

# Células dendríticas, respuesta inmunitaria y señales de peligro

Dr. José Corado\*

Invitado de Cortesía

## RESUMEN

*Las células dendríticas, representan una familia heterogénea de células muy móviles y de forma irregular. Poseen gran plasticidad ontogénica y funcional, por lo que se observan diferencias en su origen ontogénico, fenotipo, localización y función. Es una célula presentadora de antígeno con propiedad para activar o tolerizar a los linfocitos T. Estos conocimientos han puesto en evidencia, las debilidades de la teoría de selección clonal, y apuntalado otras como la teoría del peligro. Por tal motivo, el dogma central de la inmunología: la discriminación de “lo propio” de “lo extraño”, ha sido sustituido por la idea según la cual el sistema inmunitario responde a “señales de alarma o peligro” independientemente del origen del antígeno. Las células dendríticas captan estas señales de peligro o alarma y en función de su maduración, características fenotípicas, y de su localización se comportará como una célula inmunogénica o tolerogénica. Para ello expresa moléculas, que le permiten adecuar su respuesta en función del tipo de señal que recibe: si la misma es de “peligro” o “alarma” la respuesta será de resistencia. Si la señal no es de “peligro” la respuesta será de tolerancia.*

*Reportes de nuestro grupo de trabajo, y de otros grupos, demuestran que, incluso durante el período neonatal, normalmente concebido como un período crítico para la tolerancia inmunitaria, las células dendríticas pueden ser inmunogénicas. Esto ha permitido el desarrollo de ensayos clínicos en enfermedades como las autoinmunitarias, infecciosas, alérgicas y tumorales, con el objeto de prevenirlas o tratarlas, o de establecer nuevos esquemas de vacunación desde etapas muy tempranas de la vida.*

\*Unidad de Investigaciones en Inmunología (UNIVENIN)  
Dpto. de Ciencias Fisiológicas  
Facultad de Ciencias de la Salud  
Universidad de Carabobo  
Valencia. Venezuela

## INTRODUCCIÓN

Las células dendríticas (CD) fueron descubiertas hace aproximadamente 32 años por Steinman y col. (1). En realidad, representan una familia heterogénea de células muy móviles y de forma irregular. Figura 1. Más recientemente, se ha demostrado que estas células poseen gran plasticidad tanto desde el punto de vista ontogénico como funcional, como lo demuestran las diferencias observadas en su origen, en sus características fenotípicas, localización topográfica y en la regulación de la respuesta inmunitaria (2). Estas células pueden originarse de diferentes precursores además de que diferentes tipos funcionales de CD pueden obtenerse de un mismo precursor, lo que determina que sus diferentes subpoblaciones se encuentren en la sangre, órganos linfoides secundarios (3) y en los sitios que son puerta de entrada de patógenos (piel y mucosas) (4). Inicialmente se demostró que es una célula



Figura 1. Morfología de células dendríticas aisladas, purificadas y mantenidas en cultivo (30X).

presentadora de antígeno con habilidad para activar a los linfocitos T vírgenes (5,6). Sin embargo, esta noción se amplió, puesto que se demostró que las CD, dependiendo de su origen, pueden activar o tolerizar a los linfocitos T (7). Esta plasticidad funcional ha permitido, entre los inmunólogos y otros investigadores, la generación de dos puntos de vista aparentemente contradictorios en cuanto al papel inmunorregulador de estas células: unos piensan que cada tipo de célula dendrítica tiene un papel inmunorregulador que le es particular, en tanto que otros sugieren que lo importante es que la presentación del antígeno depende de la activación y maduración de la CD, independientemente de su origen o subtipo. Cualquiera que sea el caso, es evidente que los nuevos conocimientos sobre el papel de estas células en la respuesta inmunitaria innata y adaptativa han revolucionado nuestra visión sobre el sistema inmunitario y su fisiología a tal punto que, han puesto en evidencia, las debilidades de teorías tan aceptadas universalmente como la de la selección clonal (8) y apuntado el surgimiento de otras, como la teoría del peligro (9), según la cual el sistema inmunitario responde más bien a “señales de alarma o peligro” independientemente si el antígeno es exógeno o endógeno (propio o extraño).

### Origen, características fenotípicas y maduración de las células dendríticas

Las CD se originan a partir de un precursor hematopoyético, CD34+, que da lugar a dos poblaciones de células progenitoras, la población de tipo mielóide localizada en la médula ósea, cordón umbilical y sangre periférica y, la población de tipo linfóide presente en el timo (10,11). Las CD mieloides (CDM) provienen del precursor que da origen a los granulocitos y macrófagos. En dicho proceso, es esencial la participación de factores tales como GM-CSF (factor estimulador de colonias de macrófagos y granulocitos) y TNF (factor de necrosis tumoral), los cuales actúan en el desarrollo de las CD y reclutamiento (migración) de las células progenitoras (12). Los precursores mieloides, migran a través del torrente sanguíneo hacia los tejidos periféricos donde se diferencian, en presencia de TGF- $\beta$ , en células de Langerhans (CL), o en células intersticiales, en presencia de IL-4, y permanecen en forma “inmadura” hasta que un estímulo antigénico induce su migración hacia los órganos linfoides secundarios en los cuales adquieren características de células “maduras”(13-16).

Los progenitores de las CD linfoides (CDL), a diferencia de las CD mieloides, entran al timo para alojarse y desarrollarse en la médula tímica, en la unión cortico-medular, o viajan directamente, hacia los órganos linfoides secundarios y se desarrollan en CD bajo la influencia de una combinación de las siguientes citocinas: TNF, IL-1, IL-3, IL-7, SCF (factor estimulador de colonia), Flt3L (ligando de Flt3) y CD40L (ligando de CD40) (17,18).

A pesar de las diferencias observadas entre las CD de origen linfóide y mielóide, ellas comparten varias propiedades, como su morfología dendrítica, y la expresión de un conjunto de moléculas necesarias para la estimulación de los linfocitos T vírgenes, tales como: complejo principal de histocompatibilidad (CPH) clase I y II, CD80, CD86, CD54, CD58, CD11a/ CD18, CD40 (13), receptores de reconocimiento de patrones moleculares (PRR), receptores de quimiocinas, receptor para TNF (TNFR), receptores para fragmentos del complemento, y receptores para Fc de inmunoglobulinas (RFcIg) (19). Otro aspecto a destacar es que las células dendríticas, cuando salen a la periferia a colonizar los diferentes tejidos, se encuentran en un estado “inmaduro”. Ellas se activan y maduran bajo ciertas condiciones, como el encuentro con un patógeno o muerte celular masiva (estados de alarma) así como la interacción CD40/CD40L y la presencia de citocinas proinflamatorias (20) Figura 2. La consecuencia inmediata es la

