

Modulación y síntesis de las citocinas. ¿Es un fenómeno dependiente del sistema HLA?

Eduardo Egea¹, Gloria Garavito², Antonio Iglesias³

Resumen

Las citocinas son un grupo de glucoproteínas producidas por células inmunocompetentes, las cuales regulan y controlan la actividad funcional de los linfocitos y de los macrófagos, así como también otras células altamente especializadas que participan en los eventos biológicos de toda respuesta inmune específica. Dentro de sus principales acciones biológicas se destaca la activación y la inducción de la diferenciación celular de las células blanco, la amplificación de la reacción inflamatoria, presente en la fisiopatología de enfermedades con un fondo inmunológico, y su papel regulatorio de la respuesta inmune.

La presentación y el reconocimiento antigénico, fenómenos biológicos resultantes del proceso de interacción molecular entre el receptor del linfocito T (TcR) y el complejo péptido antigénico MHC, son factores determinantes en el desarrollo de la respuesta inmunitaria protectora o en la perpetuación de interacciones moleculares generadoras de citocinas responsables, a la postre, de un sustrato anatomopatológico en las enfermedades alérgicas, autoinmunes y algunas infecciosas.

Se considera que las moléculas producto de los sistemas genéticos que controlan la respuesta inmune y estos factores coestimulantes (citocinas) juegan un papel preponderante en el funcionamiento del sistema inmune.

Palabras claves:

Abstract

Cytokines are a group of glycoproteins produced by immunocompetent cells which rule and control the functional activity of lymphocytes and macrophages as well as other highly specialized cells which take part in the biological events in every specific immune response. Among its main biological actions the ones which are considered to be the most relevant are: the activation and induction of the differentiation of target cells, the enlargement of the inflammatory reaction present in the pathophysiology of illnesses with an immune background, and the regulatory role of the immune response.

The presentation and antigenic recognition, which are biologic phenomena resulting from the process of molecular interaction between the lymphocyte T receptor (TcR) and the MHC antigenic peptide complex, are determinant factors in the development of a protective immune response or in the perpetuation of molecular interactions which produce cytokines responsible for an anatomopathologic substrate in the allergic, autoimmune diseases and some infectious ones.

The molecules produced by the genetic systems are considered to control the immune response and these co-stimulant factors (cytokines) play a major role in the functioning of the immune system.

Key words:

¹ MD. de la Universidad de Cartagena. Especialista en Inmunología de la Universidad de Autónoma de México. Postdoctoral Research Fellow División de Inmunogenética, Departamento de Patología, Harvard Medical School of Harvard University. Investigador del Centro de Investigaciones en Inmunología y Biología Molecular de la Universidad del Norte. (Dirección: eegea@guayacan.uninorte.edu.co).

² MD. de la Universidad Libre. Especialista en Diseño y Evaluación de Proyectos en Salud de la Universidad del Norte. Candidato a Ph.D. en Inmunología de la Universidad Autónoma de Barcelona. Jefe del Laboratorio del Centro de Investigaciones en Inmunología y Biología Molecular de la Universidad del Norte. (Dirección: ggaravito@guayacan.uninorte.edu.co).

³ MD. de la Universidad Nacional de Colombia. Profesor de Reumatología de la Universidad Nacional. Director del Instituto Nacional de Salud.

1. Introducción

Las CITOCINAS constituyen una familia de proteínas, las cuales tienen propiedades reguladoras y amplificadoras de la respuesta inmune. Estas glicoproteínas intervienen en casi todos los eventos biológicos de una respuesta inmunitaria: a nivel de la presentación antigénica y del procesamiento antigénico; en la diferenciación celular que acontece en la médula ósea y en la expresión de las moléculas de adhesión, así como en los fenómenos inflamatorios, tanto de fase tardía como de fase aguda, en respuesta a estímulos antigénicos o a estadios fisiopatológicos de ciertas noxas (1).

2. CITOCINAS: El concepto

Las citocinas comparten múltiples papeles reguladores y funciones en la determinación de una respuesta inmune específica. Por ello los intentos por definir y describir su papel biológico es más un ejercicio académico que un intento por comprender su función y su acción. Su agrupamiento en razón a su origen celular o a su actividad biológica a menudo conlleva a la sobreposición de sus características funcionales. En esta revisión describiremos en detalle las propiedades biológicas de las principales interleucinas que regulan la activación, la proliferación y la diferenciación de los linfocitos T.

2.1. El interferón

El interferón I –IFN I– modula la expresión de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad, MHC. En general, el IFN tipo I aumenta la expresión de moléculas HLA de clase I del MHC e inhibe profundamente la de moléculas de clase HLA. Dado que la mayor parte de los linfocitos T citolíticos (LTC) reconocen antígenos extraños unidos a moléculas HLA de clase I del MHC, el IFN tipo I estimula la fase efectora de las respuestas inmunitarias mediadas por células y aumenta la eficacia de la lisis mediada por los LTC. Al mismo tiempo, el IFN tipo I puede inhibir la fase de reconocimiento de las respuestas inmunitarias y evita la activación de los linfocitos T cooperadores restringidos por los antígenos HLA de clase II del MHC.

La citocina más importante en el proceso de activación de los macrófagos es el IFN- γ , y por lo tanto en la inmunidad mediada por células (2). El IFN- α aumenta la expresión de moléculas de clase I del MHC, y al contrario del IFN tipo I, también provoca la expresión de moléculas de clase II del MHC en diversas células. De este modo, el IFN- γ amplifica la fase de reconocimiento de la respuesta inmunitaria y promueve la activación de las células T cooperadoras CD4+ restringidas por la clase II. *In vivo*, el IFN- γ puede aumentar las respuestas inmunitarias humorales y celulares a través de estas acciones en la fase de reconocimiento (3).

