

## Contribución de la respuesta inmune del huésped al control de la infección por *Mycobacterium tuberculosis*

Virginia Pasquinelli

Laboratorio de Inmunoquímica, Departamento de Química Biológica,  
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.

Ciudad Universitaria, Pab2 P4, 1428 Buenos Aires, Argentina.

E-mail: [virpasquinelli@yahoo.com.ar](mailto:virpasquinelli@yahoo.com.ar)

Recibido el 30/06/08. Aceptado el 10/07/08.

### Resumen:

*Mycobacterium tuberculosis* es un patógeno humano altamente exitoso que puede persistir y sobrevivir en el huésped a pesar de la generación de una fuerte respuesta inmune por parte del mismo. Estudios en animales y humanos han demostrado la gran variedad de componentes del sistema inmune involucrados en una respuesta inmune efectiva contra *M. tuberculosis*. Estos componentes incluyen a las células T, citoquinas (incluyendo IFN- $\gamma$ , IL-12, TNF- $\alpha$ , IL-6), y células presentadoras de antígenos (macrófagos y células dendríticas). Asimismo, se demostró que varias proteínas de señalización (moléculas coestimuladoras, factores de transcripción), también poseen un rol clave en la regulación de la activación T contra el patógeno, y constituyen blancos terapéuticos prometedores para la modulación de la respuesta inmune del huésped. Las funciones de estos componentes (células, citoquinas, proteínas de señalización) están aún siendo definidas, pero se estima que las mismas podrían variar durante la infección aguda y la crónica. Por lo mencionado, es esencial lograr una mejor comprensión de la interacción entre este patógeno y el sistema inmune del huésped, a fin de contribuir al diseño de nuevas vacunas efectivas.

**Palabras claves:** tuberculosis, respuesta Th1, citoquinas, moléculas coestimuladoras.

## Contribution of the Immune response of the host to the control of *Mycobacterium tuberculosis* infection

### Abstract:

*Mycobacterium tuberculosis* is an extremely successful human pathogen that can persist and survive in the host in spite of the generation of a strong immune response. Studies in animals and humans have demonstrated the high variability of the components of the immune system involved in the protective immune response against *M. tuberculosis*. These components include T cells, cytokines (including IFN- $\gamma$ , IL-12, TNF- $\alpha$ , IL-6), and antigen presenting cells (macrophages and dendritic cells). Moreover, it was shown that several signaling proteins (costimulatory molecules, transcription factors), also display a critical role in the regulation of T cell activation against the pathogen, comprising potential key targets for the modulation of the immune response of the host. The functions of these

components (cells, cytoquines, signaling proteins) are still under investigation, although it is believed that they could vary during the acute and chronic infection. Therefore, it is crucial to achieve a better understanding of the interaction between this pathogen and the immune system of the host, in order to contribute to the design of new effective vaccines.

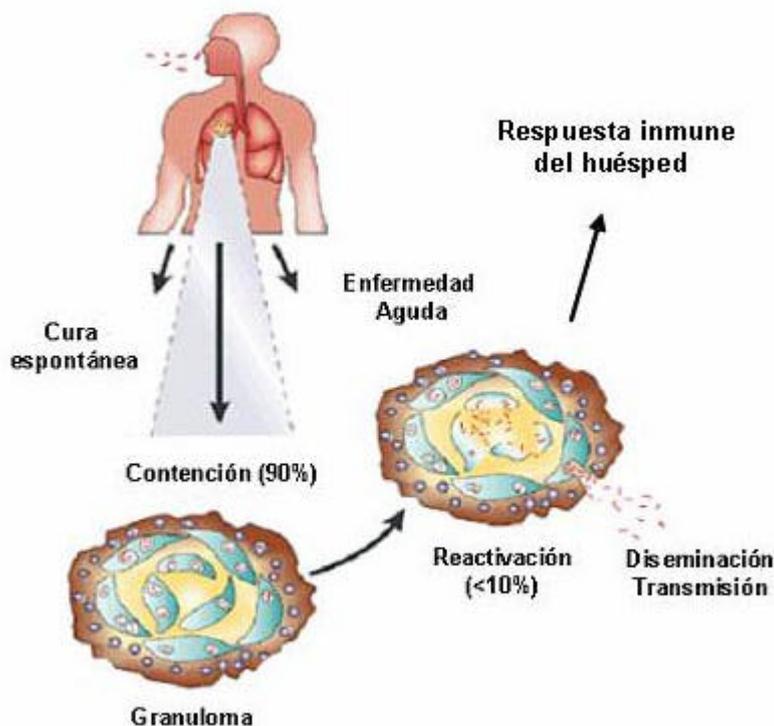
**Keywords:** tuberculosis, Th1 responses, cytokines, costimulatory molecules.

### **Introducción.**

Un tercio de la población mundial está infectada con *M. tuberculosis* (tuberculosis latente), un patógeno que causa alrededor de 10 millones de muertes por año en el mundo. En Argentina, se notificaron 11.240 nuevos casos de tuberculosis en el 2006, con casi mil muertes/año.

La única vacuna disponible, la BCG, no previene la infección por *M. tuberculosis* y confiere escasa protección frente a la tuberculosis pulmonar (1). Como consecuencia, urge el diseño de una nueva vacuna efectiva, lo cual depende claramente de la completa comprensión de la respuesta inmune del huésped frente a la infección por este patógeno (2).

Luego de la infección por *M. tuberculosis*, se establece un balance entre el huésped y el patógeno, y el tipo de respuesta inmune que se desarrolle influenciará fuertemente el curso de la enfermedad (Fig. 1) (2).