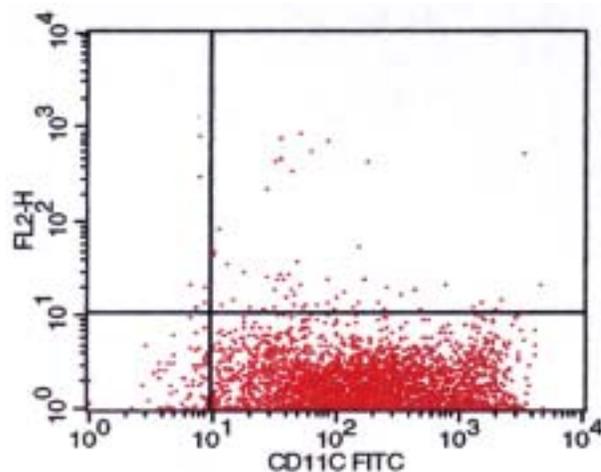


Figura 2. Distribución de células dendríticas aisladas y purificadas provenientes de ratones BALB/c sanos. Expresión de CD11c detectado con anticuerpos monoclonales conjugados con ficoeritrina (PE) muestra 97 % de pureza de estas células.

migración, bajo el control de quimiocinas y moléculas de adhesión, hacia los órganos linfoides secundarios más cercanos. Las células “inmaduras” se diferencian de las “maduras”, por sus características fenotípicas. Por ejemplo, las inmaduras expresan altos niveles de CD32, PRRs, en particular receptores tipo lectina (CLR), y receptores de quimiocinas (CCR1-6) y bajos niveles de CD40, CD54, CD80/86 y moléculas de clase I y II del sistema HLA. Por el contrario, las maduras, se caracterizan por expresar, en baja intensidad, CD32, PRRs y, en alta intensidad, CD80/86, CD54, CD40, moléculas de clase I y II del HLA y receptores de quimiocinas como CCR7 y CXCR4 (21,22) Cuadro 1. Estos cambios fenotípicos permiten a las CD modificar, radicalmente, sus propiedades funcionales (23).

**Propiedades funcionales de las células dendríticas**

Las funciones de las células dendríticas son numerosas y dependen del tipo y estado de maduración de la célula, de su localización o microambiente que las rodea (24). Su papel fundamental lo cumple en la inducción y polarización, hacia Th1 o TH2, de la respuesta inmunitaria específica y en la inducción de tolerancia inmunitaria central, mediante la educación y selección tímica de los linfocitos T, y periférica (2,24,25). Desde el punto de vista funcional, se describen dos tipos de CDs que parecen corresponder con el origen mieloide o linfoide ya mencionado. A pesar de que existen controversias como las citadas en la introducción de este capítulo, las CDs mieloides, se reconocen como inmunógenas y las linfoides como tolerógenas (23,25). Para ejercer estas funciones, las células dendríticas, deben activarse, madurar y migrar hacia los órganos linfoides más cercanos (26,27).

Captura del antígeno y migración: las CD detectan señales de peligro o alarma (microorganismos patógenos, células infectadas, células muertas o sus productos), para ingerirlos por dos mecanismos:

fagocitosis y macropinocitosis (28-30). Para ello utilizan a los receptores Fc de las inmunoglobulinas (RFcIg), receptores del complemento (CD35, CD11b, CD11c) y PRR, como TLR y receptores tipo lectinas (CLR) (19,31-34). Después de capturar el antígeno, la célula dendrítica lo procesa y, dependiendo del microambiente de citocinas donde se encuentra, madura y se moviliza hacia el ganglio linfático más cercano (26-27). Esa migración comporta, en primer lugar, la movilización de la CD desde los sitios donde se origina hasta los tejidos donde permanecerá como célula inmadura (35). Aquí recibirá diversos estímulos que inducirán su activación y nueva migración hacia los órganos linfoides secundarios donde presentarán el antígeno al linfocito T (35,36). La migración y reclutamiento de las CD están reguladas por un conjunto de mediadores, citocinas y quimiocinas, que establecen un balance finamente regulado, donde un grupo de ello(a)s actúa sobre las CD inmaduras y otro grupo actúa sobre las CD maduras (37-39). Para que la migración se lleve cabo la CD expresa, una serie de receptores de quimiocinas o receptores de citocinas cuya expresión varía en función del estado de maduración de la célula (40). Esto significa que la expresión coordinada de estos receptores juega un papel crítico en la migración de las CD en las diferentes etapas de maduración. Sin embargo, es conveniente resaltar los reportes recientes en cuanto a un flujo o migración basal de células dendríticas inmaduras hacia los órganos linfoides en presencia de gradientes de quimiocinas como MIP-3β y SLC (41).

La migración ha sido bien caracterizada tanto en CD maduras como inmaduras, humanas y murinas adultas. El evento mejor caracterizado es la migración de las CD mieloides desde los tejidos periféricos, sobre todo desde la piel, hasta los órganos linfoides secundarios (15). En los tejidos periféricos, las CD inmaduras se encuentran ejerciendo función de centinelas y expresan CCR1, CCR2, CCR5, CCR6

Cuadro 1

Comparación fenotípica de las células dendríticas

	CD54	CD32	DC SIGN	CD80/86	CD40	HLA	CD1	CCR	CXCR	PRI
Inmaduras	+	++++	++++	+	+	+	++	1-6	1	+++
Maduras	+++	+	--	++++	++++	++++	++++	7	4	++

y CXCR1 (35,38-39). Estímulos como el lipopolisacárido bacteriano, IL-1, TNF y CD40L, inducen un cambio fenotípico y la maduración de la CD. Los cambios fenotípicos se caracterizan por una disminución de la expresión de CCR1, CCR2, CCR5, CCR6 y CXCR1 y un aumento de la expresión de CCR7, CCR4, CXCR4 y una serie de moléculas coestimuladoras y de adhesión-citadas anteriormente- que le permitirán a la CD migrar y presentar convenientemente el antígeno a los linfocitos T vírgenes (42,43). La secreción de las diferentes quimiocinas que se unen a estos receptores - RANTES, MIP1 $\alpha$  y MCP3 para CCR1; MCP-1,2,3,4,5 para CCR2; MIP1 $\alpha$ , TARC, RANTES y MCP1 y 3 para CCR4; MIP1 $\alpha$  y  $\beta$ , RANTES y MCP2 para CCR5; MIP3 $\alpha$  para CCR6; IL-8 para CXCR1; MIP3 $\beta$  y SLC para CCR7; RANTES y MCP1 y 3 para CCR4 y SDF1 para CXCR4, ocurre preferencialmente en los sitios donde predominan las CD inmaduras y maduras respectivamente, es decir, en los tejidos periféricos o en los órganos linfoides secundarios (38). Algunas de estas quimiocinas, por ejemplo SLC, son secretadas por la misma CD, de tal manera que, por un mecanismo autocrino, estas células son capaces de regular su migración (40). Además, es conveniente resaltar los reportes recientes en cuanto a un flujo o migración basal de células dendríticas inmaduras hacia los órganos linfoides en presencia de gradientes de quimiocinas como MIP-3 $\beta$  y SLC (26-27). Este conjunto de evidencias reafirma el hecho de que el microambiente de citocinas y quimiocinas y el estado de maduración de las CD influye de manera fundamental en las 3 principales propiedades de esta célula: La captura y procesamiento antigénico, la migración y reclutamiento hacia los órganos linfoides secundarios y la presentación antigénica a los linfocitos T vírgenes (24,44).