2.2. Factor de necrosis tumoral

Esta citocina primariamente es originaria de los linfo mononucleares (TNF- α) y de los linfocitos T (TNF- β). El TNF ejerce un efecto protector similar al del interferón contra los virus, y aumenta la expresión de moléculas de clase I del MHC, lo cual potencia la lisis de las células infectadas por virus por los LT. Una función importante del TNF es su actividad proinflamatoria, ya que induce la expresión de moléculas de adhesión a nivel de la célula endotelial (ICAM-I) y permite la quimiotaxis de los granulocitos hacia el sitio de la inflamación (4). Ahora se sabe que la principal función del TNF es ser mediador de la respuesta inflamatoria del huésped en la inmunidad natural y en mecanismos antitumores y de respuesta contra las infecciones virales (5).

2.3. Interleucina-2

La IL-2 es la principal citocina responsable de la progresión de los linfocitos T desde la fase G a la S del ciclo celular. La IL-2 es producida por las células LT CD4+, y en menor cantidad por las células LT CD8+. Regula la expresión de las moléculas HLA clase II del MHC y de manera autocrina controla la síntesis del receptor para ella (IL-2r) y su propia síntesis. De esta forma induce la selección clonal de las células LT(6).

2.4. Interleucina-4

La IL-4 se comporta como un factor de crecimiento para los LT y los linfocitos B (LB). Las principales

fuentes celulares de IL-4 son LT CD4+, específicamente del subgrupo TH1. De hecho, la producción celular de IL-4 se utiliza como criterio de clasificación de las células LT CD4+ en este subgrupo, siendo la producción de IFN- γ característica de las células TH1(7).

La IL-4 inhibe la activación del macrófago y bloquea la mayor parte de los efectos activadores sobre el macrófago del IFN- γ , incluida la producción aumentada de citocinas como la IL-1, el óxido nítrico y las prostaglandinas. Estos efectos son iguales a los de la IL-10, que producen también las células TH2. Esta es una de las principales razones por las que la activación de las células TH2 se asocia a menudo con una supresión de las reacciones inmunitarias mediadas por los macrófagos. La IL-4 es un factor de proliferación y diferenciación de las células del subgrupo TH2.1. La IL-4 promueve el desarrollo de células TH2 secretoras de IL-4 + IL-5, a partir de células T nativas estimuladas por el antígeno. La IL-4 también actúa como factor de proliferación autocrino para las células TH2, promoviendo más la expansión de este subgrupo (8).

2.5. Interleucina-10

La IL-10 fue originalmente identificada en el modelo murino. Es una citocina de 18 kD producida por el subgrupo TH2 de las células cooperadoras CD4+. También es producida por algunas células B activadas y por algunas células TH1 (en seres humanos), por macrófagos activados y por algunas células no linfocíticas (por ej., los queratinocitos). Las dos actividades principales de la IL-10 son inhibir la producción de citocinas (tales como TNF, IL-1 IL-2) por los macrófagos, e inhibir las funciones accesorias de los macrófagos en la activación de la célula T. Este último efecto se debe a la expresión reducida de moléculas de clase II del MHC en células monocíticas cuando ellas funcionan como APC, y a la expresión reducida de ciertos coestimuladores (por ej., B7.1). Además de sus efectos inhibidores sobre los macrófagos, la IL-10 tiene acciones estimuladoras sobre las células B. Es interesante resaltar que el genoma del virus de Epstein-Barr contiene un gene homólogo al de la IL-10 y que la IL-10 viral comparte actividades *in vitro* con la citocina derivada de la célula T. Esto plantea la posibilidad intrigante de

que el virus haya adquirido el gen humano como un medio de inhibir la inmunidad antiviral. La cadena p40 es producida principalmente por monocitos activados y células B, por lo que éstas son las fuentes principales de la citocina completa (9).

2.6. Interleucina-12

Igual que la IL-2, la IL-12 estimula la diferenciación de las células NK a células asesinas activadas por citocinas (LAK Cells). La IL-12 es un importante regulador de las respuestas inmunitarias mediadas por células, por su efecto sobre las células NK y los linfocitos T. La IL-12 también induce la proliferación de LT CD4+ y LT CD8+, por lo que es el más potente activador conocido de la célula NK. Induce la transcripción de IFN- γ por las células NK, y muestra fuerte sinergia con la IL-12. También estimula la diferenciación de las LT CD4+ nativas al subgrupo TH1 (8-10).

3. EL COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD

El complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) está constituido por un conjunto de genes y sus alelos, localizados en el brazo corto del cromosoma 6, los cuales se extienden en una longitud de aproximadamente 4000 KB. Esta región alberga tres diferentes familias de genes conocidos como clase I, clase II y clase III (11). Los genes de clase I codifican para glicoproteínas denominadas antígenos HLA de clase I. Los locis descritos actualmente son siete: HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F, HLA-G y HLA-K. Los productos proteicos denominados cadena alfa se unen de forma no covalente a una molécula Beta2 microglobulina para formar una molécula completa de HLA clase I. Estas moléculas funcionan como elementos de restricción, esenciales para el reconocimiento de los antígenos Ag. tumorales y virales. Intercalados entre los genes de clase I y II se encuentran otros denominados genes de clase III, los cuales controlan la síntesis de algunos componentes del sistema del Complemento. Otros genes importantes localizados en esa misma región son los que codifican para la síntesis del (TNF) (12).