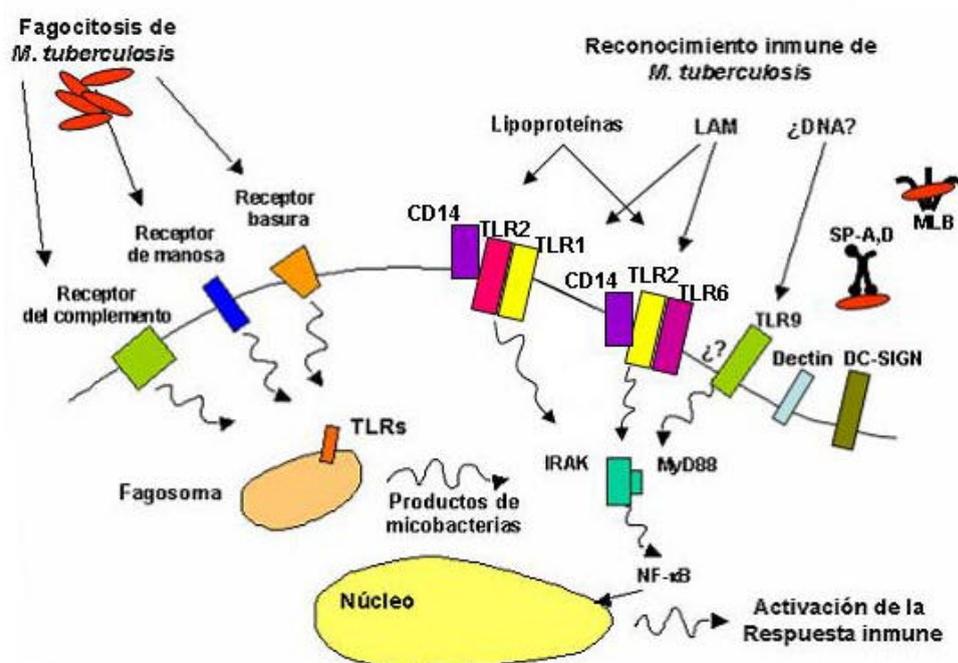
**Figura 1. Tuberculosis: de la infección a la enfermedad activa.** Existen tres etapas o resoluciones diferentes en la infección humana por *M. tuberculosis*. Aproximadamente en un 5% de los individuos inmunocompetentes, la infección progresa a la enfermedad activa en el transcurso de dos años; en otro 5%, la reactivación de la enfermedad ocurre más tarde. La razón de la progresión a la enfermedad no ha sido aún completamente definida. Por otro lado, aproximadamente el 90% de los individuos inmunocompetentes con tuberculosis latente permanecen como individuos sanos, sin síntomas, a lo largo de toda su vida. Estos individuos desarrollan una fuerte respuesta inmune, pero el bacilo permanece indefinidamente en el huésped. La frecuencia de la cura espontánea es desconocida, pero se supone que es poco frecuente. En el huésped inmunocomprometido, la infección puede desarrollarse directamente luego de la infección. El granuloma es el sitio de infección, persistencia, patología y protección. (Figura adaptada de Nature Reviews Immunology (2001; 1:20–30).

### **Respuesta inmune del huésped contra *M. tuberculosis***

#### **Respuesta Inmune Innata:**

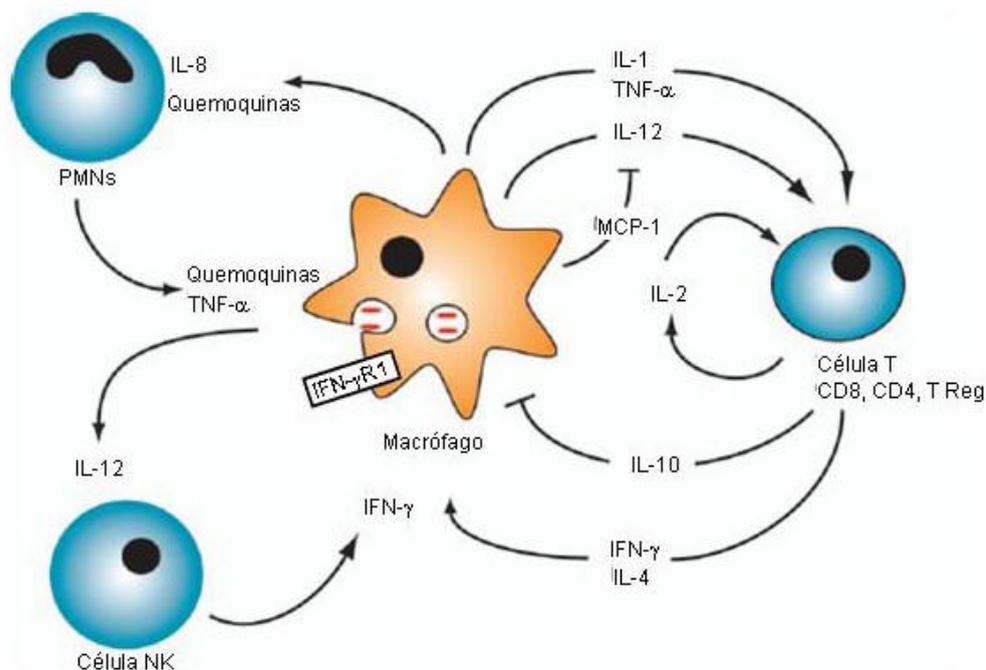
La respuesta innata frente al bacilo de la tuberculosis no ha sido aún completamente dilucidada, pero la misma es sumamente importante, ya que algunos individuos con exposición primaria a *M. tuberculosis* no resultan infectados (3). Los macrófagos alveolares residentes son el primer tipo celular involucrado en la fagocitosis de *M. tuberculosis* (3). Luego de este primer encuentro, las células dendríticas (CD) y los macrófagos derivados de monocitos también forman parte del proceso fagocítico. Un gran número de receptores son críticos en el reconocimiento de *M.*

*tuberculosis* (Fig. 2) (4). En los macrófagos humanos, los receptores primarios para el reconocimiento de *M. tuberculosis* son el receptor de manosa y el receptor del complemento 3 mientras que DC-SIGN es el principal receptor en las CD humanas (4). Además de las fagocitosis, el reconocimiento de *M. tuberculosis* o sus productos es un paso crucial en la respuesta inmune efectiva contra este patógeno (3). *M. tuberculosis* es reconocido por los receptores tipo Toll (TLR), específicamente por el TLR2/1/6, TLR9, y posiblemente por TLR4 (55, 56). La pared celular de las micobacterias contiene un gran número de ligandos proinflamatorios del TLR2, incluyendo lipoproteínas, peptidoglicanos complejos, lípidos, y lipoarabinomananos (4). Trabajos recientes sugieren que el TLR1, TLR6 y TLR9 cooperarían con el TLR2 para el reconocimiento de la micobacteria por la célula presentadora de antígeno (CPA) (4).