Presentación del antígeno y polarización de la respuesta inmunitaria: la presentación antigénica ocurre cuando un fragmento del antígeno (peptídico) asociado con moléculas de clase II del HLA en la membrana de la CD se pone en contacto con el linfocito T (CD4) virgen a través de su receptor para el antígeno (TCR) (45,46). No existe otra célula en el organismo, que cumpla la función de presentación del antígeno de manera más eficaz que la célula dendrítica. Ellas son 100-300 veces más eficientes que cualquier otra célula presentadora de antígeno (47,48). Esta capacidad de las CD mieloides para activar a los linfocitos T, *in vivo*, ha sido directamente

demostrada en experimentos de transferencia celular en ratones. Así, la reinyección en la almohadilla plantar o por vía intravenosa, de CD estimuladas, *in vitro*, con antígenos proteicos, induce respuestas de linfocitos T específicas, del antígeno (45,49).

Este conjunto de evidencias ha permitido plantear el uso de las CD en la inmunización de pacientes con antígenos clínicamente relevantes para así inducir inmunidad protectora frente a organismos patógenos y tumores (50-52).

Por otro lado, se sabe que la célula dendrítica es capaz de interactuar y de presentar antígenos de manera directa a los linfocitos TCD8 (53), células NK y NKT a través de otras moléculas del sistema HLA denominadas CD1 (CD1 a,b,c,d,e). Los antígenos presentados, en estos casos, son de naturaleza lipídica o glucolipídica (54,55).

En contraste, las CD de origen linfoide se localizan en el timo o en las áreas ricas de linfocitos T de los órganos linfoides secundarios y juegan un papel crucial en la inducción de tolerancia central, participando en la selección negativa, tímica, de los linfocitos T autorreactivos. En los órganos linfoides secundarios reciben el nombre de CD interdigitantes (CDI) y están envueltas en la inducción o mantenimiento de la tolerancia extratímica (periférica) contra antígenos propios o extraños (56).

En cuanto a la polarización de la respuesta inmunitaria inducida por estas células, se demostró plenamente que ellas son capaces de dirigir la diferenciación de linfocitos T en TH1 o TH2 dependiendo del tipo de citocina que ellas mismas producen (57). En efecto, si produce IL12 la respuesta será de tipo TH1 (58). Este tipo de respuesta es básicamente dirigida por células dendríticas de la estirpe mieloide. Por el contrario, si es una célula dendrítica linfoide en un ambiente donde predomina la presencia de IL3, TNF $\alpha$ , TGF $\beta$ , PGE2 y enlace de la molécula Fas, la respuesta inmunitaria será de tipo TH2 (59). Por otro lado, evidencias experimentales demuestran que, en realidad, existe un control recíproco entre la célula dendrítica y el linfocito T, y entre los diferentes tipos de células dendríticas implicadas en el contacto con patógenos o señales de alarma en el cual las citocinas producidas por cada una se encarga de asegurar la correcta orientación de la respuesta inmunitaria (60). Así, por ejemplo, el IFN $\alpha$  promueve una respuesta TH2 por inhibición de la producción de IL12, en cambio, IL4 induce apoptosis de las células dendríticas linfoides favoreciendo la

diferenciación de células dendríticas mieloides y una repuesta TH1 (61). Además, otros factores como el tipo de patógeno, el tipo de molécula coestimuladora comprometida, factores microambientales específicos de tejidos que determinan la producción particular de ciertas citocinas y la relación cuantitativa célula dendrítica/célula T influyen de manera determinante en el tipo de respuesta inmunitaria que se desarrolla (62)

### **Papel de las células dendríticas en la tolerancia inmunitaria**

La tolerancia inmunitaria es uno de los fenómenos fisiológicos más controversiales y desconocidos de la inmunología. La ruptura o alteración del mismo determina la aparición de enfermedades tan frecuentes y letales como las autoinmunitarias. No obstante, se sabe, hoy día, que es un fenómeno activo donde las células dendríticas tienen un rol fundamental. Ese papel lo juegan tanto en la tolerancia central como en la periférica (23).

**Tolerancia central:** desde 1989, Matzinger y su grupo de trabajo (63) sugiere que las células presentadoras de antígenos son importantes en la inducción de tolerancia inmunitaria central. Posteriormente, se demostró que la delección de timocitos específicos para antígenos presentados por las células dendríticas, es un mecanismo básico de generación de tolerancia central, en la cual antígenos, propios o extraños, presentados por estas células a los timocitos inmaduros promueve la eliminación o delección de los mismos (64-66).

**Tolerancia periférica:** debido a que muchos timocitos pueden escapar a los mecanismos de eliminación central y al hecho de que, en el timo, no se pueden presentar todos los autoantígenos posibles de un individuo, existen mecanismos de tolerancia que se ponen en juego en los tejidos periféricos (tolerancia periférica) (67,68). Las células dendríticas participan de manera fundamental en la generación de dichos mecanismos permitiendo la delección clonal de linfocitos T autorreactivos, favoreciendo desarrollo de linfocitos T supresores o inhibiendo, directa o indirectamente, a través de citocinas, la actividad de linfocitos T potencialmente autorreactivos (69-71). Para ello expresan, en su membrana, y de manera variable según el estado de maduración o tipo de célula dendrítica, dos tipos de receptores de reconocimiento de patrones moleculares o PRRs (25): los receptores tipo lectina (CLR) (72) y los receptores de señalización (TLR o