La región más compleja está representada por el conjunto de genes de clase II. Estos se encuentran

agrupados en los denominados HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP, HLA-DN, TAP1, TAP2, IMP2 y LMP7. Los loci HLA-DR y HLA-DQ son los más polimorfos, y contienen alelos que controlan la síntesis de cadenas polipeptídicas denominadas α y β , las cuales al ensamblarse dan lugar a la expresión de una glicoproteína dimérica llamada antígenos HLA clase II (13). Estas moléculas se expresan sobre la superficie de las células presentadoras de antígenos (APC), los macrófagos ($M\phi$), los LT activados, los LTh colaboradores, los LB, las células epiteliales y las endoteliales. Estas moléculas son sumamente polimórficas, y la variabilidad tanto de la clase I como de la clase II determina la existencia de la alorreactividad y de la presentación antigénica, dada su capacidad de unirse a diversos péptidos. La función central del MHC es la de presentar estos péptidos al Receptor del linfocito T (TcR) (14).

El procesamiento antigénico, fenómeno desarrollado por los fago-mononucleares a través de la endocitosis, el catabolismo de las macromoléculas a través de los eventos bioquímicos de la fagocitosis, en particular de la hidrólisis enzimática, la unión del péptido antigénico con la molécula HLA-clase II en el retículo endoplásmico y la presentación antigénica a los LTh- representan la vía más estudiada para la producción de algunas citocinas, en particular las producidas por el $M\phi$ y la interleucina IL-2. Sin embargo, actualmente se conoce que las APC pueden sintetizar y secretar citocinas de una forma independiente a la presentación de antígenos en el contexto restringido por las moléculas HLA. Tal es el caso de la producción de TNF a través de la interacción entre la molécula CD14 y las endotoxinas (15).

4. CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES DE LAS CITOCINAS

Las citocinas se producen durante las fases efectoras de la inmunidad natural y específica, y sirven para mediar las respuestas inmunitarias e inflamatorias. Derivan de las células T. Se producen en respuesta al reconocimiento específico de antígenos extraños. La secreción de las citocinas es breve y auto-limitada; ellas no se alcanzan a almacenar como moléculas pre-formadas, y su síntesis se inicia por una nueva transcripción genética. Esta activación suele ser

transitoria, y los ARNm que codifican las citocinas suelen ser inestables. Las citocinas actúan sobre diferentes tipos celulares (pleiotropismo) y tienen a menudo múltiples efectos diferentes sobre la misma célula diana, sus acciones son redundantes e influyen en la acción de otras citocinas así: dos citocinas pueden interactuar para antagonizar sus acciones, producir efectos aditivos o, en algunos casos, producir efectos mayores de lo previsto, e incluso distintos. La célula diana relevante puede ser la misma célula que secreta la citocina (acción auto-crina), una célula cercana (acción paracrina) o, como verdaderas hormonas, una célula distante que se estimula a través de las citocinas secretadas a la circulación (acción endocrina).

El mecanismo por el cual la unión de la citocina a su receptor en la superficie celular estimula la transcripción no se conoce todavía por completo. Algunos estudios recientes han identificado secuencias de nucleótidos en las regiones adyacentes 5' a los genes, cuya transcripción se activa por la acción de las citocinas. Se cree que éstas estimulan la producción o la unión de factores nucleares reguladores específicos a estas secuencias diana, y que tal unión produce la transcripción. La mayor parte de las acciones de las citocinas depende de una nueva transcripción genética, y se cree que están mediadas por la acción de proteínas ligadoras del ADN (factores de transcripción). Se cree que los interferones producen la activación de la tirosin-cinasa asociada al receptor. Prueba de este modelo es la observación que las señales que producen el IFN se pierden en las células que carecen de una tirosin-cinasa particular: la Tyk-2.

La producción de señales del IFN- γ se mantiene en las células sin TyK-2, pero se pierden en las células que carecen de otra tirosin-cinasa, la JAK-2. Ningún tipo de IFN funciona en las células que carecen de JAK-2. El IFN activa una tirosin-cinasa diferente que fosforila de forma selectiva sólo a una subunidad del ISGF-3.

Dos citocinas, el TNF y la IL-1, comparten la capacidad de producir una traslocación rápida de un complejo NF-kB preexistente (p50-p65) desde el citoplasma al núcleo, donde se une a secuencias de ADN reguladoras en los promotores de varios genes

inducibles por citocinas. Una vía que se cree está implicada en la translocación del NF- κ B comienza con la activación por el receptor de una fosfolipasa C específica para la fosfatidilcolina (PC-PLC). Esta enzima libera el diacilglicerol de la fosfatidilcolina que libera la ceramida de la esfinglomiélin unida a la membrana. La ceramida se une y activa una proteína-cinasa específica, que se cree que libera NF- κ B de su interacción con una subunidad ligadora citoplasmática, llamada I- κ B. Una vez dissociado del I- κ B, el NF- κ B va al núcleo y activa la transcripción de genes que contienen secuencias de unión κ B.

Las PC-PLC rompen el fosfatidilinositol unido a la membrana y dan lugar al inositol trifostato, que eleva el calcio libre intracelular, y diacilglicerol, que en presencia del calcio libre intracelular activa las isoenzimas de la proteína-cinasa. El calcio, al unirse a la calmodulina, activa a otras enzimas. Se cree que las cinasas activadas por el calcio y la PKC contribuyen a la motilidad de los leucocitos por sus interacciones con proteínas del citoesqueleto como la cadena ligera de la miosina.

