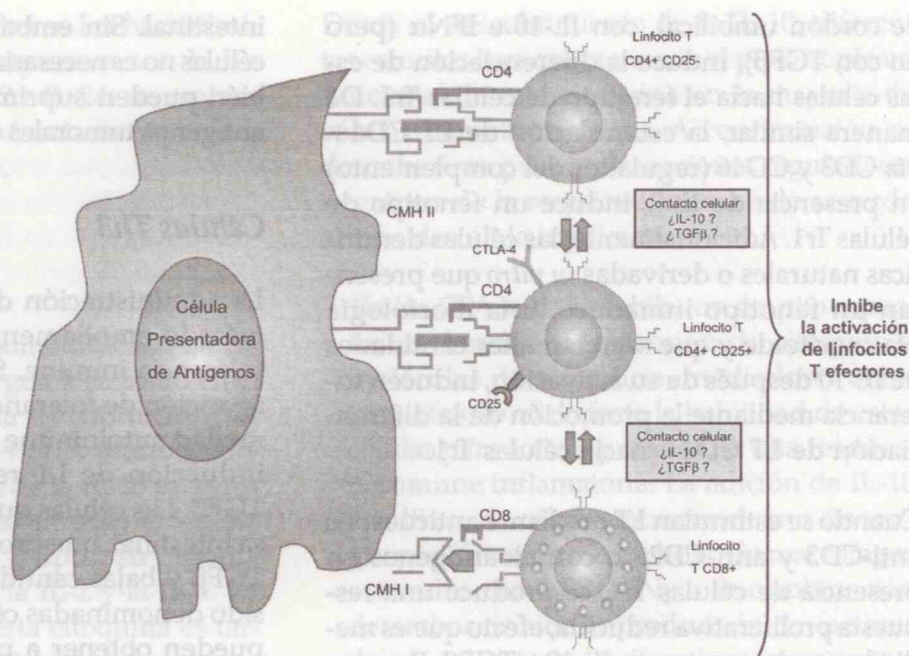


Figura 2. Efecto supresor de los LT reguladores. El acoplamiento de los LT CD4+CD25+, CD4+CD25- y CD8+ a una misma CPA permite que las células reguladoras ejerzan directamente sus efectos supresores sobre los LT efectores. En este modelo aún se desconoce el mecanismo exacto por el cual se logra esta inhibición.

Células Tr1

La activación crónica *in vitro* de LT CD4+ humanos o murinos en la presencia de IL-10, lleva a la generación de unas clonas de LT CD4+ con baja proliferación y con la capacidad de producir altas cantidades de IL-10 y bajos niveles de IL-2 e IL-4. Estas clonas son capaces de suprimir la proliferación de LT CD4+ en respuesta a antígenos específicos, además tienen la capacidad de prevenir el desarrollo de colitis inducida en ratones por la transferencia adoptiva de LT CD4+CD45RB^{hi}. Los LT CD4+ que secretan altas cantidades de IL-10 e inhiben respuestas inmunes *in vitro* e *in vivo*, se han denominado células Tr1.

El tratamiento de LT CD4+ vírgenes, derivados tanto de sangre periférica como de sangre

de cordón umbilical, con IL-10 e IFN α (pero no con TGF β), induce la diferenciación de estas células hacia el fenotipo de células Tr1. De manera similar, la estimulación de LT CD4+ vía CD3 y CD46 (regulador del complemento) en presencia de IL-2, induce un fenotipo de células Tr1. Adicionalmente, las células dendríticas naturales o derivadas *in vitro* que presentan un fenotipo inmaduro, una morfología plasmocitoide y que secretan altas cantidades de IL-10 después de su activación, inducen tolerancia mediante la promoción de la diferenciación de LT CD4+ hacia células Tr1.

Cuando se estimulan LT mediante anticuerpos anti-CD3 y anti-CD28 o con aloantígenos en presencia de células Tr1, se produce una respuesta proliferativa reducida, efecto que es mediado parcialmente por IL-10 y TGF β . Por otro lado, el estímulo de las células Tr1 por medio de su TCR, lleva a la producción de IL-10 principalmente, pero también en menor cantidad de TGF β , IFN γ y en niveles más bajos o casi indetectables de IL-2 e IL-4.

Pocos estudios han evaluado el papel de las células Tr1 en procesos anormales. Sin embargo, un estudio sugiere que estas células posiblemente participan en la regulación de las respuestas alérgicas. En este trabajo se observó que la transferencia de clonas Tr1 específicas de OVA, a ratones BALB/c que al ser inmunizados con OVA normalmente generan una respuesta Th2, inhibió la síntesis de IgE específica de OVA, mientras que la proliferación y la secreción de citoquinas no se alteró significativamente. De otro lado, en un modelo de encefalitis experimental autoinmune, la inducción de tolerancia a formas solubles de la proteína básica de la mielina, se asoció con un papel activo de las células Tr1. Además, se cree que las células Tr1 presentes en la lámina propia del intestino, cumplen un papel importante en la tolerancia oral a alimentos y a la microflora

intestinal. Sin embargo, la actividad de estas células no es necesariamente benéfica, pues también pueden suprimir la respuesta inmune a antígenos tumorales o a distintos patógenos.

Células Th3

La administración de antígenos orales es un método ampliamente conocido para inducir tolerancia inmune. Se ha comprobado que la aparición de tolerancia en animales con enfermedad autoinmune experimental se debe a la inducción de LT reguladores que secretan TGF β . Las células que se localizan en la mucosa intestinal, que producen altas cantidades de TGF β y bajas cantidades de IL-4 e IL-10, han sido denominadas células Th3. Estas células se pueden obtener a partir de la diferenciación *in vitro* de LT esplénicos con IL-4, IL-10, IL-12 y TGF β ; esto se correlaciona con el incremento en la secreción de TGF β que se encuentra después de la administración oral de IL-4. Las células Th3 son estimuladas en una forma específica de antígeno, pero debido a que su función inhibidora está mediada principalmente por la liberación de TGF β , la supresión que inducen no es específica de antígeno.

CITOQUINAS INMUNOSUPRESORAS

Las citoquinas tienen un papel muy importante en la regulación de las repuestas inmunes, pues tienen la capacidad de controlar la proliferación, la diferenciación y la función efectora de varias clases de células, principalmente las del sistema inmune. Aunque muchas citoquinas tienen la función específica de activar diferentes eventos, en particular fenómenos proinflamatorios necesarios para una respuesta inmune adecuada, existen otras citoquinas cuya función primordial consiste en regular negativamente o inhibir ciertas respuestas de este sistema, como es el caso de la IL-10 y el TGF β .

Otras citoquinas a las cuales se les ha atribuido una función inmunosupresora son la IL-1ra, IL-9, IL-19, IL-20, IL-22 e IL-24, sin embargo acá nos vamos a referir fundamentalmente a las dos más importantes.

IL-10

La IL-10 es una proteína homodimérica de 17-18 kDa, codificada por un gen localizado en el brazo largo del cromosoma 1 y producida por linfocitos T CD4+ y CD8+, LB, mastocitos y monocitos. La producción de la IL-10 es inducida por diversos estímulos que activan los factores de transcripción Sp1 y Sp3 y su producción es antagonizada por la IL-2 y la IL-4. La cinética de expresión de esta citoquina es tardía, la mayor producción del RNA mensajero se presenta a las 24 horas después del estímulo, mientras que la proteína se detecta entre 24 a 48 horas después.

La IL-10 se describió inicialmente como un factor inhibitorio de la síntesis de citoquinas que era producida por los linfocitos Th2 en respuesta a un estímulo antigénico o mitogénico, la cual inhibía la proliferación, la síntesis de citoquinas y en general, la función efectora de los linfocitos Th1. La IL-10 se une específicamente a un receptor, IL-10R, una proteína de 110 kDa que está conformado por dos subunidades IL-10R1 e IL-10R2, las cuales se encuentran estructuralmente relacionadas con el receptor del IFN γ . El IL-10R tiene acoplada una vía de señalización del sistema JAK/STAT. La IL-10 induce la fosforilación y la activación de los miembros de la familia Janus quinasa Tyk2 y JAK1, las cuales se encuentran constitutivamente asociadas con IL-10R1 e IL-10R2, respectivamente. Esta misma vía de señalización induce la activación de los factores de transcripción STAT1 α , STAT3 y en células diferentes a macrófagos la activación de STAT5.

Desde el descubrimiento de la IL-10, diferentes estudios han caracterizado el pleiotropismo funcional de esta citoquina en la mayoría de células hematopoyéticas. A continuación se describen sus principales acciones reguladoras negativas de la respuesta inmune de acuerdo al tipo de célula implicada.