*toll-like receptors*) (34,73). Así, por ejemplo, las células dendríticas mieloides expresan TLR2, 4 y 6 y las linfoides TLR7 y 9 lo que les permite responder frente a diferentes antígenos (74-76). Los CLR reconocen residuos de carbohidratos, tanto en autoantígenos como en antígenos extraños (72,77) y los TLR reconocen antígenos lipídicos, glucolipídicos o lipoproteicos presentes en patógenos o producidos durante el daño o muerte celular (señales de peligro) (34,78). En estado de equilibrio, es decir en ausencia de señales de alarma o peligro, se produce tolerancia periférica con delección o supresión de los linfocitos reactivos por intermediación de los CLR presentes en células dendríticas inmaduras (23,79). En sentido inverso, el reconocimiento por parte de los TLR induce una poderosa respuesta inmunitaria (31,33). Si bien, los CLR predominan en células inmaduras, no es menos cierto que estos receptores residen en la membrana de las células dendríticas junto a los TLR. Esto plantea un problema mayor ya que se supone que los dos tipos de receptores pueden unirse a los mismos antígenos y, sin embargo, unos inducen tolerancia y otros respuesta de defensa. Por ello se ha planteado que, en estos casos de interacción de los dos tipos de receptores, la señalización intracelular inducida por los TLR sobrepasa las propiedades tolerogénicas de los CLR (80). Incluso, se ha propuesto un modelo según el cual estos dos tipos de receptores “se comunican” o “interactúan” de tal manera que se produce un fino equilibrio entre tolerancia y activación inmunitaria (25,81-83). Es importante destacar que estos primeros reportes sugiriendo una comunicación o interacción entre estos dos tipos de receptores involucran, de manera importante, a DC-SIGN (receptor, también, para el VIH), receptor tipo CLR implicado en un desbalance de la respuesta TH1/TH2, que permite la persistencia, y en consecuencia infecciones crónicas, de patógenos como el *Mycobacterium tuberculosis* que, al interactuar con este receptor, inhibe la maduración de la célula dendrítica e induce la producción de citocinas inmunosupresoras como IL10. Esto significa que algunos patógenos utilizan a los CLR para evadir la respuesta inmunitaria.

### **Teoría de la selección clonal vs teoría del peligro**

En la década de los años 50, Burnet Macfarlane propuso que, durante el desarrollo embriológico o en etapas tempranas de la vida, el sistema

inmunológico está bajo un período crítico de educación en el cual se “aprende” a tolerar los tejidos propios del cuerpo, o aquellos antígenos con los que se ponen en contacto en ese período (8).

El soporte experimental de estas ideas fue aportado por Peter Medawar quien demostró que los ratones adultos rechazan tejido trasplantado de animales inmunológicamente extraños. Por el contrario, ratones recién nacidos y fetos pueden hacerse tolerantes frente a células extrañas y no las rechazan si se encuentran con ellas en esos períodos de la vida (84). Burnet y Medawar explicaron esta tolerancia neonatal como una etapa importante, durante la cual el sistema inmunitario del recién nacido, aprende a aceptar el tejido extraño como propio, de la misma manera como ellos aceptan los antígenos de su propio cuerpo (8). De estos trabajos surge la teoría de la selección clonal, según la cual se selecciona un clon específico de células T o B, portadoras en su superficie de receptores específicos (TCR) para un antígeno (8). Esta selección será para eliminarlos si el encuentro ocurre durante las etapas neonatales de la vida o, por el contrario para que se activen si ocurre en otros períodos de la vida. En el primer caso el individuo será tolerante frente a ese antígeno y en el segundo caso desarrollará una poderosa respuesta inmunitaria frente al mismo antígeno. Dos décadas después, Lu y col. (85) sugieren que la limitada respuesta inmunitaria de los neonatos, es consecuencia del reducido número o función de las células accesorias.

A finales de la década de los ochenta, Charles Janeway (86), sugiere que las células de la inmunidad innata, en particular las células dendríticas son también capaces de discriminar entre los autoantígenos y los antígenos extraños a través de receptores (PRRs) que reconocen patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPS). Estos patrones moleculares no están presentes en los autoantígenos. El hecho más importante a destacar, de esta nueva propuesta, radica en que las células presentadoras de antígenos no podrían estimular a los linfocitos T a menos que reciban señales de esos patrones moleculares. Además, se demuestra que existen dos tipos de receptores de reconocimiento: los de las células de la inmunidad innata y los de la inmunidad adaptativa así como dos tipos de antígenos: los infecciosos extraños y los no infecciosos propios (86).

En la década de los años 90, Poly Matzinger expresa que: “por muchos años los inmunólogos han

conceptualizado (en acuerdo con la teoría de la selección clonal) que el principal objetivo del sistema inmunitario es discriminar entre lo propio y lo extraño y que ya era el momento de cambiar dicho dogma por la idea de que ese sistema no realiza tal discriminación sino que su principal objetivo es detectar y proteger al individuo del “peligro” y que para realizar esto, no trabaja solo sino en estrecha comunicación con el resto de los tejidos del organismo. Nace así la teoría del peligro (9,87).

Diferentes grupos de trabajo encabezados por la misma Poly Matzinger (88), Sarzotti y col. (89) y Lehmann y col. (90) reportaron resultados que refutan, al menos en parte, algunos postulados de la teoría de la selección clonal. En sus experimentos muestran que los ratones recién nacidos son capaces de desarrollar una respuesta inmunitaria específica en presencia de aloantígenos, virus, así como antígenos proteicos.

El grupo de Sarzotti, utilizando diferentes concentraciones del virus de leucemia murina (VLM) al cual, ordinariamente, los ratones neonatos son tolerantes muestra que los mismos son capaces de desarrollar una respuesta inmunitaria similar a la de los ratones adultos cuando la dosis del virus es pequeña (89). Por otro lado, Lehmann y col., muestran que ratones neonatos son capaces de desarrollar una respuesta inmunitaria Th1 o Th2 contra antígenos proteicos (90). En los experimentos de Matzinger, por ejemplo, se observó que una camada de ratones recién nacidos, producen una respuesta citotóxica frente a antígenos extraños (aloantígenos) (88). Esta respuesta depende de la presencia y número de CD.

Matzinger y col., argumentan que el sistema inmunitario puede aprender a tolerar antígenos a cualquier edad, y que no hay períodos críticos para aprender a distinguir antígenos propios de antígenos extraños. En consecuencia, se propuso que el sistema inmunitario, a través de la participación fundamental de las CD, entra en acción sólo cuando un antígeno está asociado con una señal de peligro (teoría del peligro) (9,87). En este sentido las células linfoides se activan a través de tres señales. La primera señal es proporcionada por la interacción TCR/CPH-péptido antigénico; la segunda señal, no específica, coestimuladora, proporcionada por las CD, es mediada por la unión de CD28 a B7 CD80 – CD86.

Matzinger sugiere que la segunda señal se produce, solamente, cuando las CD han sido activadas por una señal de alarma, asociada probablemente

con proteínas de choque térmico (Hsp), producidas por células que han estado bajo estrés, lisis, necrosis o que han sido dañadas por un agente patógeno.