**Figura 2. Fagocitosis y reconocimiento inmune de *M. tuberculosis*.** Varios receptores han sido identificados para el reconocimiento de *M. tuberculosis* por macrófagos y CD, incluyendo los receptores del complemento (CR), el receptor de manosa (MR), el receptor DC-SIGN en las CD, el receptor de la proteína surfactante A (Sp-A), el receptor "scavenger" clase A, las lectinas de unión a manosa (MBL), y posiblemente la dectina-1. Luego de la unión a los TLR, vías de señalización comunes son activadas que llevan a la activación celular y la producción de citoquinas. Los TLR se expresan no solo en la superficie celular sino también en los fagosomas, por lo tanto la activación inmune puede ocurrir en presencia o ausencia de fagocitosis. Por otro lado, la fagocitosis sola, probablemente no lleva a la activación inmune sin la acción de los TLR. Sp-: receptor de las proteína surfactantes, MBL: lectinas de unión a manosa, LAM: lipoarabinomananos. (Adaptado de *Clin Microbiol Rev* 15:294).

El reconocimiento de *M. tuberculosis* durante la respuesta inmune innata lleva a la activación celular y a la producción de quemoquinas y citoquinas proinflamatorias (Fig. 3). Estos mediadores reclutan células inflamatorias (células T, NK y neutrófilos) al área de infección y coordinan la respuesta inmune adaptativa (4). Luego de que *M. tuberculosis* es fagocitado por los macrófagos alveolares, se desarrolla una respuesta inflamatoria local no específica (3). La mayoría de los mediadores en este punto (IL-1 $\beta$ , IL-12, TNF- $\alpha$ , IL-15, IL-18, entre otros) son producidos por macrófagos o CD, pero el IFN- $\gamma$  es secretado por células NK, células T  $\gamma\delta$ , y células T restringidas a CD1 (3). Más aún, publicaciones recientes han demostrado que esta citoquina Th1, el IFN- $\gamma$ , podría también ser producida por monocitos, macrófagos y CPA (5, 6). De hecho, ha sido demostrado que las CD de individuos sanos producen IFN- $\gamma$  en respuesta a la estimulación con BCG por un mecanismo dependiente de TLR2 (7).



**Figura 3. Respuesta inmune celular contra *M. tuberculosis*.** Luego de la infección, los macrófagos activados secretan citoquinas y quemoquinas que activan macrófagos, células T, neutrófilos y células NK. Las células T y las células NK producen IFN- $\gamma$  que, junto con otras citoquinas, induce la activación de los macrófagos contribuyendo a la eliminación de *M. tuberculosis*. (Adaptado de *Immunol. Rev.*, 219:167).

En resumen, esta respuesta inicial determina el crecimiento local de *M. tuberculosis* o la contención de la infección. Las células fagocíticas poseen un rol clave en el inicio de la respuesta local inflamatoria y en el comienzo de la inmunidad mediada por células.

### **Respuesta inmune adaptativa en tuberculosis:**

**La respuesta Th1.** La inmunidad celular contra *M. tuberculosis* involucra una crítica interrelación entre linfocitos T, CPA y mediadores solubles (citoquinas y quemoquinas). La respuesta inmune protectora en tuberculosis puede ser definida como una respuesta Th1 ya que la inmunidad celular y la producción de IFN- $\gamma$  por células T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> es crítica para el control de la enfermedad (8-10).

Aunque existe una fuerte respuesta humoral durante la tuberculosis, el rol de las células B no está bien definido. En individuos con defectos en la activación de las células B no se ha observado incremento de la susceptibilidad a la tuberculosis (11). Por el contrario, pacientes con inmunodeficiencias combinadas severas desarrollan infección por BCG diseminada o fatal, y pacientes con tratamientos inmunosupresores de la función T presentan mayores riesgos de enfermedades micobacterianas (11). *M. tuberculosis* induce la expresión de TNF- $\alpha$  en los macrófagos, induciendo así la expresión de quemoquinas (12), que atraen a las células al sitio de infección y son importantes en la formación y mantenimiento del granuloma. El transporte de los antígenos micobacterianos desde los pulmones hacia el ganglio linfático es mediado por las CD pero no por los macrófagos (13). En las CD, *M. tuberculosis* estimula la producción de IL-12, (2) que activa a células NK y células T, creando un sistema de retroalimentación positiva que favorece la polarización Th1 (14). La infección por *M. tuberculosis* resulta así en la inducción de un gran número de citoquinas, algunas de ellas con un rol esencial en la resistencia a la infección. Por ejemplo, los individuos con defectos Mendelianos en el gen que codifica para la subunidad p40 de IL-12 e IL-23 (importantes inductores de IFN- $\gamma$ ) poseen una mayor susceptibilidad a infecciones por micobacterias (11). Más aún, los individuos con mutaciones en los genes del receptor de IFN- $\gamma$  o en componentes de la vía intracelular del IFN- $\gamma$  tales como STAT1, pueden desarrollar infecciones fatales diseminadas por BCG o infecciones con micobacterias no-tuberculosas (9). Así, el IFN- $\gamma$  es la principal citoquina activadora de macrófagos y junto con el TNF- $\alpha$ , estimulan la producción de la óxido nítrico sintetasa inducible (NOS-2), responsable de los altos niveles de óxido nítrico y otros intermediarios reactivos del nitrógeno que poseen funciones bactericidas frente a *M. tuberculosis* (10). El IFN- $\gamma$  también estimula la expresión de LRG-47, una nueva GTPasa que induce en los macrófagos la eliminación de *M. tuberculosis*, independientemente de NOS-2 (15, 16). Por lo tanto, aunque el IFN- $\gamma$  solo no puede controlar la infección por *M. tuberculosis*, es sin lugar a duda necesario para la generación de respuestas protectoras.

Las células T CD8 (restringidas a CMH I) han sido consideradas de menor relevancia que las CD4<sup>+</sup> en el control de la infección por micobacterias. Sin embargo, los ratones deficientes en  $\beta$ 2-microglobulina sucumben rápidamente luego del desafío con *M. tuberculosis* (17). Recientemente ha sido descrita una vía de presentación cruzada que permitiría la activación específica alternativa para controlar a un patógeno que no posee acceso a la vía de procesamiento del CMH I (18). Las células T CD8<sup>+</sup> podrían contribuir a la respuesta inmune frente al bacilo tuberculoso, al menos por tres mecanismos: secreción de IFN- $\gamma$ , lisis de células infectadas por la interacción Fas/Fas-ligando o mediado por las acción de perforinas y granzimas, y actividad micobactericida directa (2).