1. En las CPA la IL-10 inhibe un amplio espectro de funciones (expresión de citoquinas, moléculas de superficie, mediadores solubles, etc.), lo cual afecta la habilidad de estas células para activar y mantener una respuesta inmune inflamatoria. La adición de IL-10 a cultivos de células mononucleares de sangre periférica, de monocitos o de macrófagos activados con LPS, IFN γ o la combinación de ambos, inhibe la producción de factores de crecimiento y de citoquinas importantes en las respuestas pro-inflamatorias como IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12, IL-18, TNF α , GM-CSF, G-CSF y M-CSF, así como del PAF. La IL-10 también inhibe, en monocitos activados, la producción de quimioquinas de la clase CC (Mip-1 α , Mip-1 β , RANTES, etc.) y CXC (IL-8, IP-10, MIP-2, etc.), factores que son importantes en el reclutamiento de linfocitos T, monocitos, células dendríticas y neutrófilos. Por el contrario, se ha observado que la IL-10 regula positivamente entre otros, la expresión de receptores de quimioquinas (CCR1, CCR2 y CCR5) en monocitos. Además, la IL-10 altera la actividad microbicida de macrófagos murinos porque inhibe la producción de óxido nítrico, lo que impide la destrucción de patógenos agresores intra y extracelulares.

Células dendríticas expuestas *in vitro* a la IL-10 desarrollan poca capacidad estimuladora de linfocitos T CD4+ cuando se adicionan a un cultivo mixto de linfocitos, lo cual induce anergia en estos linfocitos. La diferenciación de monocitos hacia células dendríticas,

que normalmente se logra con GM-CSF e IL-4, es completamente inhibida con el tratamiento adicional con IL-10. Adicionalmente, la IL-10 inhibe la expresión de la ciclooxigenasa 2 en monocitos, una enzima importante en la generación de la PGE₂ elemento clave en el proceso inflamatorio. Esta misma inhibición lleva a que las metaloproteinasas de la matriz extracelular que se activan por esta vía no se produzcan. Finalmente, se ha observado que la IL-10 inhibe la expresión de las moléculas del CMH clase II, de B7 y de ICAM-1 en monocitos/macrófagos, todas estas moléculas son elementos importantes en la activación de linfocitos T.

2. En polimorfonucleares neutrófilos estimulados con LPS, IFN γ y/o TNF, la IL-10 es un potente inhibidor de la secreción de TNF, IL-1 α , IL-1 β , IL-12, IL-8, MIP-1 α , MIP-1 β , entre otros. Además, la IL-10 inhibe en los neutrófilos la fagocitosis y la actividad microbicida sobre algunas bacterias, evento que impide una adecuada eliminación del patógeno agresor y la correcta activación del sistema inmune innato, favoreciendo el establecimiento de la infección.
3. La habilidad de la IL-10 para inhibir la producción de citoquinas por parte de linfocitos T y células NK ocurre principalmente de forma indirecta, al inhibir la función de las CPA. En células NK y en los linfocitos T, en general, se ha observado que la IL-10 inhibe la proliferación y la producción de IFN γ ; por otro lado, la IL-10 inhibe la síntesis de TNF α en células T, mientras en células NK no tiene ningún efecto sobre la producción de esta citoquina. La IL-10 bloquea la producción de IL-12 en los mononucleares de sangre periférica activados con LPS o *S. aureus*, lo que conlleva a una inhibición de la producción de IFN γ . La IL-10 también tiene un efecto inhibitorio directo sobre los linfocitos T CD4+

activados, al suprimir la producción de IL-2, TNF- α e IL-5. Así mismo, como ya se mencionó, la IL-10 se considera un factor de diferenciación importante en la generación y función de las células reguladoras, principalmente de las Tr1, las cuales se consideran elementos clave en la homeostasis del sistema inmune.

Efectos inmunorreguladores de la IL-10

Los principales hallazgos de la capacidad reguladora negativa de la IL-10, residen en el estudio de ratones *knock out* para el gen que codifica esta citoquina (IL-10^{-/-}), los cuales presentan un desarrollo normal de sus linfocitos y de las respuestas de anticuerpos, pero desarrollan enfermedad inflamatoria del intestino. La mayoría de los animales IL-10^{-/-} tienen retardo en el crecimiento, anemia y sufren de una enterocolitis crónica asociada a una hiperplasia extensiva de la mucosa intestinal y una expresión aberrante de moléculas del CMH clase II en el epitelio del intestino. Además, cuando los ratones IL-10^{-/-} son inoculados con *Toxoplasma gondii* o LPS desarrollan una respuesta inflamatoria fatal, con una producción excesiva de TNF- α , IFN- γ e IL-12.

Otra evidencia indirecta de la capacidad inmunoreguladora de esta citoquina es el hallazgo, de proteínas homólogas en estructura y función a la IL-10 en diferentes infecciones virales. El ejemplo más estudiado es la proteína BCRF-1 del virus Epstein Barr, también conocida como la vIL-10. La vIL-10 es un polipéptido de 17 kDa que se expresa en la fase lítica de la infección viral. Esta proteína viral tiene la capacidad de bloquear la producción de citoquinas de una forma similar a la de la IL-10 y tiene actividades estimuladoras sobre los linfocitos B; posiblemente, algunos virus han capturado este gen con el fin de explotar su actividad biológica y manipular la respuesta inmune.

Por otra parte, la IL-10 tiene la capacidad de activar ciertos mecanismos en diferentes células, como son: La regulación positiva en la expresión de los receptores Fc γ R, CD16 y CD64, que se correlaciona con un aumento en la ADCC y con una mayor capacidad de la fagocitosis de partículas opsonizadas con anticuerpos, a pesar que se observa una capacidad de destrucción reducida en las células tratadas con IL-10. Adicionalmente, la IL-10 tiene otras funciones tales como actividad coestimuladora del crecimiento de timocitos (junto con la IL-2, la IL-4 y la IL-7), inhibe la apoptosis e incrementa la sobrevivencia de células hematopoyéticas, ya que aumenta la expresión del factor antiapoptótico Bcl-2 e inhibe la producción de TNF- α , además induce la solubilización del receptor de TNF α . La IL-10 también se considera un factor promotor de proliferación de mastocitos y de crecimiento y diferenciación de linfocitos T CD8+ y de células NK hacia células efectoras citotóxicas. En linfocitos B, a diferencia de lo que ocurre en monocitos/macrófagos, la IL-10 aumenta la expresión de moléculas del CMH-II y la sobrevivencia de linfocitos B en reposo, y ante los estímulos para el cambio de isotipo, la combinación de esta citoquina con otras, favorece la producción de diferentes clases de inmunoglobulinas (IgA, IgG e IgE). Si bien la capacidad inmunosupresora de la IL-10 ha sido ampliamente estudiada, el hecho que esta citoquina pueda activar otras vías asociadas al desarrollo de respuestas proinflamatorias, hace más difícil el entendimiento de la forma como esta citoquina cumple su papel inmunomodulador.

TGF β

El TGF β comprende una familia de polipéptidos multifuncionales compuestos de dos cadenas de aproximadamente 12.5 kDa cada una. Esta familia está conformada por tres isoformas TGF β 1, TGF β 2 y TGF β 3, las cuales se unen

a receptores específicos, expresados en una gran variedad de células (linfocitos, monocitos, macrófagos, células dendríticas, etc.), gracias a lo cual cumplen un papel esencial en la regulación del sistema inmune.

El gen del TGF β se encuentra localizado en el locus 19q13.1 y es producido por un amplio número de células que incluyen fibroblastos, condrocitos y osteocitos, y en la línea hematopoyética a los linfocitos (CD4+, CD8+, B), plaquetas, monocitos, macrófagos y células dendríticas. De particular importancia son los linfocitos Th3, células que se especializan en la producción de esta citoquina y que juegan un papel esencial en la tolerancia oral. Las células que producen TGF β expresan constitutivamente el RNA mensajero para esta citoquina, sin embargo, ante un estímulo antigénico o mitogénico incrementan significativamente la traducción de este RNA hacia una forma pro-TGF β 1 (proteína en forma latente), la cual necesita de un clivaje proteolítico por la furina para generar la forma biológicamente activa. Las tres isoformas activas del TGF β se unen a los receptores tipo I y tipo II específicos para esta citoquina (TGF β R), los cuales presentan una actividad quinasa serina-treonina intrínseca; una vez el TGF β se une a su receptor, se fosforilan las proteínas SMAD2, SMAD3 y SMAD4, las cuales forman complejos homodiméricos o heterodiméricos y luego se translocan al núcleo, en donde estas proteínas interactúan directamente con el DNA o se unen con otras proteínas co-activadoras o co-represoras de la transcripción de genes involucrados en el crecimiento y/o en la diferenciación celular. Existe una cuarta clase de SMAD, la inhibitoria (I-SMAD), cuya expresión se induce con el TGF β e inhibe las señales de receptores con actividad quinasa serina-treonina; se considera que esta es una forma de autorregulación de la vía de señalización desencadenada por el TGF β R. Adicionalmente, se ha reportado que la activación de

las proteínas SMADs conduce a la expresión de la fosfatasa SHIP y a la inhibición de la activación de las Janus quinasas.