Investigaciones realizadas, por nuestro grupo de trabajo, en colaboración con el grupo de trabajo dirigido por el profesor Félix Tapia, del laboratorio de biología molecular del Instituto de Biomedicina muestran que la transferencia adoptiva de células dendríticas de adultos sanos o sensibilizados con *Leishmania mexicana*, puras en un 97 % (Figura 2), en ratones BALB/c neonatos, disminuye el tamaño y retarda la aparición del granuloma inducido por el parásito, lo que se interpreta como un incremento de la respuesta inmunitaria anti-*Leishmania* (91) (Figura 3 y Figura 4). El efecto se caracteriza por un aumento de la respuesta inmunitaria y depende del número y la naturaleza de las CD transferidas. Las CD neonatales provenientes de ratones sanos incrementaron la respuesta anti-*Leishmania* (Figura 5), mientras que las CD neonatales, sensibilizadas previamente con el antígeno, no modificaron dicha respuesta (Figura 6). Esto sugiere, en contraste, al menos parcial, de lo que propone Matzinger, que las

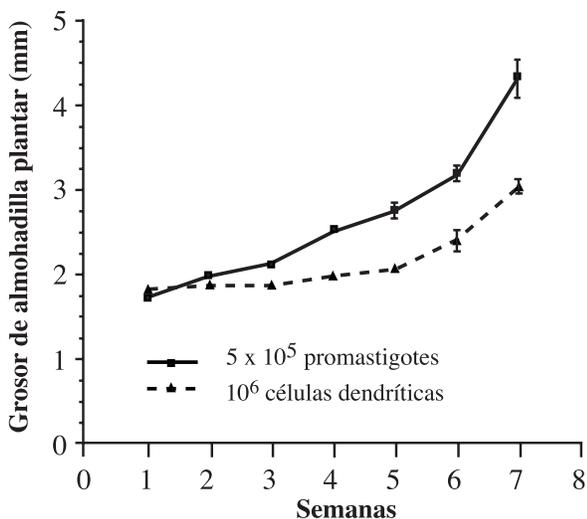


Figura 3. Cinética de la infección por *L. (L) mexicana*, en ratones neonatos BALB/c receptores de células dendríticas provenientes de ratones adultos sanos (—). Representa el control positivo (n = 5) de infección con *Leishmania* y (...••••) representa el grupo experimental (n = 5) al cual se transfirió, vía intraperitoneal (ip), células dendríticas, provenientes de ratones adultos sanos, 16 horas antes de la infección con promastigotes (P < 0,05 a partir de la tercera semana).

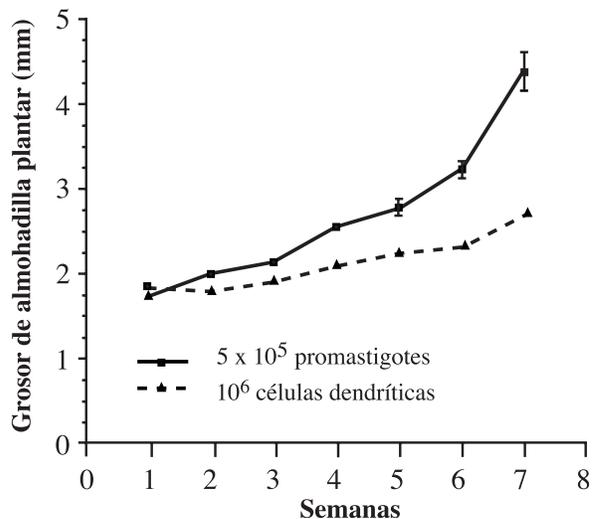


Figura 4. Cinética de la infección por *L. (L) mexicana* en ratones neonatos BALB/c receptores de células dendríticas provenientes de adultos sensibilizados con *L. (L) mexicana*. (—) Representa el control positivo (n = 5) de infección con *Leishmania* y (...••••) representa el grupo experimental (n = 5) al cual se transfirió, vía intraperitoneal (ip), células dendríticas provenientes de ratones adultos sensibilizados en etapa adulta, 16 horas antes de la infección con promastigotes (P < 0,05 a partir de la tercera semana)

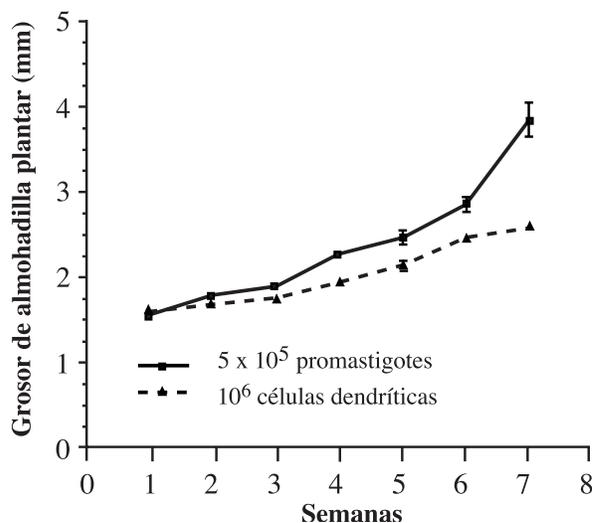


Figura 5. Cinética de la infección por *L. (L) mexicana* en ratones neonatos BALB/c receptores de células dendríticas provenientes de neonatos sanos. (—) Representa el control positivo (n = 5) de infección con *Leishmania* y (...••••) representa el grupo experimental (n = 5) al cual se transfirió, vía intraperitoneal (ip), células dendríticas provenientes de neonatos sanos, 16 horas antes de la infección con promastigotes (P < 0,05 a partir de la cuarta semana).

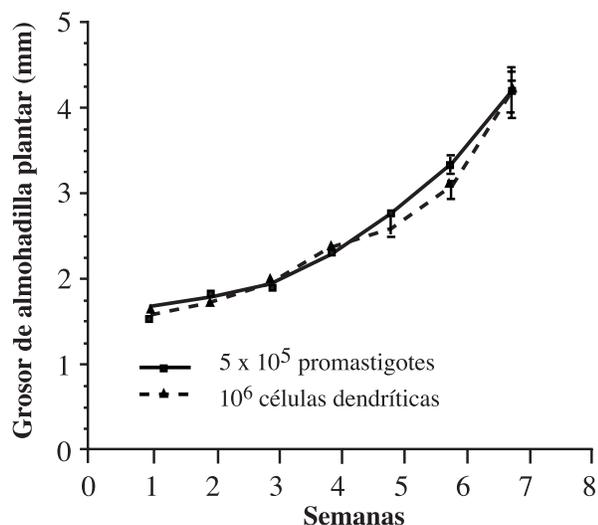


Figura. 6. Cinética de la infección por *L. (L) mexicana* en ratones neonatos BALB/c receptores de células dendríticas de adultos sensibilizados en etapa neonatal. (—●—) Representa el control positivo (n = 5) de infección con *Leishmania* y (---●---) representa el grupo experimental (n = 5) al cual se transfirió, vía intraperitoneal (ip), células dendríticas, provenientes de ratones adultos a los cuales se sensibilizó con el parásito en período neonatal ( $\leq 24$  horas), 16 horas antes de la infección, a través de la almohadilla plantar con promastigotes ( $P > 0,05$ ).