Las tirosín-cinasas suelen actuar en dos pasos. Primero, fosforilan residuos de tirosina específicos en los dominios citoplasmáticos de los receptores o en subunidades transductoras de señales asociadas al receptor. Estas tirosinas fosforiladas del receptor son reconocidas por proteínas citoplasmáticas que contienen dominios SH2. De manera que varias de estas proteínas se unen al receptor y se agrupan en la membrana. Segundo, las tirosín-cinasas asociadas al receptor fosforilan entonces residuos tirosinasa en las nuevas proteínas unidas que contienen el SH2, y las activan. En la célula T, algunas de estas proteínas que tienen el SH2 son enzimas, como la PI PLC 1, que (como la PI PLC- β 1 y β 2) inician una cascada de elevación del calcio y activación de la PKC. Recientemente se ha descrito una vía que conecta la activación de la tirosín-cinasa con la mutogénesis. Específicamente, la fosforilación de la tirosina de un receptor de un factor de proliferación lleva a la unión de una proteína no enzimática que contiene el SH2, llamada GRB-2. Esta contiene un dominio SH-3 que se une a otra proteína llamada SOS. Tras la fosforilación de la tirosina, la SOS cataliza el intercambio del GTP por el GDP unido, en una proteína ligadora del GTP por el GDP unido,

en una proteína ligadora del GTP monomérica llamada Ras. El Ras GTP activa una cascada de cinasas serina/tirosina que finalmente lleva a la fosforilación y activación de varios factores de transcripción, incluidos AP-1 y c-myc, que estimulan la división celular (16-17-18).

5. SINOPSIS DEL FUNCIONAMIENTO DEL SISTEMA INMUNE

Los eventos moleculares y los mecanismos de interacción celular que definen la expresión de una respuesta inmune específica, bien sea una respuesta humoral o una respuesta inmune mediada por células, comienzan cuando un antígeno extraño es identificado por una célula presentadora de antígeno (APC), que usualmente es un M ϕ o un monocito, la cual después del Procesamiento Antigénico debe presentarlo en íntima relación con las células de los antígenos del sistema HLA a los LTh. Las características bioquímicas y la naturaleza del Ag determinan cómo se procesa éste, así como la clase de glucoproteína (HLA) que lo presentará en la superficie de la APC. Los Ag intracelulares, tales como los péptidos virales, son presentados por moléculas HLA clase I, y los extracelulares, por los HLA de clase II. De particular interés resulta que los HLA clase II sólo se expresan en las células inmunocompetentes, mientras que los Ag HLA clase I se encuentran en todas las células corporales. Estas glucoproteínas, en particular los HLA-clase II, son marcadores de activación de los LT, y su expresión se encuentra incrementada en la membrana de los linfomononucleares de sangre periférica cuando existe un péptido que orchestra la interacción celular a través del lenguaje molecular de membrana, en el que finalmente se originan mensajes hacia el núcleo, para que luego, vía activadores de la transcripción de la síntesis de mediadores y amplificadores de la respuesta inmune, tales como las citocinas, se generen las respuestas efectoras humorales y celulares (19).

La sola interacción física entre el complejo molecular HLA-péptido antigénico y la macromolécula del receptor del linfocito T (TcR), el denominado complejo trimolecular, no es suficiente para que se produzca la activación del LT. Se requieren de otros factores co-estimuladores: las CITOCINAS. El

proceso se inicia por la secreción y efecto de las monocinas: IL1 y el factor de necrosis tisular alfa (TNF). Una vez estos LT se encuentran activados, proliferan y secretan otras nuevas proteínas, las cuales son responsables de la comodulación de una respuesta inmune específica. Existen diferentes subpoblaciones de LT, los cuales se diferencian en su fenotipo de membrana. Los linfocitos LTh tienen un gradiente de expresión de membrana mayor de la glicoproteína de diferenciación CD4, y los LTs expresan mayormente la proteína CD8 (20).

No todos los LT producen las mismas citocinas. Los LTs y los LT antígeno específico se pueden clasificar sobre la base de su perfil de secreción de citocinas, denominándose LTh TH1 o LTh TH2. Sin embargo, no existen diferencias en cuanto al fenotipo de membrana entre estos tipos de células. Los TH1 en el humano secretan IFN gamma y TNF, pero no secretan IL-4. Los TH2 producen IL-4, IL-5 e IL-9, pero no TNF ni INF gamma. Ambos tipos producen IL-2, IL-10 e IL-12 (21).

No hay claridad respecto a cuáles y cómo son los mecanismos que producen esta diferenciación funcional. Sin embargo, se considera que la predisposición genética y los sistemas de genes que controlan la respuesta inmune, en particular los genes del MHC y del TcR, en especial los de la región V beta del receptor, juegan un papel preponderante en ésta. De otra parte, las características físico-químicas y la naturaleza del antígeno determinan esta interacción de sistemas génicos y sus productos moleculares: las glicoproteínas de membrana celular con función en el sistema inmunológico (22).

6. LOS GENES DE RESPUESTA INMUNE (IR) Y SU EXPRESIÓN FUNCIONAL EN EL LINFOCITO T

6.1. El caso del virus de la hepatitis B: La pérdida de la respuesta a la vacuna

En un intento por estudiar e identificar marcadores del MHC en la respuesta inmune específica contra el VHB, se han realizado estudios de genética molecular en el sistema HLA de clase I, II y III en personas que recibieron la vacuna contra la hepatitis

B. Los resultados mostraron que las personas que no respondieron a la vacunación tenían incrementos en la frecuencia del HLA-DR7 y la forma alelica del sistema de complotipos FC31 (23). También en este grupo de individuos se ha encontrado un incremento de la frecuencia de dos haplotipos extendidos; HLA-B8, DR3, SCO1 y HLA-B44, DR7, FC31, lo que sugiere que los genes que controlan la respuesta inmune contra la vacuna de la hepatitis B pudieran estar presentes en el mismo haplotipo extendido.

En este estudio no solamente se encontraron estos haplotipos que pudieran predecir la pérdida de la respuesta ante la vacuna contra el VHB, sino que al inmunizar prospectivamente individuos homocigotes no generaron respuesta inmunitaria alguna (24). Este es un estudio muy importante porque identifica el problema de la no respuesta en el modelo humano.