Por otro lado, tanto las células T CD1 que reconocen lípidos y glicolípidos de *M. tuberculosis*, como las células T  $\gamma\delta$  que reconocen fosfoantígenos, participan en la generación de una respuesta inmune protectora contra *M. tuberculosis* (2).

Por último, si la respuesta Th1 representa el patrón protector necesario para el control de la tuberculosis, entonces la IL-4 y otras citoquinas supresoras de citoquinas Th1 ¿podrían estar involucradas en la progresión de la enfermedad? La IL-4 y otros marcadores de actividad Th2 (IgE e IgG4) se encuentran frecuentemente en pacientes con tuberculosis avanzada (19). Sin embargo, ratones deficientes en IL-4 infectados con *M. tuberculosis* muestran cargas bacterianas similares a los ratones salvajes (20). La IL-4 y el TNF- $\alpha$  actúan de manera sinérgica, incrementando la patología de la enfermedad y la fibrosis, y esta función parecería ser más importante que los efectos inhibidores de las respuestas Th1 mediados por IL-4 (21). Ha sido sugerido que la falla de la respuesta inmune en tuberculosis podría explicarse por una respuesta Th1 débil o suprimida más que por una fuerte respuesta Th2. Por otro lado la IL-10, un fuerte supresor de la respuesta Th1, es capaz de inducir reactivación de la enfermedad (22, 23). En forma similar, el TGF- $\beta$ 1 regula negativamente la producción de IFN- $\gamma$  y es también un factor inhibitorio de la activación de macrófagos (24).

Aunque la supresión de las respuestas Th1 podría ocurrir por la acción de citoquinas inhibitorias, en la mayoría de las respuestas frente a micobacterias se observa una fuerte producción de IFN- $\gamma$ , y sin embargo no se logra eliminar definitivamente a *M. tuberculosis*. Por lo tanto, la respuesta inmune observada en tuberculosis no puede ser interpretada sólo en la base del paradigma Th1-Th2 (2).

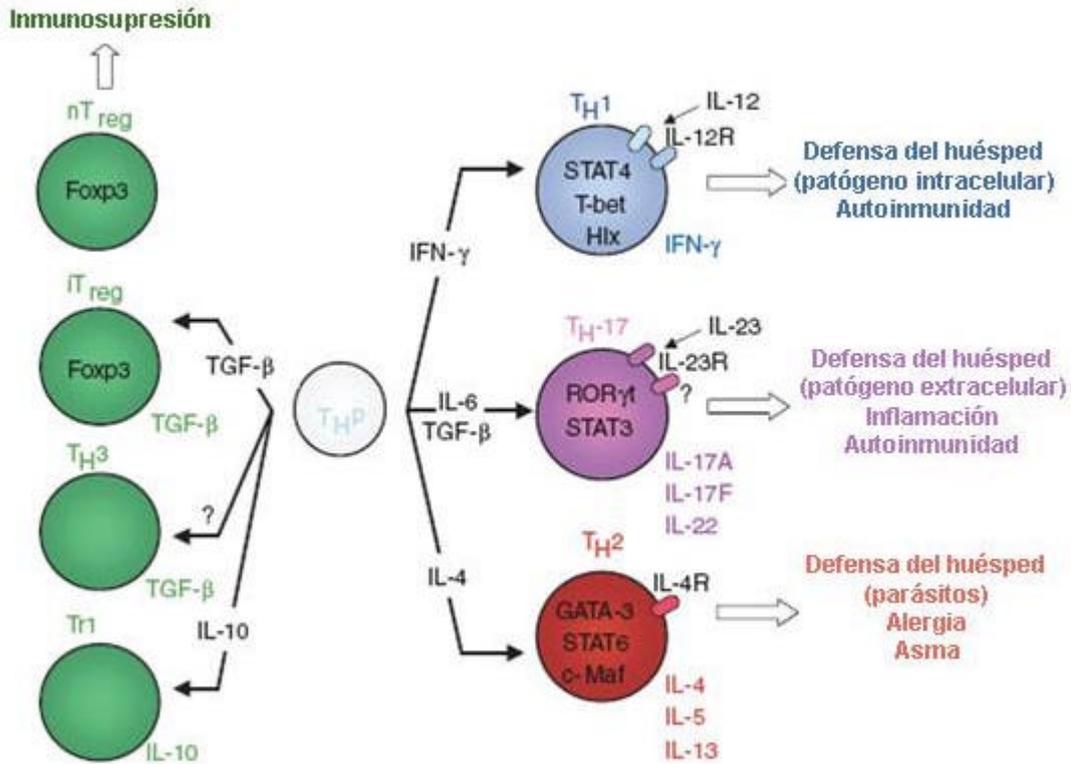
### **El nuevo paradigma: las células Th17 y su función en la respuesta inmune.**

A lo largo de los últimos cinco años, ha habido una importante evolución que condujo a los inmunólogos a revisar la hipótesis Th1 y a desarrollar un nuevo modelo para explicar la regulación del daño tisular que produce patología en varias condiciones autoinmunes e infecciones microbianas (25). Esta búsqueda llevó a la identificación de las células productoras de IL-17 (Th17) (26, 27). La IL-17 es una citoquina pleiotrópica que induce la producción de citoquinas proinflamatorias, quemoquinas y metaloproteasas, induciendo infiltración y destrucción tisular (28). Esta citoquina también está involucrada en la proliferación, maduración y quimiotaxis de los neutrófilos, coestimula a las células T y aumenta la maduración de las CD (28-31).

Interesantemente, ha sido demostrado que las poblaciones Th1 y Th17 son reguladas recíprocamente, donde las células Th1 actuarían como un freno anti-inflamatorio del daño inducido por las células Th17 (25). A su vez, los estímulos que inducen la generación de células Th17 y las células T regulatorias (Treg) son mutuamente excluyentes (32-34). El TGF- $\beta$  funciona como un regulador crítico tanto del daño tisular mediado por las células Th17 cuando colabora con la IL-6, como activador de células Treg FoxP3<sup>+</sup>, en ausencia de IL-6 (25).