El TGF β tiene un efecto profundo en las células del sistema inmune, ya que regula de forma autocrina y/o paracrina la diferenciación, el crecimiento y el estado de activación de estas células. Sin embargo, el efecto activador o inhibidor que tiene el TGF β depende de varios factores que incluyen la concentración de esta citoquina, la presencia de otras citoquinas en el medio, el estado de maduración y la clase de célula implicada.

Efectos inmunorreguladores del TGF β

El efecto inmunosupresor del TGF β se evidencia claramente en los ratones "knock out" para esta molécula. Estos ratones desarrollan una respuesta inflamatoria extensa, desórdenes autoinmunes multifocales y espontáneos, que conducen a una muerte perinatal. Además, en modelos murinos de enfermedades autoinmunes (encefalitis alérgica experimental y artritis inducida por colágeno) se ha demostrado que la administración sistémica de TGF β suprime los síntomas de la enfermedad, mientras que el uso de anticuerpos bloqueadores aumentan la patogenia de la misma. Esta capacidad inmunorreguladora se debe a varios efectos inmunosupresores del TGF β , de los cuales se mencionan a continuación los más importantes:

1. En linfocitos T y células NK, el TGF β bloquea la progresión del ciclo celular y la proliferación dependiente de IL-2, porque tiene un efecto directo sobre la expresión de la IL-2 y sobre su receptor. Adicionalmente, se ha reportado que el TGF β logra frenar el ciclo celular en la fase G1 gracias a que reduce la fosforilación de la proteína RB y a que incrementa la expresión del inhibidor de ciclo celular, la molécula p27.
2. *In vitro*, el TGF β inhibe la producción de un patrón de citoquinas asociadas con linfocitos

Th1 o Th2; sin embargo, estos resultados se han replanteado en otros modelos *in vivo*. Ratones inoculados con *Leishmania amazonensis* o *L. brasiliensis*, producen grandes cantidades de la forma activa del TGF β , lo que se asocia con la inducción de un patrón de citoquinas Th2, una disminución de las citoquinas Th1 y con una infección severa en estos ratones. Cuando los linfocitos T se activan con anti-CD3 e IL-12 y se tratan con TGF β , son incapaces de producir IFN- γ . Esta citoquina tiene efectos similares sobre las células NK2.

3. En linfocitos B la estimulación autocrina, proporcionada por el TGF β , es considerada un mecanismo de autorregulación de la proliferación y de funciones de los linfocitos B activados y de los plasmocitos, ya que induce apoptosis en estas células. Esto se debe a que el TGF β genera cambio en el potencial de membrana de la mitocondria e induce la liberación del citocromo c de la misma, lo cual desencadena la vía mitocondrial de la apoptosis. Por lo demás, ciertas células (por ejemplo linfocitos T) al sufrir apoptosis liberan altas cantidades de TGF β , lo que contribuye a la creación de un medio ambiente inmunosupresor y posiblemente a la ausencia de inflamación, característica de la muerte celular apoptótica.

Además, es interesante señalar que la mayoría de neoplasias de las células B, así como otros cánceres humanos (páncreas, colon, estómago, pulmón, endometrio, próstata, entre otros) son resistentes a los efectos inhibitorios del TGF β ; al mismo tiempo expresan cantidades importantes de la forma activa de esta citoquina, evento que se asocia con la supresión de las respuestas antitumorales del sistema inmune y como un mecanismo de evasión y permanencia que puede ser utilizado por estos tumores. Adicionalmente, el

TGF β inhibe la expresión de ciertas moléculas de superficie en linfocitos B, como son: el receptor de transferrina, el Fc ϵ RII (CD23), y las inmunoglobulinas de membrana IgM, IgD, IgA.

4. Dentro del papel inmunomodulador atribuido al TGF β se conoce que tiene la capacidad de regular el desarrollo y ciertas funciones de las células dendríticas. Ratones "knock out" para el gen de TGF β no desarrollan células de Langerhans en la epidermis; sin embargo, su ausencia podría estar reflejando ausencia de precursores o de señales de diferenciación o localización en ese tejido. Otro efecto del TGF β está asociado con la función de células dendríticas altamente especializadas, las células dendríticas foliculares. El TGF β es la única citoquina conocida que logra interrumpir la presentación que hacen estas células dendríticas a los linfocitos B que han madurado la afinidad de la región variable de su mIg, con el fin de hacer la selección negativa o positiva de estos linfocitos. Al parecer, este mecanismo juega un papel importante en prevenir la selección positiva de linfocitos B con baja afinidad y de esa forma también estaría contribuyendo al mantenimiento de la tolerancia inmunológica. Se ha reportado que los macrófagos que fagocitan cuerpos apoptóticos producen TGF β , el cual inhibe de forma autóloga la secreción de TNF α y de ciertas quimioquinas (MIP-1 y MIP-2).
5. El efecto inhibitorio más importante del TGF β en los monocitos/macrófagos es la inactivación de la producción de intermediarios reactivos del oxígeno y del nitrógeno en células activadas por LPS o IFN γ . Microorganismos como *Leishmania spp.*, *Mycobacterium avium* y *Trypanosoma cruzi* inducen en las células del hospedero la secreción activa de TGF β , lo que suprime la actividad microbicida de estas células y de esta manera se favo-

rece su actividad patogénica. Esto se refleja en ratones tratados sistémicamente con TGF β , los cuales son muy susceptibles a la infección por cepas no virulentas de *Leishmania*.

Otras acciones del TGF β

Las alteraciones en la producción de TGF β se han asociado con malignidad, desórdenes autoinmunes, infecciones oportunistas y adicionalmente, con complicaciones fibróticas. Debido a que el TGF β estimula de forma paracrina las células mesenquimales, tiene la capacidad de inducir fibrosis, formación de matriz extracelular y cicatrización de heridas. Si bien el TGF β juega un papel muy importante en la reparación de los tejidos, niveles excesivos de esta citoquina son contraproducentes y han sido asociados con entidades caracterizadas por marcada fibrosis en piel, riñón y en otros órganos, como son: escleroderma, distrofia muscular de Duchenne y algunas enfermedades renales como la nefropatía diabética, hipertrofia del riñón, insuficiencia renal, glomeruloesclerosis, entre otras.

En contraste con la actividad anti-inflamatoria descrita, el TGF β induce una respuesta quimiotáctica de monocitos/macrófagos, incrementa el nivel de expresión de RNAm para las citoquinas IL-1 α , IL-1 β , TNF α , incrementa la expresión de moléculas de adhesión (LFA-1, VLA-3 y VLA-59), la actividad fagocítica de partículas opsonizadas con anticuerpos así como de cuerpos apoptóticos. Si bien esta evidencia implica al TGF β en la formación de un foco inflamatorio (por estimular la quimiotaxis, la adhesión celular y la fagocitosis), los otros hallazgos muestran que esta citoquina contribuye a la supresión y por ende a la homeostasis de las respuestas inflamatorias. El TGF β , en bajas concentraciones, es un importante regulador positivo de la expresión de moléculas del CMH clase II en la superficie de linfocitos B;

en estas células puede dirigir el cambio de isotipo hacia IgA, además de ser el responsable de la producción de IgA secretoria, evento crítico para el mantenimiento de la tolerancia frente a un amplio rango de microorganismos y alérgenos como los alimentos. Esto sugiere que, bajo ciertas condiciones, esta citoquina podría servir para aumentar la producción y secreción de inmunoglobulinas así como para mejorar la presentación antigénica.

LOS RECEPTORES INHIBIDORES

La característica común de los receptores inhibidores, es la habilidad que poseen para atenuar las señales de activación iniciadas por los receptores activadores, particularmente aquellos que poseen motivos ITAM. Estos receptores inhibidores son moléculas transmembrana que hacen parte de la superfamilia de las inmunoglobulinas (FcγRIIB, KIR, ILT/LIR/MIR, etc.) o de la familia de proteínas tipo lectina (CD22, Ly49, etc.).