CD neonatales se comportan de manera diferente a las de los ratones adultos ya que en este último grupo, la exposición previa al antígeno, favorece la respuesta anti-*Leishmania*. Partiendo del hecho de la estrecha relación entre fenotipo y función, se plantea, como hipótesis, que las células dendríticas neonatales tienen características fenotípicas diferentes a las adultas y que, en consecuencia, sus propiedades de migración e inducción de la respuesta de linfocitos T vírgenes, depende de factores y mediadores parcial o totalmente diferentes a los requeridos por las CD del adulto.

### Perspectivas

La explosión de trabajos recientes parecen confirmar no sólo las propuestas previas de Charles Janeway sino también las consideraciones esenciales de la teoría del peligro y del papel fundamental de las células dendríticas en el enlace entre las respuestas innata y adaptativa y en la modulación positiva y negativa de las mismas. Esto ha motivado el desarrollo de numerosas ideas en la aplicación de estos conceptos tanto en la investigación básica

como clínica. En tal sentido, numerosos son los grupos de trabajo que, actualmente, ponen en ejecución diversas estrategias de vacunación con células dendríticas en el tratamiento de enfermedades autoinmunes, tumorales y alérgicas o en transplantes de órganos (19,52). A pesar de que los resultados preliminares son prometedores queda, sin embargo, por optimizar, las dosis (número de células), vías de administración, tipo de antígenos utilizados y las técnicas de aislamiento y purificación celular.

De la misma manera se puede vislumbrar una mejor caracterización fenotípica y funcional de las células dendríticas neonatales lo que redundaría, muy probablemente, en el desarrollo de terapéuticas para prevenir o tratar patologías infecciosas o tumorales en etapas muy precoces de la vida.

### REFERENCIAS

1. Steinman RM, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution. *J Exp Med.* 1973;137:1142-1162.
2. Guermonprez P, Valladeau J, Zitvogel L, Théry C, Amigorena S. Antigen presentation and T cell stimulation by dendritic cells. *Ann Rev Immunol.* 2002;20:621-627.
3. Grabbe S, Kämpgen E, Schuler G. Dendritic Cells: Multilineal and multifunctional. *Immunol Today.* 2000;21:431-433
4. Banchereau J, Briere F, Caux C, Davoust J, Lebecque S, Liu YJ, et al. Immunobiology of dendritic cells. *Ann Rev Immunol.* 2000;18:767-811.
5. Inaba K, Granelli-Piperno A, Steinman RM. Dendritic cells are critical accessory cells for thymus dependent antibody responses in mouse and man. *Proc Natl Acad Sci.* 1983;80:6041-6045.
6. Steinman R M, Witmer M D. Lymphoid dendritic cells are potent stimulators of the primary mixed leukocyte reaction in mice. *Proc Natl Sci.* 1978;75:5132-5136.
7. Ardavin C, Wu L, Li C L, Shortman K. Thymic dendritic cells and T cells developed simultaneously in the thymus from a common precursor population. *Nature.* 1993;362:761-763.
8. Burnet FM. The clonal selection theory of acquire immunity. Vanderbilt Univ. Press, Nashville, TN. 1959.
9. Matzinger P. Tolerance danger, and the extended family. *Ann Rev Immunol.* 1994;12:991-1045.
10. Vremec D, Shortman K. Dendritic cells subtypes in

- mouse lymphoid organs. Cross-correlation of surface markers, changes with incubation, and differences among thymus, spleen and lymph node. *J Immunol.* 1997;159:565-573.
11. Vremec D, Zorbas M, Scollay R, Saunders DJ, Ardavin C F, Wu L, et al. The surface phenotype of dendritic cells purified from mouse thymus and spleen: Investigation of the CD8 expression by a subpopulation of dendritic cells. *J Exp Med.* 1992;176:47-58.
  12. Inaba K, Inaba N, Romani H, Aya H, Deguchi S, Ikehara S, et al. Generation of large numbers of dendritic cells from mouse bone marrow cultures supplemented with granulocyte/macrophage colony stimulating factor. *J Exp Med.* 1992;176:1693-1702.
  13. Vremec D, Shortman K. Dendritic cells subtypes in mouse lymphoid organs. Cross-correlation of surface markers, changes with incubation, and differences among thymus, spleen and lymph node. *J Immunol.* 1997;159:565-573.
  14. Ardavin C. Origin and differentiation of dendritic cells. *Trends Immunol.* 2001;22:691-700.
  15. Tapia FJ, Fermín Z, Corado J. Las células dendríticas de la piel: de Paul Langerhans al concepto de los inmunocitos viajeros. *Piel.* 2000;15:419-427.
  16. Diaz NL, Ponce LV, Corado J, Tapia FJ. Células de Langerhans. Los inmunocitos viajeros de la piel. *Dermatol Ven.* 1998;36:85-92.
  17. Ardavin C. Thymic dendritic cells. *J Immunol.* 1997;18:350-361.
  18. Saunders D, Lucas K, Ismaili J, Wu J, Maraskovsky E, Dunn A, et al. Dendritic cells development in culture from thymic precursor cells in the absence of granulocyte/macrophage colony-stimulating factor. *J Exp Med.* 1996;184:2185-2196.
  19. Fong L, Engleman EG. Dendritic cells in cancer immunotherapy. *Ann Rev Immunol.* 2000;18:245-273.
  20. Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature.* 1998;392:245-252.
  21. Caux C, Massacrier C, Vanbervliet B, Dubois B, Van Kooten C. Activation of human dendritic cells through CD40 cross-linking. *J Exp Med.* 1994;180:1263-1272.
  22. Mora de Orta S, Corado J. Organización anatómica del sistema inmunitario. En: Mora de Orta S, Corado J, editores. *Inmunología Actual.* Valencia, Venezuela: Alfa Editores; 2003.p.33-36.
  23. Steinman RM, Hawiger D, Nussenzweig MC. Tolerogenic dendritic cells. *Ann Rev Immunol.* 2003;21:685-711.
  24. Pulendran B, Maraskovsky E, Banchereau J, Maliszewski C. Modulating the Immune response with dendritic cells and their growth factors. *Trends Immunol.* 2001;22:41-47.
  25. Geitjensbeek TBH, van Vliet SJ, Engering A, Hart BA, van Kooyk Y. Self and Non Self Recognition by C-Type Lectins on Dendritic Cells. *Ann Rev Immunol.* 2004;22:33-54.
  26. Dieu MC, Vanbervliet B, Vicari A, Bridon JM, Oldham E, Ait-Yahia S, et al. Selective recruitment of immature and mature dendritic cells by distinct chemokines expressed in different anatomic sites. *J Exp Med.* 1998;188:373-386.
  27. Chan VW, Kothakota S, Rohan MC, Panganiban-Lustan L, Gardner JP, Wacowiicz MS, et al. Secondary lymphoid-tissue chemokine (SLC) is chemotactic for mature dendritic cells. *Blood.* 1999;93:3610-3616.
  28. Sallusto F, Cella M, Danieli C, Lanzavecchia A. Dendritic cells use macropinocytosis and the mannose receptor to concentrate macromolecules in the major histocompatibility complex class II compartment: Downregulation by cytokines and bacterial products. *J Exp Med.* 1995;182:389-400.
  29. Savill J, Fadok V. Corpse clearance defines the meaning of the cell death. *Nature.* 2000;407:784-788.
  30. Albert ML, Pearce SF, Francisco LM, Sauter B, Roy P, Silverstein RL, et al. Immature dendritic cells phagocytose apoptotic cells via alpha-v-beta5 and CD36, and cross-present antigens to cytotoxic T lymphocytes. *J Exp Med.* 1998;188:1359-1368.
  31. Underhill DM, Ozinsky A. Toll Like receptors: Key mediators of microbes detection. *Curr Op Immunol.* 2002;14:103-110.
  32. Weis WI, Taylor ME, Drickamer K. The C-Type Lectins superfamily in the immune system. *Immunol Rev.* 1998;163:19-34.
  33. Janeway CA jr, Medzhitov R. Innate immune recognition. *Ann Rev Immunol.* 2002;20:197-216.
  34. Akira S, Hemmy H. Recognition of Pathogens-associate molecular pattern by TLR family. *Immunol Lett.* 2003;85:85-95.
  35. Palucka K, Banchereau J. Dendritic cells: A link between innate and adaptative immunity. *J Clin Immunol.* 1999;19:12-25.
  36. Steinman R, Hoffman L, Pope M. Maturation and migration of cutaneous dendritic cells. *J Inv Dermatol.* 1995;105(Suppl):2-7.
  37. Dieu-Nosjean C, Vicari A, Lebecque S, Caux C. Regulation of dendritic cells trafficking: A process that involves the participation of selective chemokines. *J Leukoc Biol.* 1999;66:252-266.
  38. Dieu-Nosjean C, Vanbervliet B, Vicari A, Bridon JM,