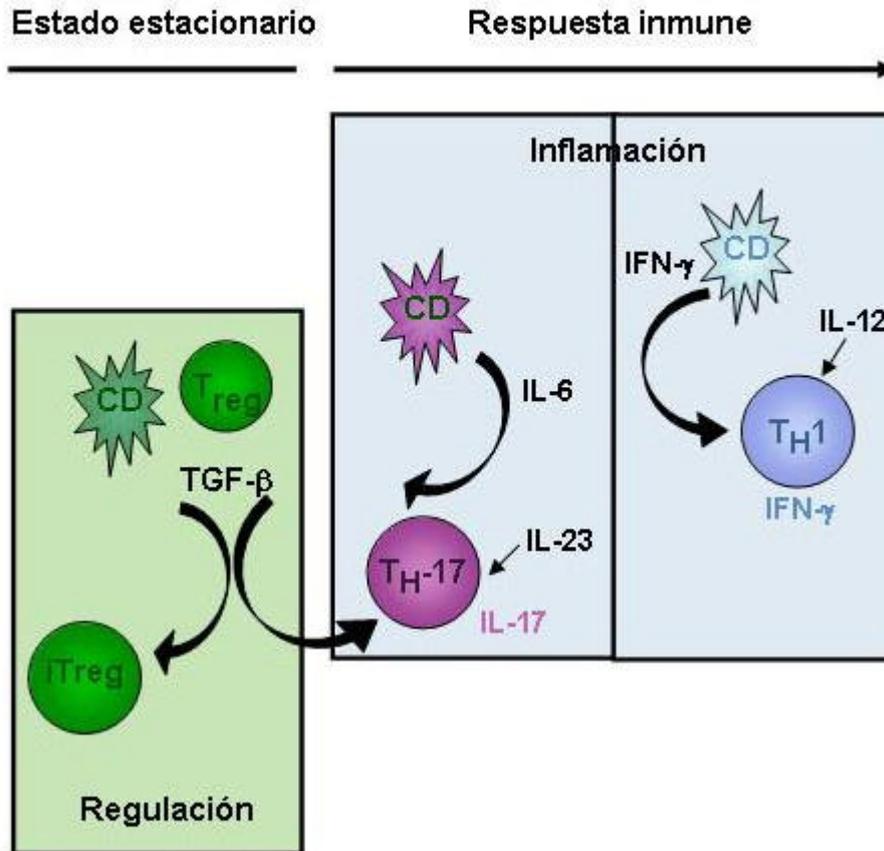
En resumen, tres poblaciones diferentes de células efectoras Th han sido identificadas, células Th1, Th2 y Th17, las cuales pueden diferenciarse a partir de células T vírgenes mediante la inducción de programas genéticos diferentes (Fig. 4) (29). Teniendo en cuenta los requerimientos de citoquinas para la diferenciación de las distintas subpoblaciones Th, ha sido propuesto que durante

un estado estacionario el TGF- $\beta$  favorece la generación de Treg inducibles, las cuales suprimen la inflamación y previenen el desarrollo de autoinmunidad (Fig. 5). Sin embargo, luego de la infección, la IL-6 es producida por el sistema inmune innato, inhibiendo así la generación de células Treg y, conjuntamente con el TGF- $\beta$ , induciendo la diferenciación de células Th17, mientras que el IFN- $\gamma$  llevaría a la diferenciación de células Th1.



**Figura 4. Diferenciación de los linajes T CD4<sup>+</sup>.** Las células T CD4 precursoras (Th) pueden diferenciarse a tres subpoblaciones de células T efectoras (Th1, Th2 y Th17) y varias subpoblaciones de células Treg, incluyendo células Treg inducibles (iTreg), células Tr1 y Th3. Las células Treg naturales (nTreg) son generadas a partir de precursores de células T CD4<sup>+</sup> del timo. La diferenciación de estas subpoblaciones es determinada por citoquinas y factores de transcripción específicos, y cada subpoblación posee funciones especializadas. En contraste a la diferenciación Th1 y Th2, IL-6 y TGF- $\beta$  son requeridas para la diferenciación de las células Th17 a partir de precursores vírgenes, pero IL-23 podría ser importante para la expansión y supervivencia de esta subpoblación. A nivel transcripcional la diferenciación de los linfocitos Th17 es dependiente del factor de transcripción ROR $\gamma$ t. Teniendo en cuenta los requerimientos de citoquinas para la diferenciación de las células Th17, ha sido propuesto que existe una relación recíproca entre las células Th17 y las células Treg Foxp3<sup>+</sup>, en la cual la IL-6, una proteína de fase aguda inducida durante la inflamación, actúa como un "pívor" determinando si la respuesta inmune es dominada por las células Th17 altamente inflamatorias o las células Treg. Esta regulación cruzada reveló la característica dual de otras dos citoquinas: IL-6 y TGF- $\beta$ . La señalización de STAT1 mediada por IFN- $\gamma$  lleva a la inducción de T-bet y a la diferenciación de células Th1. La producción de IFN- $\gamma$  es luego potenciada por citoquinas inflamatorias como IL-6. TGF- $\beta$  induce la expresión de Foxp3 en células T vírgenes y su diferenciación a células Treg inducibles. IL-6 es un potente inhibidor de la inducción de Foxp3 por TGF- $\beta$ . Sin embargo, la estimulación con TGF- $\beta$  e IL-6 resulta en la expresión de ROR $\gamma$ t y la consecuente

diferenciación de las células TH-17. Es también posible que TGF- $\beta$  antagonice y coopere con muchas otras citoquinas, disparando la inducción selectiva de factores de transcripción y la diferenciación de otras subpoblaciones de células Th no identificadas hasta el momento.