La mayoría de las moléculas catalogadas como receptores inhibidores contienen en sus dominios citoplasmáticos, al menos un motivo ITIM. La secuencia prototipo de los ITIM es (Ile/Val/Leu/Ser)-X-Tyr-X-X-(Leu/Val), en la cual X denota cualquier aminoácido. Los receptores inhibidores se han identificado en todas las células del sistema inmune e incluso en algunas

RECEPTOR	EXPRESIÓN	LIGANDO
PD-1	LT y LB activados, células mieloides	PD-L1 y PD-L2
ILT (transcriptos tipo inmunoglobulina, LIR, MIR o CD85)	Monocitos, macrófagos, células dendríticas y LB	CMH clase I para ILT-2 y ILT-4, para los otros 8 ILT son desconocidos
PIR-B (receptor tipo inmunoglobulina apareado)	Monocitos, macrófagos, células dendríticas y LB	Desconocido
LAIR-1 (receptor tipo inmunoglobulina asociado al leucocito-1)	Leucocitos mononucleares	Desconocido
CD33	Células mieloides	Ácido siálico
gp49	Macrófagos, mastocitos y células NK	Desconocido
CD5	LT, timocitos, subpoblación de LB (B-1)	Desconocido
CD22	LB	Ácido siálico
SIRP (proteína de señal reguladora alfa)	Células mieloides y células no hematopoyéticas	CD47
MAFA (antígeno asociado a la función del mastocito)	Mastocitos, células mieloides y células NK.	Desconocido

Tabla 1. Otros receptores inhibidores

células no hematopoyéticas. Para que estos receptores cumplan su función necesitan generalmente de un acoplamiento previo de los receptores activadores y de un agrupamiento con estos últimos en la superficie de la célula blanco. El acoplamiento de receptores activadores e inhibidores conduce a la fosforilación de las tirosinas del ITIM por medio de tirosinas quinasas pertenecientes a la familia Src, lo que proporciona el sitio de anclaje para el reclutamiento de fosfatasa citoplasmáticas con dominios SH2: SHP-1, SHP-2 y de las fosfatasa de inositol con dominios SH2: SHIP1 y SHIP2 (Ver capítulo Activación de células T).

A continuación, se describirán las principales generalidades de los receptores inhibidores mejor caracterizados. En la tabla 1 se presentan algunos de los receptores inhibidores de los

cuales se tiene menos claridad sobre sus mecanismos de acción, ligandos, señalización y de su función reguladora negativa de la respuesta inmune.

Fc γ RIIB

Algunas de las estructuras más importantes en el sistema inmune son las moléculas FcR. Por medio de estos receptores los anticuerpos pueden mediar actividades biológicas como: activación del complemento, fagocitosis, ADCC, liberación de mediadores inflamatorios, entre otros. Existe una variedad de FcR para varios de los isotipos de inmunoglobulinas, los cuales se expresan en una amplia diversidad de células en mamíferos. Los FcR más estudiados son los receptores para la IgG (Fc γ R), de los cuales se conocen tres clases principales constituidos por al menos 12 isoformas. La mayoría de los Fc γ R tienen la capacidad de activar debido a que poseen o están asociados a uno o más ITAM; sin embargo, existen varios Fc γ R que no poseen ITAM. Un primer tipo lo constituyen el FcR neonatal y el receptor de IgA e IgM involucrado en la transcitosis de inmunoglobulinas a través del endotelio. El segundo corresponde al Fc γ RIIIB el cual por carecer de dominios transmembrana y citoplasmáticos (está anclado a membrana por moléculas de glicosil fosfatidil inositol -GPI-) es incapaz de señalizar por sí mismo, pero lo logra en asociación con otros FcR. Por último, el Fc γ RIIB cuyo dominio intracitoplasmático posee un motivo ITIM que inhibe la activación celular cuando se coagrega con el BCR, con los FcR activadores (Fc γ RI, Fc γ RIIA, Fc γ RIII, Fc ϵ R) o con receptores de citoquinas.

Hace más de 30 años que los inmunocomplejos constituidos por IgG fueron reconocidos como potentes inhibidores de la respuesta inmune, pero fueron estudios más recientes los que han

demostrado que en los humanos esta inhibición depende de la interacción con el Fc γ RIIB. Este receptor, es la molécula mejor caracterizada y estudiada de los receptores con actividad inhibitoria; se expresa en linfocitos B, macrófagos, neutrófilos y mastocitos; sin embargo, su función se ha descrito mejor en los LB. Existen dos transcritos del Fc γ RIIB en el humano, los cuales se generan por procesamiento alternativo del RNAm: Fc γ RIIB1 y Fc γ RIIB2. El Fc γ RIIB1 se expresa principalmente en células del linaje linfoide, mientras el Fc γ RIIB2 en células del linaje mieloide.

La primera asociación de funciones inmunosupresoras con un FcR en particular, se estableció cuando investigadores, que estaban en la búsqueda de diferencias funcionales en el subgrupo heterogéneo del Fc γ RII (Fc γ RIIA y Fc γ RIIB) en el humano, generaron líneas de LB transfectadas para cada receptor. En este estudio, encontraron que si bien la isoforma A mediaba la activación celular, la isoforma B era capaz de regular negativamente la movilización de calcio y la producción de IL-2 inducida por el entrecruzamiento del BCR. Adicionalmente, asociaron las diferentes respuestas de los dos Fc γ R, a diferencias en un motivo de la región intracitoplasmática de estas isoformas. En general, se ha observado que el acoplamiento del Fc γ RIIB con el BCR inhibe la blastogénesis, la proliferación inducida por antígeno, la muerte apoptótica por medio de la inhibición de la movilización de Ca²⁺, la producción de IP₃ y la activación de p21^{ras}/ERK mediada por el BCR. La importancia de las señales reguladoras de este receptor se confirmó en ratones deficientes para Fc γ RII, los cuales producen anticuerpos anti-DNA y anti-cromatina, desarrollan glomerulonefritis autoinmune, muestran respuestas anafilácticas incrementadas y mayor susceptibilidad al desarrollo de enfermedades autoinmunes inducidas. Sin embargo, se ha observado que este fenotipo es

dependiente de la cepa de ratones estudiada, lo cual indica que existen otras moléculas que determinan la capacidad reguladora del FcγRIIB.

Las tirosinas fosforiladas en los ITIM de los FcγRIIB reclutan tanto a las fosfatasa SHP (cuando la densidad de ITIM fosforilados es alta) como a las fosfatasa SHIP. Los mecanismos por los cuales SHIP media las señales inhibitoras son los siguientes (Figura 3):

1) Se ha descrito que FcγRIIB puede reclutar directamente a la proteína Grb2, la cual se une, por intermedio de su dominio SH3, a los dominios ricos en prolina en la porción carboxi terminal de SHIP. 2) Al desfosforilar CD19, se impide la prolongación y la amplificación de la señal dada por la Btk, esto impide el reclutamiento de PI3K, lo que se traducirá en alteraciones en la movilización de Ca²⁺ y en el reclutamiento del factor Akt. De esta forma, se impide la degranulación, la liberación de citoquinas, la ADCC y la endocitosis. 3) SHIP degrada directamente IP₃ a IP₂, lo cual produ-