Los estudios pioneros se hicieron en el modelo murino. De ellos, los trabajos clásicos han sido aportados por Milich y colaboradores. Sus investigaciones demostraron la influencia de dos genes de respuesta, una humoral y otra celular, para determinar los mecanismos inmunológicos en respuesta a la región S del VHB e identificaron fenotipos de tipo H-2 (homólogo del modelo murino del HLA) involucrados en la no respuesta. Estos estudios mostraron que la respuesta de células T ante la región pre-S (2) estaba regulada por genes relacionados con el H-2, independientes de la respuesta ante la región S. Milich concluyó, documentado en la respuesta celular y humoral, que tanto en los ratones no respondedores como en los respondedores los genes del sistema H2 eran los responsables de controlar y regular la respuesta inmunitaria a la vacuna p25 HbsAg contra el VHB (25-26).

Al estudiar la relación existente entre la falta de respuesta a la vacuna de la hepatitis B y los haplotipos, Sasazuki encontró que todos los individuos positivos para HLA-BW54-DR4-DRW53-DQW fueron no respondedores al HbsAg (24). Ninguno de los linfocitos de los pacientes no respondedores mostró un buen manejo de su respuesta *in vitro* al HbsAg. Sin embargo, si se hacía depleción de los linfocitos LTCD8+ de las muestras de sangre periférica de los pacientes no respondedores, se obser-

vaba un significativo incremento en la producción de anticuerpos anti-HbsAg, lo que indicaba que estas células CD8+ pudieran ser las responsables de inhibir la producción de anticuerpos específicos; todo ello mostrando un patrón de dominancia relacionado al MHC.

Craven y colaboradores encontraron en 1986 un incremento en HLA-DR4 y HLA-DR3 entre no respondedores e hiporrespondedores, como resultado de una frecuencia aumentada de los haplotipos HLA-B8, SC01, DR3 y HAL-B44, Fc31, DR.

Los estudios de Alper y colaboradores demostraron una relación entre no respuesta y HLA-B8, DR3, SC01(27). Un estudio posterior mostró que las asociaciones del haplotipo HLA-B8, SC01, DR3 estaban relacionadas realmente con la no respuesta, pero con un patrón de herencia recesivo relacionado al MHC, sin la aparición de una línea de células CD8+ supresoras responsables de la no respuesta. Se sugirió que la no respuesta podría estar relacionada con un defecto en las células encargadas de la presentación antigénica y/o su interacción con las células ayudadoras CD4+ (28).

Otros grupos, como el de Usonis y colaboradores, han encontrado relaciones de no-respuesta con otros haplotipos. Usonis documentó un aumento con otros haplotipos HLA-DR7 y HAL-DR1 en individuos no respondedores ante la vacuna contra el VHB (29).

Estudios recientes en el reconocimiento celular y la restricción del HLA de un péptido del HbsAg en individuos vacunados contra la HB sugieren que éste está restringido por los alelos de HLA DR (30).

Los mecanismos celulares acompañantes de estos hallazgos genéticos no han sido claramente definidos. Se sabe que la respuesta inmune ante un antígeno, en particular ante el HbsAg, fallaría si el macrófago no procesa el antígeno y/o lo presenta en forma inadecuada a la célula T, o bien pudiera ser que estas deficiencias se deban a la ausencia de un clon de células T, el cual potencialmente reaccionaría con un epítipo, y éste pudiera ser tan similar a la región variable de los productos génicos de la clase II del sistema MHC, que genera lo que se llama un

proceso de mímica molecular, de manera que se presentaría tolerancia, lo que en últimas haría que las células T reconocieran el antígeno extraño como propio (31).

Las experiencias muestran que el defecto de los no respondedores radica en sus LT y no en las APC. Las diferencias en la unión de los péptidos inmunodominantes procesados y unidos a las moléculas HLA clase II pertenecientes a las membranas de APC no son suficientes para explicar la no respuesta al HbsAg. La respuesta inmune a proteínas foráneas está controlada por el MHC en el ratón y otras especies (32). En general, la respuesta es heredada en forma dominante y se expresa en la función de los LT, y la falla en la respuesta en un rango es recesivo, el cual se refleja en una falla en dicha respuesta (33). El MHC opera por lo menos de dos formas para mediar en la respuesta inmune: vía unión directa de los péptidos procesados a las moléculas HLA clase II como parte de la presentación antigénica a los linfocitos LTh CD4+ (37) o a través de antígenos HLA clase I de los linfocitos T citotóxicos LTCD8+ o supresores (Lts) y en la selección de los linfocitos T en el timo o en los órganos linfoides periféricos, a través de moléculas polimórficas del receptor poligénico TcR específico (34-35).

En humanos existe una correspondencia en el grupo de los no respondedores entre los niveles de anti HbsAg y la proliferación *in vitro* de linfocitos T a HbsAg (28). Al remover los linfocitos LT CD8+ (Lts) no hay proliferación en las células sanguíneas mononucleares no respondedoras. Hacia una explicación de la no respuesta en los respondedores, la respuesta a un residuo peptídico del HbsAg fue bloqueada por anticuerpos monoclonales por anti HLA-DR, pero no por anti HLA-DQ o anti DO (39).

La falla para producir una respuesta inmune humoral a un antígeno puede ocurrir por uno o muchos mecanismos determinados por el MHC. Puede existir un vacío en el repertorio del reconocimiento antigénico del linfocito T inducido por moléculas específicas del MHC durante la maduración tímica de los linfocitos T (36). Un mecanismo en vivo postulado en relación con la no respuesta por parte del linfocito T a un antígeno, incluyendo el HbsAg, se basa en el mimetismo

molecular del epítipo foráneo por las proteínas codificadas por los loci polimórficos no MHC (37).