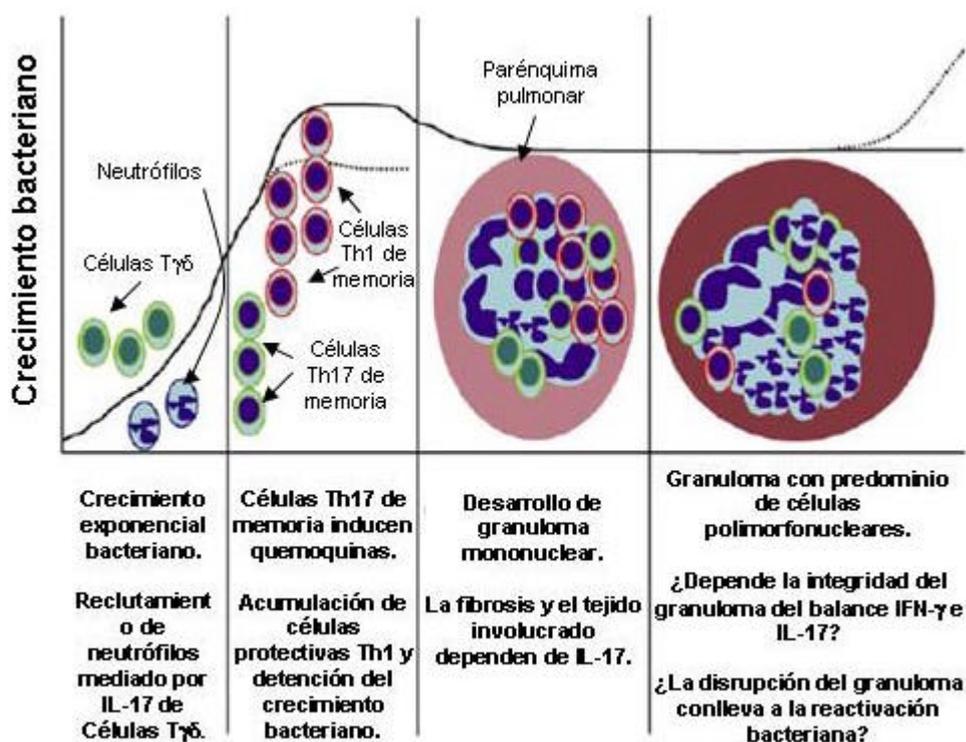


**Figura 5. El microambiente de citoquinas: un factor determinante en el desarrollo de la respuesta inmune.** En un estado estacionario (ausencia de infección o daño), el TGF- $\beta$  producido localmente por varios tipos celulares (incluyendo CD y nTreg), promueve la inmunosupresión y regulación. También induce la diferenciación de células Treg que participan en la regulación inmune. Sin embargo, luego de infección y/o condiciones inflamatorias, IL-6 en combinación con TGF- $\beta$  inducen la diferenciación de las células Th17, mientras que el IFN- $\gamma$  induce la diferenciación de las células Th1. Estas dos subpoblaciones, luego actuarán independientemente o juntas en la inducción de la inflamación.

### **Th17 y Tregs en tuberculosis.**

*M. tuberculosis* induce la producción tanto de IL-12p70 como de IL-23 en CD (35-37). IL-23 es esencial para la generación de la respuesta Th17 frente a las micobacterias y podría tener un rol secundario a IL-12 en la inducción de la respuesta inmune protectora mediada por IFN- $\gamma$  (38). La ausencia de IL-23 e IL-17 en el pulmón incrementa la severidad de la inflamación (38-40). Ha sido propuesto en ratón un modelo que sugiere que IL-23 e IL-17 poseen roles a lo largo de toda la infección (38)(Fig. 6): Las células T  $\gamma\delta$  producen IL-17 para reclutar neutrófilos. Si los ratones han

sido vacunados, las células Th17 de memoria producen quemoquinas y aceleran la acumulación de células Th1. Tanto en la respuesta primaria como en la respuesta de memoria, el arribo de un número suficiente de células productoras de IFN- $\gamma$  correlaciona con la disminución del crecimiento bacteriano. El tamaño y el contenido del granuloma dependen de la IL-17. A medida que la infección progresa, el número de linfocitos disminuye y las células polimorfonucleares se incrementan. Más aún, Khader y Cooper proponen que el balance entre las vías IL-12/IFN- $\gamma$  e IL-23/IL-17 define la resolución de la infección por *M. tuberculosis*. El desbalance entre estas dos vías podría resultar en disrupción del parénquima pulmonar y reactivación del crecimiento bacteriano (38).



**Figura 6. Rol de IL-23 e IL-17 en la infección por *M. tuberculosis*.** La tuberculosis representa una interacción crónica entre el huésped y el patógeno, las citoquinas IL-23 e IL-17 desempeñan un rol crucial a lo largo de todas las etapas de la infección. Ver texto para más detalle. *Adaptado de Cytokine, 2008.*

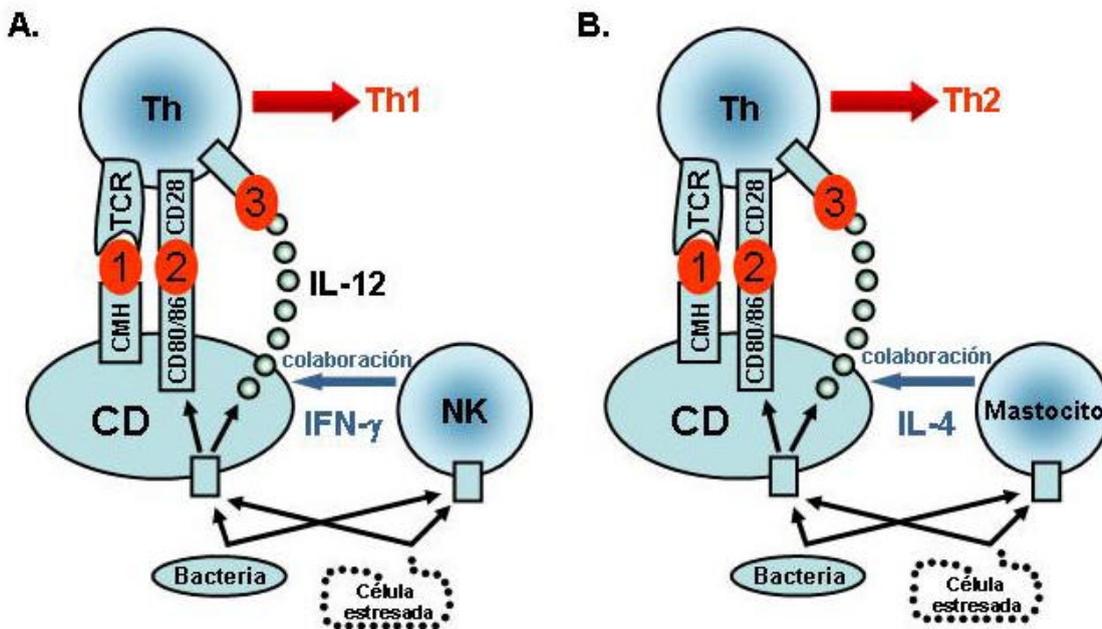
En humanos ha sido demostrado que la IL-23 también promueve la producción de IL-17 mientras que IL-12 reduce la expresión de esta citoquina (41). Más aún, las células T CD4<sup>+</sup> productoras de IL-17 e IL-22 contribuyen a la respuesta inmune adaptativa contra *M. tuberculosis* (42). Sin embargo, aún quedan muchas preguntas sin responder sobre la función de las células Th17 en humanos.