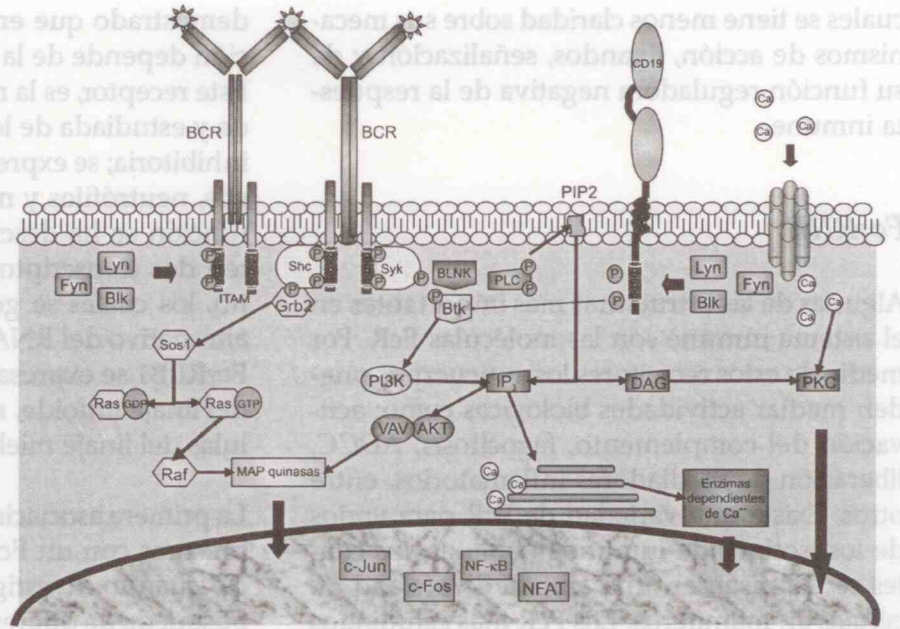


Figura 3A

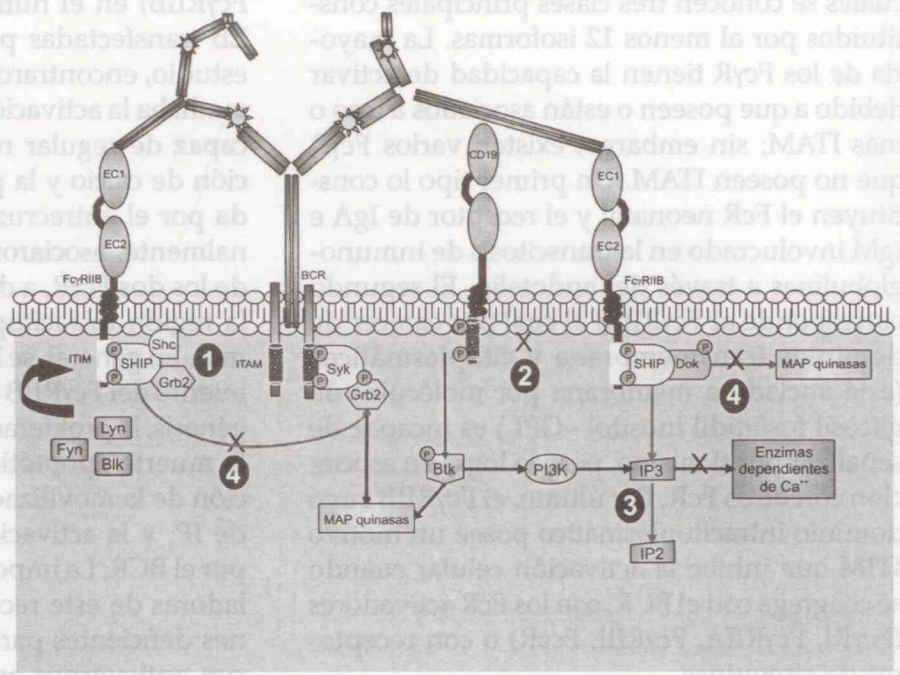


Figura 3B

Figura 3. Señalización del LB. A. Principales vías de señalización del receptor de los LB. B. Puntos en los cuales el FcγRIIB afecta la señalización del LB. Los mecanismos que se enumeran en la figura se describen con mayor detalle en el texto del capítulo.

ce una inhibición similar a la expuesta anteriormente. 4) SHIP puede asociarse con la proteína adaptadora Shc o con la proteína p62^{dok}; en el primer evento, el secuestro de Shc trunca la vía de activación de p21^{ras} mediada por el complejo Grb2-Sos, mientras en el segundo, el acoplamiento SHIP-p62^{dok} propicia la activación de p62^{dok} por la quinasa Lyn favoreciendo la asociación p62^{dok}-RASGAP que inhibe directamente a p21^{ras} y en general a la vía de las MAPK. Todo esto conduce a una disminución de la proliferación celular.

Finalmente se ha reportado que la homoagregación de FcγRIIB produce una señal proapoptótica que es independiente de su ITIM pero dependiente de la activación de Btk. Se cree que este mecanismo juega un papel importante en la preservación de la tolerancia por parte de los LB, posiblemente al promover la muerte de los linfocitos autoreactivos generados después de la maduración de la afinidad.

CTLA-4

Para que exista una activación completa de los LT se requiere de una primera señal, generada por la interacción de los TCR con los péptidos presentados en el contexto del CMH en las CPA, así como de una segunda señal proporcionada por otros receptores involucrados en la sinapsis inmunológica, como son: las moléculas de adhesión, los receptores de citoquinas y las moléculas coestimuladoras. A este último grupo, pertenecen moléculas capaces de desencadenar segundas señales que aumentan y potencian la activación celular (CD28, CD70, ICOS, etc.), así como otros receptores con la capacidad de inhibir dicha activación. Finalmente, el trabajo conjunto de estas moléculas regula la respuesta y la activación de los LT. Entre los receptores inhibidores que hacen

parte de las moléculas coestimuladoras de los linfocitos T se han identificado tres como de mayor importancia: el PD-1, los KIR y el CTLA-4 o CD152, siendo este último el mejor caracterizado en estas células.

El CTLA-4 es una glicoproteína de 33 a 45 kDa, perteneciente a la superfamilia de las inmunoglobulinas y a la familia de las moléculas coestimuladoras CD28. El CTLA-4 se expresa como monómero u homodímero en la membrana plasmática de los LT, sea de forma constitutiva en los LT CD4+CD25+ o después de activación en los LT CD4+CD25-; en estos últimos se incrementa marcadamente la escasa expresión basal de CTLA-4 después 24-48 horas de ocurrido el estímulo vía TCR-CD28. Este incremento se evidencia principalmente en los sitios de entrecruzamiento del TCR, lo cual depende tanto de la redistribución de las reservas intracelulares como del incremento de la síntesis del CTLA-4. El CTLA-4 y el CD28 comparten aproximadamente el 30% de homología y se acoplan a los mismos ligandos: CD80 (B7-1) y CD86 (B7-2); sin embargo, el CTLA-4 se une con 50 a 2000 veces mayor afinidad que el CD28.

La función inhibidora del CTLA-4, así como de su papel crítico en la regulación de las respuestas de los LT, se evidencia claramente en ratones deficientes de esta molécula. Estos ratones CTLA-4^{-/-} desarrollan desórdenes linfoproliferativos, con infiltrados de linfocitos en diferentes órganos sólidos y síndromes autoinmunes letales en el primer mes de vida. Los LT de sangre periférica de estos ratones presentan un fenotipo activado (CD69+, CD25+, CD44^{hi}, CD45RB^{hi}, CD62L^{lo}), proliferan espontáneamente *in vitro* y secretan citoquinas como: IL-2, IL-4, IL-6, entre otras. Las alteraciones descritas en estos animales se corrigen con la transferencia adoptiva de LT que expresan CTLA-4.

Se han llevado a cabo varios estudios con el fin de caracterizar molecularmente el CTLA-4 y definir cuales son los elementos responsables de la función inhibidora del mismo. De acuerdo a estos se han propuesto varias alternativas para explicar como esta molécula da inicio a la regulación negativa del linfocito T: 1) Una acción directa, al competir por los ligandos de CD28. 2) Un efecto directo, al limitar los niveles de fosforilación. 3) Secuestro de moléculas de señalización o 4) Alteración en los complejos de señalización.

El CTLA-4 posee una porción citoplasmática de 33 aminoácidos, que carece de actividad enzimática intrínseca y tampoco tiene un ITIM. Pero en cambio, posee dos tirosinas (en las posiciones 201 y 218) y una región rica en prolina en su porción carboxi-terminal. Cuando el LT es activado mediante su TCR, estas tirosinas son fosforiladas por quinasas de tirosinas de la familia Src (Fyn, Lyn y Lck) o por otras quinasas como JAK-2 o RIK. Debido a que en ausencia del CTLA-4 se observa una hiperfosforilación de las moléculas involucradas en la vía de señalización del TCR/CD3/CD28, se postuló que la función principal del CTLA-4 era reclutar fosfatasa para facilitar la desfosforilación de moléculas de señalización temprana. Efectivamente, se corroboró que la tirosina fosforilada del motivo Y201VKM del CTLA-4 se asocia con los dominios SH-2 de SHP-2, aunque en estudios posteriores, se observó que SHP-2 coimmunoprecipita con CTLA-4 aún en ausencia de esta secuencia blanco. También se encontró que otras dos fosfatasa se asocian a la cola citoplasmática fosforilada de CTLA-4, la PP2A y SHIP-1, y que el motivo Y201VKM una vez fosforilado puede reclutar adicionalmente a PI3K. Sin embargo, los inhibidores de la activación de esta quinasa no interfieren con la capacidad inhibidora del CTLA-4 lo que sugiere, que este elemento no es relevante en la función del CTLA-4, o que posiblemente su

función principal es mediar el secuestro de PI3K. A pesar de la evidencia anteriormente expuesta, aún se desconoce que función tiene el acoplamiento de estas fosfatasa en la actividad inmunosupresora del CTLA-4. En estudios sobre el papel inhibidor del CTLA-4 se observa que proteínas mutadas en los residuos de tirosinas (Y201 y Y218) o en el dominio intracelular completo, conservan su capacidad supresora.