- Oldham E, Ait-Yahia S, et al. Selective recruitment of immature and mature dendritic cells by distinct chemokines expressed in different anatomic sites. *J Exp Med.* 1998;188:373-386.
39. Sozzani S, Allavena P, D'Amico G, Luini W, Bianchoi G, Kataura M, et al. Differential regulation of chemokines receptors during dendritic cells maturation: A model for their trafficking properties. *J Immunol.* 1998;161:1083-1086.
  40. Sallusto F, Schaerli P, Loetscher P, Schaniel C, Lenig D, Mackay C, et al. Rapid and coordinated switch in chemokine receptor expression during dendritic cell maturation. *Eur J Immunol.* 1998;28:2760-2769.
  41. Huang FP, Platt N, Wykes M, Major JR, Powel TJ, Jenkins CD, et al. A discrete subpopulation of dendritic cells transports apoptotic intestinal epithelial cells to T cells areas of mesenteric lymph nodes. *J Exp Med.* 2000;191:435-444.
  42. Steinman RM, Pack M, Inaba K. Dendritic cells in the T-cell areas of lymphoid organs. *Immunol Rev.* 1997;156:25-37.
  43. Jung F, Littman DR. Chemokines receptors in lymphoid organ homeostasis. *Curr Op Immunol.* 1999;11:319-325.
  44. Grabbe S, Bruvers S, Granstein RD. Effects of immunomodulatory cytokines on the presentation of tumor-associated antigens by epidermal langerhans cells. *J Invest Dermatol.* 1992;99(Suppl):66-68.
  45. Inaba K, Metlay JP, Crowley MT, Steinman RM. Dendritic cells pulsed with protein antigen in vitro prime antigen-specific, MHC-restricted T cells in situ. *J Exp Med.* 1990;172:631-640.
  46. Mayordomo JI, Zorina T, Storkus WJ, Zitvogel L, Celluzi C, Falo LD, et al. Bone Marrow-derived dendritic cells pulsed with synthetic tumour peptides elicit protective and therapeutic antitumour immunity. *Nat Med.* 1995;1:1297-1302.
  47. Croft M, Duncan D, Swain SL. Response of naive antigen-specific CD4+ T cells in vitro: Characteristics and antigen-presenting cell requirement. *J Exp Med.* 1992;176:1431-1437.
  48. Macatonia SE, Hsich CS, Murphy KM, O'Garra A. Dendritic cells and macrophages are required for Th1 development of CD4+ T cells from ab TCR transgenic mice: IL-12 substitution for macrophages to stimulation IFN- $\gamma$  dependent. *Int Immunol.* 1993;5:1119-1128.
  49. Levin D, Constant S, Pasqualini T, Flavell R, Bottomly K. Role of dendritic cells in the priming of CD4+ T lymphocytes to peptide antigen in vivo. *J Immunol.* 1993;151:6742-6750.
  50. Lotze MT, Thomson AW. Dendritic cell therapy of cancer and HIV infection. En: Lotze MT, Thomson AW, editores. *Dendritic cells.* San Diego (California): Academic Press; 1999.p.459-486.
  51. Lu L, Khoury SJ, Sayegh MH, Thomson AW. Dendritic cell gene therapy and prospects for dendritic cell-based therapy of allograft rejection and autoimmunity. En: Lotze MT, Thomson AW, editores. *Dendritic cells.* San Diego (California): Academic Press; 1999.p.487-514.
  52. Tapia FJ, Corado J. ¿Son útiles las células dendríticas de la piel en inmunoterapia y terapia génica?. *Piel.* 2000;15:1-4.
  53. Ruedl C, Kopf M, Bachmann MF. CD8+ T cells mediate CD40-independent maturation of dendritic cells in vivo. *J Exp Med.* 1999;189:1875-1884.
  54. Matsuda JL, Kronenberg M. Presentation of self and microbial lipids by CDI molecules. *Curr Op Immunol.* 2001;13:19-25.
  55. Park SH, Weiss A, Benlagha K, Kyin T, Teyton L, Bendelac A. The mouse CD1d-restricted repertoire is dominated by a few autoreactive T cell receptor families. *J Exp Med.* 2001;193:893-904.
  56. Shortman K, Wu L. Thymic dendritic cells. En: Lotze MT, Thomson AW, editores. *Dendritic cells.* San Diego (California): Academic Press; 1999.p.15-28.
  57. Lyu YJ, Kanzler H, Soumelis V, Gilliet M. Dendritic cell lineage, plasticity and cross-regulation. *Nat Immunol.* 2001;2:585-589.
  58. Maldonado-Lopez R, De Smedt T, Michel P, Godfroid J, Pajak B, Heirman C, et al. CD8 alpha + and CD8 alpha - subclasses of dendritic cell direct the development of distinct T helper cells in vivo. *J Exp Med.* 1999;189:587-592.
  59. Kalinski P, Hilkens CM, Wierenga EA, Kapsenberg ML. T cell priming by type-1 and type-2 polarized dendritic cells: The concept of a third signal. *Immunol Today.* 1999;20:561-567.
  60. Rissoan MC, Soumelis V, Kadowaki N, Grouard G, Briere F, de Waal Malefyt R, et al. Reciprocal control of T Helper cell and dendritic cell differentiation. *Science.* 1999;283:1183-1186.
  61. Lyu YJ, Kanzler H, Soumelis V, Gilliet M. Dendritic cell lineage, plasticity and cross-regulation. *Nat Immunol.* 2001;2:585-589.
  62. d'Ostiani CF, Del Sero G, Bacci A, Montagnoli C, Spreca A, Mencacci A, et al. Dendritic cells discriminate between yeast and Hyphae of the fungus *Candida Albicans*: Implications for initiation of T Helper immunity in vitro and in vivo. *J Exp Med.* 2000;191:1661-1674.
  63. Matzinger P, Guerder S. Does T-Cell tolerance require