La respuesta inmune es regulada por un fino balance entre células T efectoras y Treg. Existen cada vez más evidencias que sugieren que las células Treg suprimen la inmunidad frente a *M. tuberculosis* y podrían contribuir a la patogénesis de la tuberculosis (43-46). Experimentos

realizados en nuestro laboratorio en colaboración con el laboratorio del Dr. Peter Barnes demuestran porcentajes incrementados de Treg en pacientes con tuberculosis (43). Más aún, las células Treg se expanden en respuesta a estimulación con *M. tuberculosis* a través de un mecanismo que depende de ManLAM y de PGE2 (43). Finalmente, ha sido demostrado que la frecuencia de células Treg en los fluidos pleurales correlaciona inversamente con la respuesta local contra *M. tuberculosis* (46).

### **Función de moléculas coestimuladoras y proteínas de señalización en la diferenciación Th1/Th2.**

Para activarse y subsecuentemente diferenciarse a célula efectora, el linfocito T nativo requiere de dos tipos de señales: la interacción del TCR con el CMH y la interacción de moléculas coestimuladoras (expresadas sobre la CPA y las células T). La polarización Th1 requiere además de la presencia de IFN- $\gamma$  provista por un tercer tipo celular (47). La señal tres o polarización dirige la diferenciación de las células T (48)(Fig. 7).



**Figura 7. Un modelo de tres células para la diferenciación Th1 y Th2.** La activación y diferenciación de los linfocitos Th hacia los linajes Th1 y Th2 requiere de tres señales: la señal 1 disparada por el reconocimiento del Ag por el TCR; la señal dos mediada por la interacción de las moléculas coestimuladoras en las CD y las células T; y la señal tres mediada por la secreción de citoquinas por CD y su reconocimiento por los receptores de las mismas en la superficie de las células T. Esta tercera señal depende de la colaboración provista por otras células del sistema inmune innato tales como células NK, NKT, linfocitos  $T\gamma\delta$ , mastocitos, eosinófilos y basófilos. (A) Si la colaboración es mediada por células productoras de IFN- $\gamma$  como las células NK, las CD producen IL-12 induciendo la polarización de las células Th hacia el linaje Th1. (B) Alternativamente, si una célula activada productora de IL-4 como los mastocitos colabora con la CD, las células Th serán polarizadas hacia un fenotipo Th2. *Adaptado de Scand. J. Immunol., 64 (2): 93-96. 2006.*

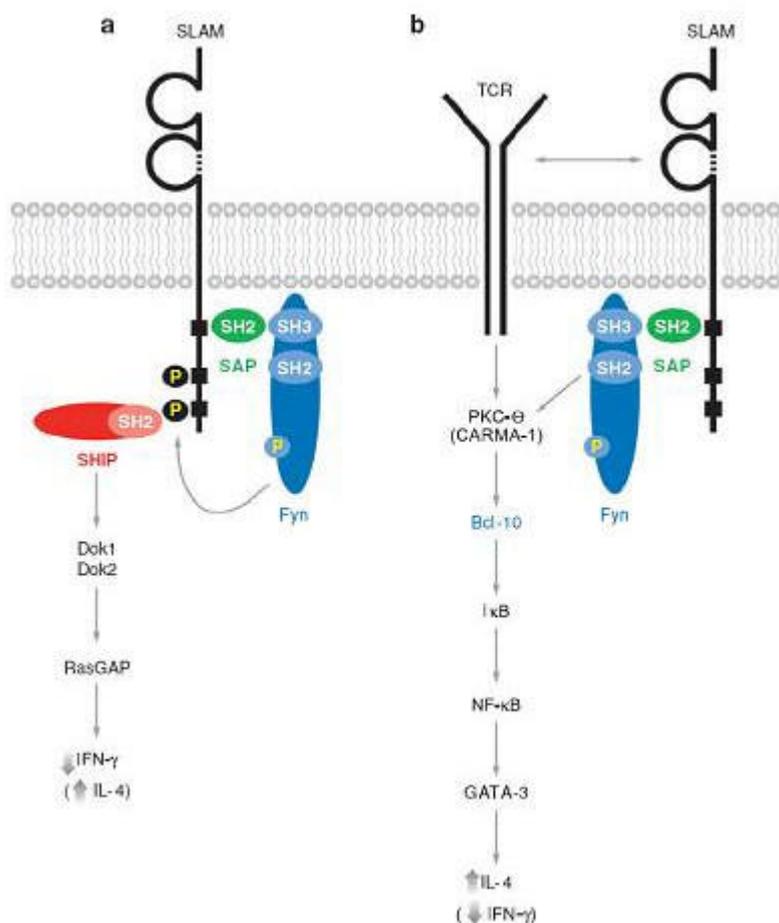
La familia del receptor CD28 posee un rol clave en la regulación de la activación de células T. La interacción de CD80 (B7-1) y CD86 (B7-2) sobre las CPA con los receptores CD28 y CTLA-4 (CD152) regula la respuesta inmune (49). La coestimulación a través de CD28 incrementa la diferenciación hacia célula T efectora, la expansión clonal, la magnitud y la duración de las respuestas T y la producción de citoquinas como IL-2 (49), previniendo la inducción de anergia y favoreciendo la formación de centros germinales (50). Por otro lado, CTLA-4 (Antígeno 4 de Linfocitos T Citotóxicos), interacciona con CD80 y CD86 con mayor afinidad y avidéz que CD28 (50), induciendo una señal negativa, limitando de este modo la activación T (51). A su vez, la vía CD40/CD40L aumenta el desarrollo de respuestas Th1 a través de la inducción de la producción de IL-12 por macrófagos y CD (52) y el incremento de la expresión de moléculas coestimuladoras de la familia B7 sobre las CPA (53).