Por otro lado, cuando el CTLA-4 se expresa en membrana y no es fosforilado, se endocita rápidamente, en una forma dependiente de clatrina. El motivo Y201VKM en su forma no fosforilada se asocia con la subunidad AP50 del adaptador de la clatrina AP-2. La fosforilación de este motivo inhibe la asociación con AP-2 y de esta forma estabiliza la expresión e incrementa la retención del CTLA-4 en membrana, lo que posiblemente incrementa el reclutamiento de CD80 y CD86 por este receptor, por lo tanto, promueve la regulación negativa de la activación del LT. La importancia de la regulación en el recambio del CTLA-4 de membrana se ha hecho evidente en un modelo murino del síndrome de Chediak-Higashi, el cual se debe a mutaciones en *LYST*, un gen que codifica una proteína reguladora del tráfico lisosomal, importante en la vía secretoria de proteínas y que tiene como una característica importante el desarrollo de síndromes linfoproliferativos. El estudio de los compartimientos vesiculares de los LT de estos ratones, mostraron una gran cantidad de CTLA-4 y un defecto en la expresión de esta molécula en la membrana celular después de la activación celular. Posiblemente este mecanismo explique el desorden linfoproliferativo que se observa en pacientes con Chediak-Higashi.

Aunque no se tengan muy claras las vías de señalización intracelular desencadenadas por CTLA-4, se ha observado que el entrecruzamiento de CTLA-4 lleva a la inhibición de las MAP quinasas, lo que a su vez resulta en la

activación reducida de varios factores de transcripción como son el NF- κ B, NF-AT y AP-1.

Aunque de acuerdo a lo discutido es claro que todavía no se conocen con exactitud los elementos implicados en la función del CTLA-4, la hipótesis que en el momento mas se acepta para entender como esta molécula logra ejercer la supresión en los LT, es la que puede inhibir las respuestas de estas células al antagonizar la activación mediada por CD28 e ICOS. Se ha observado, en estudios del

perfil de expresión a escala genómica, que la interacción del CTLA-4 con CD28 o ICOS/TCR, regula negativamente la activación celular mediada por estas moléculas, al parecer por interferir directamente con la señalización intracelular. Algunos han propuesto la inducción de apoptosis por el CTLA-4 como uno de los mecanismos inhibitorios de la respuesta del LT; sin embargo, varios trabajos donde se evalúa la función de esta molécula no mostraron evidencia que lleve a pensar en este mecanismo; además, un estudio más puntual ha mostrado que CTLA-4 no inhibe la producción de un factor de supervivencia inducido por la vía del CD28, el Bcl-x. Si bien el CTLA-4 al parecer no causa apoptosis, tiene al menos dos efectos claves en la proliferación celular; el primero, es la inhibición de la producción de IL-2 inducida por la vía del CD28 y el segundo, la inhibición de la producción de CDK, importantes en la progresión del ciclo celular, particularmente las moléculas CDK4, CDK6 y la ciclina D3.

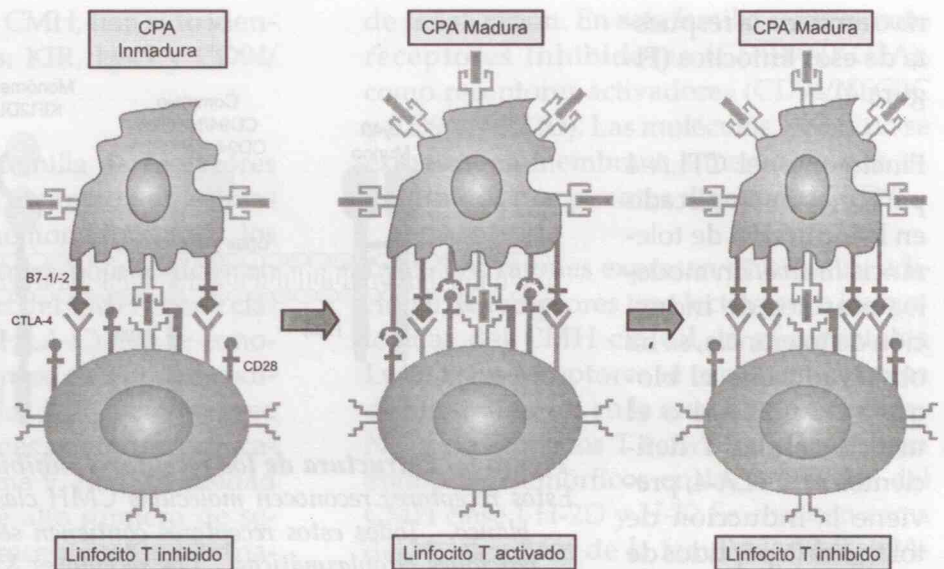


Figura 4. Regulación de la respuesta del LT por la CPA. Este efecto depende del estado de maduración de la célula presentadora de antígenos (expresión de moléculas CMH clase II y de moléculas coestimuladoras) y del nivel de expresión de moléculas CTLA-4 (las cuales tienen mayor afinidad por el ligando que CD28).

Los hallazgos disponibles han permitido proponer el siguiente modelo, que permite explicar la forma como el CTLA-4 logra esta inmunoregulación. Las señales mediadas por el TCR llevan a la movilización y expresión de pequeñas cantidades de CTLA-4; si este proceso es realizado por una CPA incompletamente activada, la cual expresa bajas cantidades de moléculas B7, el CTLA-4 en virtud de su mayor afinidad podría competir con el CD28, aumentando el umbral de activación celular e incluso inhibiendo la activación celular. Por el contrario, si el encuentro es con una CPA completamente activada, que expresa altos niveles de B7, el poco CTLA-4 que se indujo inicialmente, no será suficiente para inhibir la respuesta. Sin embargo, de todas formas seguirá jugando un papel muy importante en el establecimiento del umbral de activación de estas células. Después de la completa activación del LT, la cantidad de CTLA-4 aumenta considerablemente, lo que en último término atenúa

ría o limitaría la respuesta de esos linfocitos (Figura 4).

Finalmente, el CTLA-4 parece estar implicado en la inducción de tolerancia *in vivo*. En modelos murinos de inducción de tolerancia, se ha observado que el bloqueo de CTLA-4 o el uso de células T deficientes de CTLA-4, previene la inducción de tolerancia a péptidos de ovalbúmina, revelando la importancia de CTLA-4 en la inducción

de LT tolerantes. La expresión constitutiva de CTLA-4 en los LT CD4+CD25+, posiblemente juega un papel importante en la capacidad inmunosupresora de estas células; sin embargo, aún no existen evidencias contundentes a favor, o en contra, de esta hipótesis. La interacción del CTLA-4 con su ligando, reduce la proporción de células que proliferan y secretan citoquinas, y aumenta el umbral de activación del LT; sin embargo, los mecanismos implicados en estos hechos no se conocen con claridad.

Receptores inhibidores de las células NK

Las células NK hacen parte del linaje linfóide y del sistema inmune innato. Estas células son responsables de la destrucción temprana de patógenos intracelulares y de la producción de citoquinas como el IFN γ , mientras se desarrollan las respuestas de LT y LB. Las células NK se caracterizan por poseer una actividad citotóxica hacia células tumorales y células infectadas por virus en las cuales se ha regulado

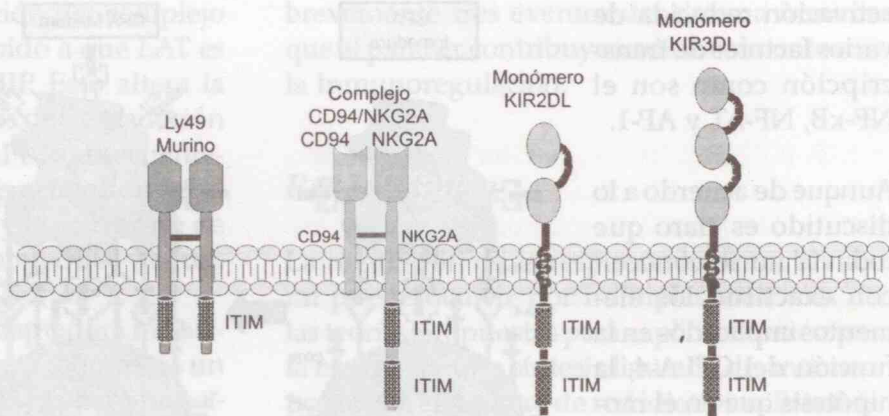


Figura 5. Estructura de los receptores inhibidores de las células NK. Estos receptores reconocen moléculas CMH clase I presentes en la célula blanco. Todos estos receptores contienen secuencias ITIM en sus porciones citoplasmáticas. Los receptores KIR son miembros de la superfamilia de inmunoglobulinas, mientras que Ly49 y CD94/NKG2 son miembros de la superfamilia de las lectinas.

negativamente la expresión de moléculas del CMH clase I.

Para que las células NK lisen a su célula blanco, se requiere la generación de señales activadoras proporcionadas por receptores de membrana (ejemplos: CD2, CD16, NKR-p1, 2B4, NKp30, NKp44, NKp46 y receptores de citoquinas). Cuando una célula NK entra en contacto con la célula blanco, el balance entre las señales inhibitorias y activadoras generadas por receptores de superficie, dictará el destino de la respuesta de la célula NK. Por lo tanto, para evitar una activación incontrolada, las células NK expresan una serie de receptores inhibidores que limitan su activación en condiciones normales.