Puede existir una falla en las moléculas HLA clase II del MHC para interactuar con el antígeno procesado con el resultado de la consecuente falla en la activación de los linfocitos CD4+ (38). Este fenómeno condicionaría la regulación y síntesis de las citocinas. La explicación más común de la pérdida de la respuesta inmune a los antígenos como el HEL, OVA, Citocromo C, la proteína nucleasa del estafilococo, es la relacionada con una presencia de una unión defectuosa por parte del péptido al MHC (38-39). Sin embargo, es necesario considerar los vacíos que pueden presentarse en el repertorio de los linfocitos T para reconocer péptidos antigénicos. En estas circunstancias se muestra que existe una contribución relativa tanto de la selección determinante como de los vacíos en el repertorio de los linfocitos T.

Actualmente existen evidencias en contra de la selección determinante como un mecanismo para explicar la no respuesta contra el HbsAg. Según estas investigaciones, se descarta la posibilidad de que la no respuesta al HbsAg pueda ser el resultado de una actividad alterada de los linfocitos Th2 que conllevaría a una desregulación en la producción de citoquinas (40). Por el contrario, las investigaciones sugieren que ni la citotoxicidad o la supresión vía LTCD8+ puedan jugar un papel importante en la no respuesta al HbsAg, de forma tal que la no respuesta al HbsAg se debe a un defecto en las células T ayudadoras específicas HbsAg. Este defecto puede ser resultado de la delección de estas células durante la educación a nivel del timo o a la presencia de linfocitos T ayudadores que posean moléculas accesorias, CD28 y se conviertan en anérgicas (41). Más aún, resultados recientes sugieren que la no respuesta al HbsAg no es el resultado de una falla en la presentación antigénica o de unión pobre del péptido antigénico HbsAg a las moléculas HLA clase II, sino que en este proceso pueden así mismo tener influencia otros mecanismos como los efectos reductores, enzimáticos o inhibidores enzimáticos (42).

7. EL COMPORTAMIENTO CELULAR Y MOLECULAR DE LA RESPUESTA INMUNE CON-

TRA LA INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA LEUCEMIA DEL LINFOCITO T (HTLV-I/II)

Este virus, el primero de su clase (los retrovirus) infecta las células LT, y produce en el humano distintos síndromes clínicos. Se estima hoy en día que en un enfermo con mielopatía asociada a este virus hay un 15% de sus LT infectados. El fenotipo de membrana de estos LT es predominantemente CD4+CD45RO+; sin embargo, un pequeño porcentaje de CD8+ están infectados. En contraste con el HTLV-II, el cual predominantemente infecta los LTCD8+, el HTLV-I es una enfermedad de los LTh. Una característica de la infección por este patógeno la constituye el incremento de marcadores de activación de los LT, tales como las moléculas HLA y la cadena p55 de la IL-2. De otra parte, existe una espontánea proliferación de los linfomononucleares de sangre periférica *in vitro*. Este fenómeno puede deberse a una exagerada secreción autocrina de la IL-2, lo que explicaría el incremento en la expresión del receptor de IL-2 y cómo con anticuerpos monoclonales se puede revertir este estadio fisiopatológico (43).

Se sabe hoy en día que *in vitro* existe una respuesta citotóxica de LT de individuos infectados contra células de una línea que expresan epítipes del HTVL-I generada a partir de células de individuos con leucemia de LT del adulto. Y que esta citotoxicidad está restringida por las moléculas HLA-2. Sin embargo, la respuesta citotóxica evaluada usando linfocitos provenientes de pacientes con mielopatía asociada a HTVL-I es restringida por ambos antígenos, HLA clase I y clase II, pues participa en ella células LTCD4+ y LTCD8+ (44).

Se postula que una importante vía por la cual este virus puede alterar el sistema inmunológico es a través de la inducción de perfiles alterados de citocinas. Experimentalmente se ha demostrado que células transformadas por este virus pueden sintetizar una variedad de ellas, tales como: IL-2; TNF alfa e IL-6 (52). Los pocos estudios que se han realizado orientados hacia el análisis de las propiedades transactivadoras de los péptidos de este virus sugieren que pueden incrementar la transcripción de las IL-2, IL-3 e IL-4 y otros factores de crecimiento (54).

De esta forma, y en el contexto de estos conceptos, podríamos considerar que los LMN de sangre periférica al ser infectados por el HTVL-I se activan, y expresan un mayor número de moléculas asociadas con la regulación de la producción de las citocinas, en especial las moléculas HLA de clase I y II, para que al aparecer células con función citotóxica y de presentación Ag orquesten el repertorio de las citocinas. En estos eventos biológicos se podrán activar células restantes (*resting t cell*) por el efecto paracrino y posible endocrino de otras citocinas que estarían amplificando la respuesta.

8. LAS ALTERACIONES DE LA RESPUESTA INMUNE EN EL LUPUS

En esta enfermedad autoinmune existen múltiples alteraciones de la inmunorregulación y de la respuesta del sistema inmunitario. Sin embargo, hasta el momento no está claro la causa que condiciona la presencia de la inmunosupresión y de los fenómenos autoinmunes. La revisión de la literatura y el análisis de la data experimental obtenida hasta el momento soportan la teoría de que un defecto primario de las células T pudiera ser uno de los factores responsables del desarrollo de los síntomas y la instalación de la enfermedad; y que estos eventos biológicos en la patogénesis del LES son los responsables de las diferentes alteraciones (46). Uno de estos efectos relevantes lo constituye una alterada proliferación celular de LT cuando *in vitro* éstos se exponen a los mitógenos y/o antígenos biológicos de las moléculas HLA de carácter autólogo y heterólogo. Esta alteración se ha observado tanto en el modelo murino como en el humano (47). Sin embargo, hasta la fecha no existen evidencias que muestren a este fenómeno como una consecuencia de un defecto en la presentación antigénica y/o en el reconocimiento del antígeno en forma individual. Los conocimientos generados apuntan hacia un defecto en ambas, tanto en las APC como en los LT (46).