- a dedicated antigen-presenting cell? *Nature*. 1989;338:74-76.
64. Zal T, Volkman A, Stockinger B. Mechanisms of tolerance induction in major histocompatibility complex class-II restricted T cells specific for a blood-borne self antigen. *J Exp Med*. 1994;180:2089-2099.
  65. Volkman A, Zal T, Stockinger B. Antigen presenting cells in thymus that can negatively select MHC class II-restricted T cells recognizing a circulating self antigen. *J Immunol*. 1997;158:693-706.
  66. Brocker T, Riedinger M, Karjalainen K. Targeted expression of major histocompatibility complex (MHC) class II molecules demonstrates that dendritic cells can induce negative but not positive selection of thymocytes in vivo. *J Exp Med*. 1997;185:541-550.
  67. Rocha B, von Boehmer H. Peripheral selection of the T cell repertoire. *Science*. 1991;251:1225-1228.
  68. Jones LA, Chin T, Longo DL, Kruisbeek AM. Peripheral clonal elimination of functional T cells. *Science*. 1991;250:1726-1729.
  69. Hawiger D, Inaba K, Dorsett Y, Guo K, Mahnke K. Dendritic cells induce peripheral T cell unresponsiveness under steady state conditions in vivo. *J Exp Med*. 2001;194:769-780.
  70. Jonuleit H, Schmitt E, Schuler G, Knop J, Enk AH. Induction of interleukin 10-producing, non proliferating CD4+ T cells with regulatory properties by repetitive stimulation with allogeneic immature human dendritic cells. *J Exp Med*. 2000;192:1213-1222.
  71. Jonuleit H, Schmitt E, Steinbrink K, Enk AH. Dendritic cells as a tool to induce anergic and regulatory T cells. *Trends Immunol*. 2001;22:394-400.
  72. Figdor CG, van Kooyk Y, Adema GJ. C-Type lectin receptors on dendritic cells and Langerhans cells. *Nat Rev Immunol*. 2002;2:77-84.
  73. Thomas-Uszynski S, Stenger S, Takeuchi O, Ochoa MT, Mengele M. Induction of direct antimicrobial activity through mammalian toll-like receptors. *Science*. 2001;291:1544-1547.
  74. Jarrosay D, Napolitani G, Colonia M, Sallusto F, Lanzavecchia A. Specialization and complementarity in microbial molecule recognition by human myeloid and plasmacytoid dendritic cells. *Eur J Immunol*. 2001;31:3388-3393.
  75. Kadowaki N, Ho S, Antonenko S, Malefyt RW, Kastelein RA. Subsets of human dendritic cells precursors express different toll-like receptors and respond to different microbial antigens. *J Exp Med*. 2001;194:863-869.
  76. Lyu YJ. Dendritic cells subsets and lineages, and their function in innate and adaptative immunity. *Cell*. 2001;106:259-262.
  77. Engering A, Geijtenbeek TBH, van Vliet SJ, Wijers M, van Liemp E. The dendritic cell-specific adhesion receptor DC-SIGN internalizes antigen for presentation to T cells. *J Immunol*. 2002;168:2118-2126.
  78. Hemmi H, Takeuchi O, Hawai T, Kaisho T, Sato S. A toll-like receptors recognizes bacterial DNA. *Nature*. 2000;408:740-745.
  79. Dhodapkar MV, Steinman RM, Krasovsky J, Muñiz C, Bhardwaj N. Antigen specific inhibition of effector T cell function in humans after injection of immature dendritic cells. *J Exp Med*. 2001;193:233-238.
  80. Ichikawa HT, Williams LP, Segal BM. Activation of APCs through CD40 or toll-like receptor 9 overcomes tolerance and precipitates autoimmune disease. *J Immunol*. 2002;169:2781-2787.
  81. Kaufmann SH, Schaible UE. A dangerous liaison between two major killers: *Mycobacterium tuberculosis* and HIV target dendritic cells through DC-SIGN. *J Exp Med*. 2003;197:1-5.
  82. Geijtenbeek TBH, van Vliet SJ, Koppel EA, Sanchez-Hernandez M, Vandenbroucke-Grauls CMJE. Mycobacteria target DC-SIGN to suppress dendritic cells function. *J Exp Med*. 2003;197:7-17.
  83. Gantner BN, Simmons RM, Canavera SJ, Akira S, Underhill DM. Collaborative induction of inflammatory response by dectin-1 and toll-like receptors 2. *J Exp Med*. 2003;197:1107-1117.
  84. Billingham RE, Brent L, Medawar B. Quantitative studies of tissue transplantation immunity. *Nature*. 1956;239:44.
  85. Lu CY, Calamai EG, Unanue ER. A defect in the antigen-presenting function of macrophages from neonatal mice. *Nature*. 1979;282:327-329.
  86. Janeway C. Immunogenicity signals 1,2,3.....and 0. *Immunol Today*. 1989;10:283-286.
  87. Matzinger P. A renewed sense of self. *Science*. 2002;296:301-305.
  88. Ridge JP, Fuchs EJ, Matzinger P. Neonatal tolerance revisited: Turning on newborn T cells with dendritic cells. *Science*. 1996;271:1723-1726.
  89. Sarzotti M, Robbins DS, Hoffman PM. Induction of protective CTL responses in newborn mice by a murine retrovirus. *Science*. 1996;271:1726-1728.
  90. Forsthuber T, Yip HC, Lehmann PV. Induction of TH1 and TH2 immunity in neonatal mice. *Science*. 1996;271:1728-1730.
  91. Ponce LV, Corado J, Diaz NL, Tapia FJ. Adoptive transfert of dendritic cells modulates immunogenesis and tolerogenesis in a neonatal model of murine cutaneous leishmaniasis. *Kinetoplastid Biology and Disease*. 2005;4:2-10.