La mayoría de los receptores inhibidores presentes en las células NK, tienen la capacidad de unirse a las moléculas del CMH clase I. La unión de estos receptores inhibidores a sus ligandos desencadena señales dominantes negativas que previenen la lisis mediada por estas células, así como la secreción de citoquinas. Tres familias de receptores inhibidores, que

reconocen moléculas del CMH, han sido identificadas en estas células: KIR, Ly49 y CD94/NKG2 (Figura 5).

- **KIR (CD158).** Es una familia de receptores tipo inmunoglobulina, expresada en células NK y linfocitos T de memoria humanos, los cuales reconocen epítopes polimórficos en las diferentes moléculas del CMH clase I clásicas (HLA-A, HLA-B, HLA-C). No se conoce con exactitud el número de *loci* que codifican para las moléculas KIR, pero se cree que son cerca de 12 genes polimórficos localizados en el cromosoma 9. A la diversidad que se genera por este alto número de secuencias, se suma el procesamiento alternativo que sufren los RNAm de estos genes. Los KIR pueden dividirse en dos subfamilias de acuerdo al número de dominios tipo inmunoglobulina: KIR2D (2 dominios) y KIR3D (3 dominios). Además, los KIR pueden subclasificarse adicionalmente, de acuerdo al tamaño de su cola citoplasmática en: KIR2DL (largos), KIR3DL, KIR2DS (cortos) y KIR3DS, de las cuales las dos últimas, carecen de ITIM y median la activación celular.
- **CD94/NKG2.** Receptor heterodimérico compuesto por las subunidades CD94 y NKG2, el cual se expresa en una fracción de células NK y de linfocitos T CD8⁺ de memoria. Este receptor, es miembro de la superfamilia de moléculas tipo lectina y reconoce moléculas del CMH clásicas y no clásicas como el HLA-E. El CD94, la subunidad conservada del receptor, posee una porción citoplasmática muy corta y carece de capacidad de señalización; por el contrario, NKG2 se encuentra codificado por cuatro genes diferentes que dan origen a NK2A, NK2C, NK2E Y NK2D/F, los cuales pueden poseer, o no, ITIM. Las porciones citoplasmáticas y extracelulares de estas subunidades son muy heterogéneas, lo que supone diferencias en sus ligandos y vías

de señalización. En esta familia existen tanto receptores inhibidores (CD94/NKG2A), como receptores activadores (CD94/NFG2C y CD94/NFG2D). Las moléculas NK2G no se expresan en membrana a menos de que estén unidos por puentes disulfuro al CD94.

- **Ly49.** Los ratones expresan una familia adicional de receptores tipo lectina para las moléculas del CMH clase I, la glicoproteína Ly49. Estos receptores se expresan en forma de homodímeros en la membrana de células NK y de linfocitos T activados y reconocen epítopes polimórficos en las moléculas del CMH clase I H-2D y H-K. Se conocen cerca de 14 miembros de la familia Ly49 (Ly49A-Ly49N) producidos por polimorfismos alélicos y por procesamiento alternativo del RNAm. Se cree que al menos 7 de estos Ly49 poseen ITIM en sus porciones citoplasmáticas. Hasta el momento no se ha identificado un análogo a Ly49 en humanos.

Los receptores inhibidores pertenecientes a las tres familias mencionadas, poseen una o más secuencias ITIM en la porción citoplasmática; una vez estos receptores se acoplan a sus ligandos son fosforiladas al parecer por tirosinas quinasas de la familia Src. Una vez estos ITIM han sido fosforilados, reclutan fosfatasa, principalmente SHP-1 y posiblemente SHP-2. Se ha observado que la transfección de células NK, con dominantes negativas de SHP-1 impide la señalización inhibitoria del KIR, mientras que para los receptores Ly49, la función inhibitoria no se inhabilita completamente, lo que hace pensar que otras fosfatasas participan en su señalización.

No se conocen con exactitud los sustratos claves de la fosfatasa SHP-1 para la inhibición de la activación de células NK; sin embargo, se han documentado diferentes blancos de la enzima:

1. La inhibición de la formación del complejo LAT-PLC γ o LAT-Grb2, debido a que LAT es un sustrato directo de SHIP. Esto altera la generación de los productos de degradación del PIP2 y la vía de las MAPK, subsecuentemente trastorna las vías de activación celular dependientes de calcio y la activación de factores de transcripción como c-Fos y c-Jun.
2. BLNK (SLP-76), proteína adaptadora inducida por algunos receptores activadores, es un sustrato directo de SHP-1. Esto altera principalmente la activación de la vía de las MAPK.
3. Inhibición de la fosforilación de la cadena ζ del CD16, de la PLC γ y de la proteína ZAP-70. Esto indica una inhibición temprana en las vías de señalización activadoras.
4. SHP-1 puede defosforilar y por lo tanto inactivar a Lck en su tirosina 394.

Como ya se había mencionado, en las familias KIR, Ly49 y NKG2 existen receptores que no tienen ITIM en sus dominios citoplasmáticos. Estos receptores se asocian de forma no covalente con DAP12, una proteína adaptadora de las células NK que porta motivos ITAM y que por lo tanto le confiere a estos receptores la capacidad de activar a la célula NK una vez se une a su blanco.

OTROS MECANISMOS REGULADORES NEGATIVOS DE LA RESPUESTA INMUNE

Aparte de los mecanismos involucrados en la supresión del sistema inmune que se citaron durante este capítulo, existen otra variedad de dispositivos implicados en el cumplimiento de dicha función, algunos de los cuales no se encuentran bien caracterizados, y otros que aún desconocemos. A continuación se describirán

brevemente tres eventos del sistema inmune que al parecer contribuyen adicionalmente con la inmunoregulación.

Red Idiotípica

La regulación de la respuesta inmune humoral puede ocurrir por múltiples vías, una de las teorías propuestas para explicar la razón por la cual se da una síntesis limitada de anticuerpos recibe el nombre de red idiotípica. Esta teoría fue propuesta por Jerne en 1974 y sustenta que, un tipo de respuesta autoinmune dirigida contra los idiotipos de las inmunoglobulinas podría jugar un papel importante en la regulación de la producción de anticuerpos. Recordemos que tanto los anticuerpos como los TCR poseen una región, altamente variable, llamada idiotipo y clonotipo, respectivamente, las cuales se crean por eventos de recombinación y mutaciones involucradas en la generación de la región V de estas moléculas, dando origen a secuencias de aminoácidos únicas para cada inmunoglobulina y TCR que constituyen el sitio de unión del antígeno.

Un antígeno externo estimula la proliferación, activación y producción de anticuerpos específicos para el antígeno en cuestión. Estos anticuerpos determinados por el idiotipo 1 (Ac1), reconocen y participan en la eliminación del antígeno, pero a la vez, debido a que el idiotipo funciona como un determinante antigénico al cual el organismo no ha estado previamente expuesto, los linfocitos T y B anti-idiotipo responden, produciendo finalmente anticuerpos anti-idiotipo (Ac2); sin embargo, este anticuerpo posee una única región idiotípica que estimulará la generación de un segundo anticuerpo anti-idiotipo (Ac3). Así, el Ac1 expresa un idiotipo particular, el Ac2 es un anticuerpo anti-idiotipo y al Ac3 es un anticuerpo anti-anti-idiotipo. En este proceso, se produce una se-

cuencia de inmunoglobulinas anti-idiotípicas, cada una capaz de reaccionar con el anticuerpo previo en la secuencia. Ya que el antígeno y el anti-idiotipo (Ac2) se unen al idiotipo del Ac1, éstos deben tener estructuras similares entre sí; es decir, el anti-idiotipo mimetiza al antígeno en su estructura, por lo que se considera la imagen de éste y por tal razón se sospecha que este mecanismo podría explicar en parte la perpetuación de las células de memoria.

Inicialmente, se creyó que esta red era de extensión ilimitada, pero posteriormente, se sustentó que su configuración era limitada. Una de las bases que apoya esto, son los principios de la termodinámica, los cuales indican que cada anticuerpo subsecuente es menos potente (pierden especificidad y disminuye su concentración) que su predecesor, asegurando la caída gradual del sistema; de esta forma, las reacciones serológicas sirven para disminuir la respuesta inmune humoral. Otra posible explicación, es que un tercer grupo de células se esté activando en esta cadena, las células T supresoras y que sean estas células las responsables del decaimiento en la respuesta.