De otra parte, también se ha encontrado que la adición *in vitro* de IL-2 a cultivos de LT CD4+ y LT CD8+ provenientes de pacientes con LES no restituyen en su totalidad la linfoproliferación de aquellas células, por lo que se considera que el defecto de las células T es a un nivel primario. Aunque existe un sustancial desconocimiento de este desorden, hasta

el momento se han identificado alteraciones en los mecanismos de activación de señales y en los procesos de transcripción vía proteinkinasa-fosfoinositol-calcio y AMP-proteinkinasa, los cuales son los pilares de los procesos bioquímicos en la regulación y control de la síntesis de citocinas (48). Estos hallazgos han permitido postular que alteraciones bioquímicas pudieran alterar la transducción de señales en los procesos de activación de los LT, con la consiguiente desregulación en la diferenciación funcional de los T-H1 y TH2, lo que podría explicar las alteraciones en la interacción LT, LB y LT-LT que conducirían a las diversas anomalías de proliferación, colaboración, inmunosupresión y pérdida de la tolerancia encontradas en esta enfermedad (49).

Bibliografía

1. Yokota. «Cytokines: Coordinators of immune and inflammatory responses». *Annual Review of Biochemistry* 59:783-836, 1990.
2. Farrar, MA.; Schreiber, RD. «The molecular cell biology of interferon- γ and its receptor». *Annu. Rev. Immunol.* 1993; 11:571-611.
3. Vilcey, J.; Lee, TH. «Tumor necrosis factor: new insights into the molecular mechanisms of its multiple actions». *J. Biol. Chem.* 1991; 266: 7313-6.
4. Rothlein R. «Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in the pathogenesis of asthma». *Science* 1990; 247:456-9.
5. Tracey, KJ.; Fong, Y.; Hesse, DG. *et al.* «Anti-cachectin/ TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteraemia». *Nature* 1987; 330: 662-4.
6. Smith, KA. «Interleukin 2». *Annu. Rev. Immunol.* 1984; 2: 319-33.
7. Paul, WE. «Interleukin-4: a prototypic immunoregulatory lymphokine». *Blood* 1991; 77: 1859-70.
8. Paul, WE.; Ohara, J. «B cell stimulatory factor 1/ interleukin 4». *Annu. Rev. Immunol.* 1987; 5: 429-59.
9. Moore, K. W.; A. O., Garra, R. De W., Maleyt, P. Vieira and T. R. Mosmann. «Interleukin-10». *Annual Review of Immunology* 11: 165-190, 1993.
10. Brunda, MJ. «Interleukin-12». *J. Leukoc. Biol.* 1994; 55: 280-8.
11. Trowsdale, J.; Ragoussis, J.; Campbell, RD. «Map of the human MHC, immunol». *Today* 1991; 12: 443-446.
12. Heinrichs, H.; Orr, HT. «HLA non-A, B, C, class I genes: their structure and expression». *Immunol. Rev.* 1990; 9: 265-274.
13. Hauptmann, G. «Les molecules de classe III». En: Dausset, J.; Pla, M. (eds) *HALA. Complexe majeur d-histocompatibilité de I-home*. París, Flammarion Medicine-Sciences, 1989; 188-204.
14. Buus, S.; Sette, A.; Grey, HM. «The interaction between protein derived immunogenic peptides and Ia». *Immunol. Rev.* 1987; 98: 115-132.

15. Writth, SD.; Ramos, RA.; Tobias, PS.; Ulevitch, R.; Mathison, JC. «CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein». *Science* 1990; 249: 1431-3.
16. Taga, T. and T. Kishimoto. «Cytokine receptors and signal transduction». *FASEB Journal* 7: 3387-3396, 1993.
17. Laxminarayana, D.; Berrada, A.; Kammer, GM: «Early events of human T lymphocyte activation are associated with type Y protein kinase A activity». *J. Clin. Invest.* 92: 2207-2214, 1993.
18. Berry, N.; Niahizuka, Y: «Protein kinase C and T cell activation». *Eur. J. Biochem.* 189: 205-214, 1990.
19. Romagnani, S. «Induction of T responses: A key role for the natural immune response?». *Immunol. Today* 1992; 13: 379-381.
20. Abbas, AK.; Lichtman, AH.; Pober, JS. «Antigen presentation and T cell antigen recognition». In: Wonsiewicz, MJ. (ed.) *Cellular and molecular immunology*. Philadelphia, WB Saunders, 1991; 115-37.
21. Mosmann, Tr.; Coffman, RL. «TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties». *Annu. Rev. Immunol.* 1989; 7: 145-73.
22. Abehsira-Amar, O.; Gilbert, M.; Jolij, M.; Theze, J.; Jankovic, DL. «IL-4 plays a dominant role in the differential development of Th0 into Th1 and Th2 cells». *J. Immunol* 1992; 148: 3820-9.
23. Walker, M.E.; Szmunes, W.; Stevens, C.E.; Rubinstein, P. «Genetics of anti HbsAg responsiveness: I HLA DR7 and nonresponsiveness to hepatitis vaccination (abstract) transfusion. 21: 601, 1981.
24. Craven, D.E.; Kunches, L.M.; Dienstag, J.L.; Werner, B.G. *et al.* «Non-responsiveness to Hepatitis B vaccine in health care workers; results of revaccinations and genetic typings». *Ann. Int. Med.* 105: 356, 1986.
25. Milich, D.R.; Chisari, F.V. «Genetic regulation of the immune response to the Hepatitis B surface antigen (HbsAg); Y. H-2 restriction of the murine humoral immune response to the a and b determinants of HbsAg». *J. Immunol.* 129: 320-325, 1982.
26. Milich, D.R.; Mclachlan, A.; Moriarty, A.; Thornton, G.B. «A single 10-residue pre S (1) peptide can prime T cell for antibody production to multiple epitopes within the pre S (1), pre S (2) and S regions of the HBsAg». *J. Immunol.* 138: 4457, 1987.
27. Alper, C. A.; Kruskall, M. S.; Marcus-Bagle, D.; Craven, D. E. *et al.* «Genetic prediction of nonresponse to hepatitis B vaccine». *N. Eng. J. Med.* 321: 708-712, 1989.
28. Egea, E.; Iglesias, A.; Salazar, M.; Morimoto, C.; Kruskall, M.S. *et al.* «The cellular basis for lack of antibody response to hepatitis B. Vaccine in Human». *J. Exp. Med.* 173: 531-538, 1991.
29. Usonis, V.; Kuhn, P.; Rede, H.D.; Doerr, H.W. «Humoral immune responses after hepatitis B vaccination: kinetics of anti HbsAg antibodies and demonstration of HLA antigens». *Zentra (b). Bacteriol. Microbiol. Hyg. (a).* 262 (3): 377-384, 1986.
30. Deulofeut, H.; Iglesias, A.; Mikael, N.; Bing, D.H.; Awdeh, Z. *et al.* «Cellular Recognition and HLA Restriction of a Midsequence HbsAg peptide in Hepatitis B Vaccinated Individuals». *Mol. Immunol.* 30, 10: 941-948, 1993.
31. Cohen, I.R. «Regulation of autoimmune disease: physiology and therapeutics». *Immunol. Rev.* 94: 5-21, 1986.
32. Benacerraf, B. and Germain, R.N. «The immune response genes of the Major Histocompatibility Complex». *Immunol. Rev.* 38: 70-119, 1978.
33. Shevach, E.M. and Rosental, A.S. «Functions of macrophages in antigen recognition by guinea pig lymphocytes II Role of the macrophage in the regulation of genetic control of the immune response». *J. Exp. Med.* 138: 1213-1229, 1973.
34. Webb, Morris C. and Sprent, J. «xtrathymic tolerance of mature T cells: Clonal elimination as consequence of immunity». *Cell* 63: 1249-1256, 1990.
35. Blackman, M.; Kapler, J. and Marrack, P. «The role of T cell Receptor in positive and negative selection of developing T cells». *Science* 248: 1335-1341, 1990.
36. Schaeffer, E.B.; Sette, A.; Johnson, D.L.; Bekoff, M.C.; Smith J.A. *et al.* «Relative contribution of determinant selection and holes in the T cell repertoire to T cell responses». *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 86: 4649-4653, 1989.
37. Schwartz, R.H. «Acquisition of immunology self tolerance». *Cell* 57: 1073-1081, 1989.
38. Babbitt, B.P.; Allen, P.M.; Matsueda, G.; Harber, E.; and Unanue, E.R. «Binding of Immunogenetic peptides to Ia histocompatibility molecules». *Nature* 317: 359-361, 1985.
39. Macelligott; D.L.; Sorger, S.B.; Matis, L.A. and Hedrick, S.M. «Two distinct mechanisms account for the immune response (I_r) gene control of the T cell response to pigeon cytochrome c.». *J. Immunol.* 140: 4123-4131, 1988.
40. Romagnani, S. «Induction of TH1 and TH2 responses: a key role for the natural immune response?». *Immunol. Today.* 13: 379-381.
41. Feeman, G.J.; Gribben, J.G.; Boussiotis, V.A.; Ng J.M. *et al.* «Cloning of B27-2: a CTLA-4 counter receptor that costimulates human T cell proliferation». *Science* 262: 909-911, 1993.
42. Salazar, M.; Deulofeut, H.; Granja, C.; Deulofeut, R.; Yunis, D.E. *et al.* «Normal HbsAg presentation and T cell defect in the immune response of nonresponders». *Immunogenetics.* 2813, 1995.
43. Richardson, J.H.; Edwardas, A.J.; Cruickshank, J.K.; Rudge, P.; Dagleish, A.G. «In vivo cellular tropism of human T-cell leukemia virus type 1». *J. Virol* 1990; 64: 5682-7.
44. Usuku, K.; Sonoda, S.; Osame, M. *et al.* «HLA haplotype-linked high immune responsiveness against HTLV-I in HTLV-I associated myelopathy: comparison with adult T-cell leukemia/lymphoma». *Ann. Neurol.* 1988; 23: Suppl: S143-S150.
45. Myyatake, S.; Seiki, M.; Malefijt, R.D. *et al.* «Activation of T cell-derived lymphokine genes in T cells and fibroblasts: effects of human T cell leukemia virus type Y p40* protein and bovine papilloma virus encoded E2 protein». *Nucleic Acids Res* 1988; 16: 6547-66.
46. Via, C.S.; Tsokos, G.C.; Bermas, B.; Clerci, M.; Shearer, G.M. «T cell-antigen-presenting cell interactions in human systemic lupus erythematosus: evidence for heterogeneous expressions of multiple defects». *J. Immunol.* 151: 3914-3922,

1993.

47. Cohen, PL: «T- and B-cell abnormalities in systemic lupus». J. Invest. Dermatol. 100 (suppl): 69S-72S, 1993.

48. Ramachandra, M.; Olorenshaw, Y.; Kammer, GM: «Aberrant enzyme kinetics of the type Y isozyme of protein

kinase A (PKA-I) in T lymphocytes from subjects with systemic lupus erythematosus». (abstract). J. Invest. Med. 43: 356^a, 1995.

49. Linman, DM.; Steinberg, AD: «Inquiry into murine and humane lupus». Immunol. Rev. 144: 157-193, 1995.