Experimentalmente, se ha observado que en ratones inmunizados con antígenos T independientes (fosforilcolina, trinitrofenil-ficoll, etc.), los títulos de anticuerpos y el número de células productoras de anticuerpos disminuyen con el tiempo, mientras la cantidad de anticuerpos anti-idiotipo incrementa. También se ha observado que la inmunización de ratones con anticuerpos para un antígeno determinado, lleva a la producción de anticuerpos anti-idiotipo y la inoculación de esta clase de anticuerpos a ratones singénicos inmunizados con el antígeno en cuestión, suprime la respuesta inmune de estos ratones. Adicionalmente, se determinó que la inoculación de anticuerpos para el antígeno polisacárido de *Micrococcus lysodeikticus* (Ac1) en ratones, condujo a la obtención

sucesiva de los anticuerpos Ac2, Ac3 y Ac4. Sin embargo, se observó, que la red no fue totalmente simétrica en este sistema, ya que Ac3 no se pudo unir al antígeno, mientras el Ac1 si lo hizo, y el Ac4 une a Ac1 pero con menor afinidad que al Ac3. Finalmente, en este estudio se encontró que el idiotipo del Ac2 no es la imagen del antígeno. Estos resultados indican que si bien se crea una red de anticuerpos, que se asocian con el control y la supresión de las respuestas humorales, parece que el sistema no permite el establecimiento y perpetuación de linfocitos B de memoria, que era una de los supuestos derivados de la teoría de la red idiotípica.

Células Dendríticas

Las células dendríticas tienen diferentes funciones en el sistema inmune dependiendo de la clase y del estado de maduración en el que estas células se encuentren. El acumulo de evidencia reciente indica que varios grupos de células dendríticas juegan un papel crítico en la inducción de tolerancia de linfocitos T. Se ha demostrado que estas células dendríticas inducen un estado no proliferativo y cumplen una función tolerogénica, debido a la inducción de células T reguladoras productoras de IL-10 a partir de linfocitos T vírgenes, a la inducción de anergia en las células efectoras o al potenciar la delección clonal de los linfocitos T (CD4+ y CD8+).

Las evidencias muestran que las células dendríticas con estas capacidades, pueden ser células dendríticas plasmocitoides (CD11c negativo, CD123^{alto}, HLA DR positivo y CD4^{bajo}) en estado maduro o inmaduro, o células dendríticas derivadas de monocitos en estado inmaduro o que el efecto lo ejercen junto con otros estímulos (IL-10, células supresoras). Un estudio reciente aclara que estas células tienen un

fenotipo funcional diferente a las células dendríticas maduras e inmaduras, que algunos autores han denominado células dendríticas semi-maduras (semi-mDCs), las cuales se caracterizan por tener una capacidad reducida de estimulación alogénica de linfocitos T, mientras inducen una anergia alogénica específica de antígeno en estos linfocitos. Aunque los mecanismos responsables de la inducción de tolerancia por parte de células dendríticas aún son inciertos, se cree que puede deberse a que una célula dendrítica inmadura o semi madura entrega un estímulo de baja avididad (interacción de pocas moléculas del CMH y de moléculas coestimuladoras), que impide alcanzar el umbral requerido para la activación de los linfocitos T, o tal vez, porque este tipo de células dendríticas exprese moléculas características que sean indispensables para determinar la inmunosupresión de los linfocitos.

Respuestas Th1 y Th2

Desde hace varios años se determinó que existe una contra-regulación entre los linfocitos Th1 y Th2. Esto se ha basado en que citoquinas producidas por linfocitos Th1 inhiben o regulan la producción de citoquinas, la diferenciación y la función de linfocitos Th2, y viceversa. Lo normal es que exista un balance en las respuestas Th1 y Th2; sin embargo, se han reportado enfermedades asociadas a un desequilibrio de esta relación que conlleva a la prevalencia de uno de estos patrones. Ejemplos de esto lo constituyen ciertos agentes infecciosos intracelulares (*Leishmania spp.*), los cuales modulan la respuesta inmune hacia un patrón Th2, lo mismo que desórdenes autoinmunes y alergias, donde el patrón predominante es el Th2 (Para mayor comprensión del balance Th1 y Th2 ver el capítulo: Especialización de la Respuesta Inmune).

Apoptosis

Otro mecanismo que puede contribuir a la terminación de la activación de células T involucra la inducción de apoptosis. Durante la activación de los linfocitos específicos de un antígeno, aumenta la sensibilidad de las células T a la vía de señalización Fas/FasL, ya que varios elementos que constituyen esta vía son regulados positivamente durante la activación celular. En ausencia de señales de perpetuación de las respuestas inflamatorias, la expansión de células T específicas de antígeno es seguida por su eliminación mediante el fenómeno de apoptosis. De otro lado, la presencia de algunas citoquinas que limitan la sensibilidad a la apoptosis (como la IL-2), deben mantenerse a fin de regular negativamente la vía Fas/FasL. El fracaso de este mecanismo inhibitor puede tener consecuencias deplorables para el sistema inmune, como se evidencia en los síndromes linfoproliferativos que se producen en organismos con mutaciones en Fas o en alguno de los elementos de señalización de esta vía como en el caso de los ratones *lpr* (con defectos en Fas) o en ratones *gld* (con defectos en FasL). Así pues, la terminación y regulación de la respuesta inmune son tan importantes como su propia iniciación.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

La existencia de los mecanismos reguladores negativos de la respuesta inmune es un hecho ampliamente demostrado en la actualidad. Estos mecanismos muestran una extensa distribución e implementación de diferentes dispositivos de acción, que en último término, permiten alcanzar el equilibrio entre las respuestas activadoras e inhibitoras del sistema inmune. En este momento existe un marcado interés por entender la totalidad de los mecanismos por los cuales el sistema inmune regula

negativamente todas sus respuestas activadoras. Aunque ya se ha avanzado algo en este campo quedan muchos aspectos por aclarar y dilucidar. Sin embargo, es importante resaltar, que los estudios y hallazgos hechos hasta el momento, están teniendo un impacto incalculable en el entendimiento de la patogénesis y tratamiento de muchas enfermedades.

Por lo tanto, es muy importante continuar con la búsqueda de formas de manipulación del

sistema inmune que permitan potenciar o modular negativamente la habilidad de estos elementos inmunoreguladores. De esta manera, se pueden encontrar tratamientos nuevos que ayuden a controlar desórdenes autoinmunes, rechazo a alotrasplantes y procesos alérgicos. Así mismo permitirá el diseño de estrategias para potenciar la respuesta inmune específica a tumores, a antígenos extraños en infecciones crónicas o restablecer la capacidad de respuesta en caso de una inmunodeficiencia.

LECTURAS RECOMENDADAS

1. Alegre ML, Frauwirth KA, Thompson CB. T-cell regulation by CD28 and CTLA-4. *Nat Rev Immunol* 2001;1:220-8.
2. Baecher-Allan C, Viglietta V, Hafler DA. Inhibition of human CD4(+)/CD25(+ high) regulatory T cell function. *J Immunol* 2002;169:6210-7.
3. Billadeau DD, Leibson PJ. ITAMs versus ITIMs: striking a balance during cell regulation. *J Clin Invest* 2002;109:161-8.
4. Cottrez F, Hurst SD, Coffman RL, Groux H. T regulatory cells 1 inhibit a Th2-specific response in vivo. *J Immunol* 2000;165:4848-53.
5. Frauwirth KA, Thompson CB. Activation and inhibition of lymphocytes by costimulation. *J Clin Invest* 2002;109:295-9.
6. Harber M, Wraith D. The role of cytokines in immunological tolerance: potential for therapy. *Expert Reviews in Molecular Medicine* 2000:1-20.
7. Lanier LL. NK cell receptors. *Annu Rev Immunol* 1998;16:359-93.
8. Letterio JJ, Roberts AB. Regulation of immune responses by TGF-beta. *Annu Rev Immunol* 1998;16:137-61.
9. Male D, Champion B, Cooke A. Idiotype networks. In: *Advanced Immunology*. London: Gower Medical Publishing; 1987. p. 13.1-13.10.
10. McHugh RS, Shevach EM. The role of suppressor T cells in regulation of immune responses. *J Allergy Clin Immunol* 2002;110:693-702.
11. Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol* 2001;19:683-765.
12. Ravetch JV, Lanier LL. Immune inhibitory receptors. *Science* 2000;290:84-9.
13. Ravetch JV, Bolland S. IgG Fc receptors. *Annu Rev Immunol* 2001;19:275-90.
14. Shevach EM. CD4+ CD25+ suppressor T cells: More questions than answers. *Nat Rev Immunol* 2002;2:389-400.
15. Weiner HL. Oral tolerance: immune mechanisms and the generation of Th3-type TGF-beta-secreting regulatory cells. *Microbes Infect* 2001;3:947-54.