El rol de las moléculas coestimuladoras en la generación de respuestas inmunes protectoras en distintas infecciones también ha sido demostrado. En la infección por *M. leprae*, ha sido observado que pacientes con lepra lepromatosa presentan una elevada expresión de CTLA-4 en comparación con pacientes tuberculoideos respondedores e individuos sanos (54). Asimismo, ha sido reportado que la expresión de CD28 se encuentra disminuida en las células de pacientes lepromatosos (54). Más aún, se observó que la expresión de CD40, y de CD40L, se encuentran predominantemente en lesiones de pacientes tuberculoideos (55). Estos resultados demostrando una expresión alterada de las moléculas coestimuladoras en las formas polares de lepra podrían explicar, en parte, la falla en la respuesta de linfocitos T de pacientes lepromatosos contra el antígeno. En forma similar, Gong y col. observaron que la expresión de CTLA-4 se encontraba disminuida en pacientes con tuberculosis en comparación con dadores sanos PPD<sup>+</sup> (56). Asimismo, Merlo y col. demostraron que el bloqueo de CTLA-4 induce un incremento en respuestas citolíticas de clones T específicos para *M. tuberculosis* (57).

### **SLAM (Molécula Linfocitaria Activadora de Señales).**

Una de las moléculas de activación temprana es la molécula linfocitaria activadora de señales (SLAM, CD150). SLAM, glicoproteína de superficie celular, es un homólogo que actúa tanto como receptor de membrana transmisor de señales intracelulares, así como molécula soluble o unida a membrana, con funciones independientes de CD28 (58-60). SLAM se expresa en clones Th1 y Th2, linfocitos inmaduros (58), CD (61), monocitos activados (62) y en una población de linfocitos B. La estimulación a través de SLAM induce perfiles de citoquinas Th1/Th0 en células T activadas por antígeno, incluyendo clones Th2 (58). Ha sido descrito que, durante la infección por HIV, se observa una alteración de la expresión de SLAM (63). También fue demostrado que SLAM regula la producción de citoquinas en artritis reumatoidea y que es capaz de virar las respuestas Th2 hacia una respuesta Th1 en pacientes con dermatitis atópica (64, 65). Por otro lado, si bien SLAM fue inicialmente identificado en células T activadas (58), posteriormente fue demostrada su expresión en CD maduras (61, 66). Se propuso que la expresión de SLAM en las CD proveería una señal bidireccional en la cual las CD que interaccionan con las células T son simultáneamente y

sinérgicamente activadas para montar una respuesta Th1 (61). El motivo TxYxxV/I de la cola citoplasmática de SLAM puede unirse a diferentes moléculas con motivos SH2, incluyendo tirosina e inositol fosfatasas, kinasas de las familias Src y moléculas adaptadoras. Sin embargo poco se conoce acerca de las vías de señalización desencadenadas por SLAM y su regulación (67). En la determinación de los mecanismos por los cuales SLAM induce señalización, se identificó a la proteína asociada a SLAM (SAP) (68). SAP se expresa en células T y NK y en algunas células B (69). La importancia de la interacción SLAM-SAP en linfocitos T deriva de la observación que SAP se encuentra mutado en pacientes con el Síndrome Linfoproliferativo Ligado al cromosoma X (XLP), enfermedad disfuncional caracterizada por una respuesta inapropiada a la infección por el virus Epstein-Barr (68, 70). La ausencia de SAP en pacientes XLP afecta las interacciones inducidas por SLAM entre linfocitos T y B. En ratón, la ausencia de SAP causa hiperproliferación de las células productoras de IFN- $\gamma$ , activación defectuosa del gen que codifica para IL-4 y un cambio aberrante de isotipos de inmunoglobulinas (71). Asimismo, en estos animales, se observa un incremento de la actividad citotóxica de los linfocitos y de la secreción de IFN- $\gamma$ , lo que sugiere una desregulación de múltiples ramas del sistema inmune, incluyendo linfocitos B y T. La ausencia de SAP conduce a fenotipos Th1 e inhibición de la producción de citoquinas Th2, por lo que ha sido sugerido que SAP participaría en la homeostasis linfocitaria (72). Varios estudios demuestran la existencia de una vía de señalización con un importante rol en el proceso de diferenciación Th que involucraría a la proteína SAP. Ha sido reportado que la producción de IFN- $\gamma$  inducida por antígeno podría ser completamente bloqueada en células que expresan conjuntamente SLAM y SAP, mientras que no se observó impacto sobre la liberación de IFN- $\gamma$  en células conteniendo SLAM o SAP solamente, indicando que SAP modularía las respuestas Th1 en células T (73-75). Más aún, ha sido demostrado que la asociación de SLAM y SAP depende al menos del patrón de localización de estas dos moléculas, y la señalización a través de SLAM podría llevar a diferentes vías de señalización dependiendo del patrón de expresión de SAP (Fig. 8) (67, 76-78).



**Figura 8. Vías de señalización mediadas por SAP.** (a) SAP se asocia al dominio citoplasmático de SLAM. Esta interacción es mediada por la tirosina 281 (Y281) de SLAM y la arginina 32 (R32) de SAP. Esta arginina también se une al dominio SH3 de Fyn y recluta a esta proteína al complejo SLAM/SAP. Fyn luego fosforila residuos tirosina en la cola citoplasmática de SLAM. Estos residuos fosforilados actúan como sitios de anclaje para SHIP (inositol fosfatasa que contienen dominios SH2), la cuál se fosforila y une a las moléculas adaptadoras Dok1 y Dok2. Las proteínas Dok fosforiladas en tirosina se unen al dominio SH2 de RasGAP. Esta vía de señalización suprime de manera selectiva la producción de IFN- $\gamma$ . (b) SAP también contribuye a la señalización a través del TCR regulando la activación de PKC- $\theta$ , Bcl-10, y NF- $\kappa$ B. Esta vía de señalización induce la expresión de GATA-3 y la producción óptima de IL-4 por células T CD4<sup>+</sup> estimuladas a través del CD3. (Figura del *Annu. Rev. Immunol.* 2007. 25:337-79)

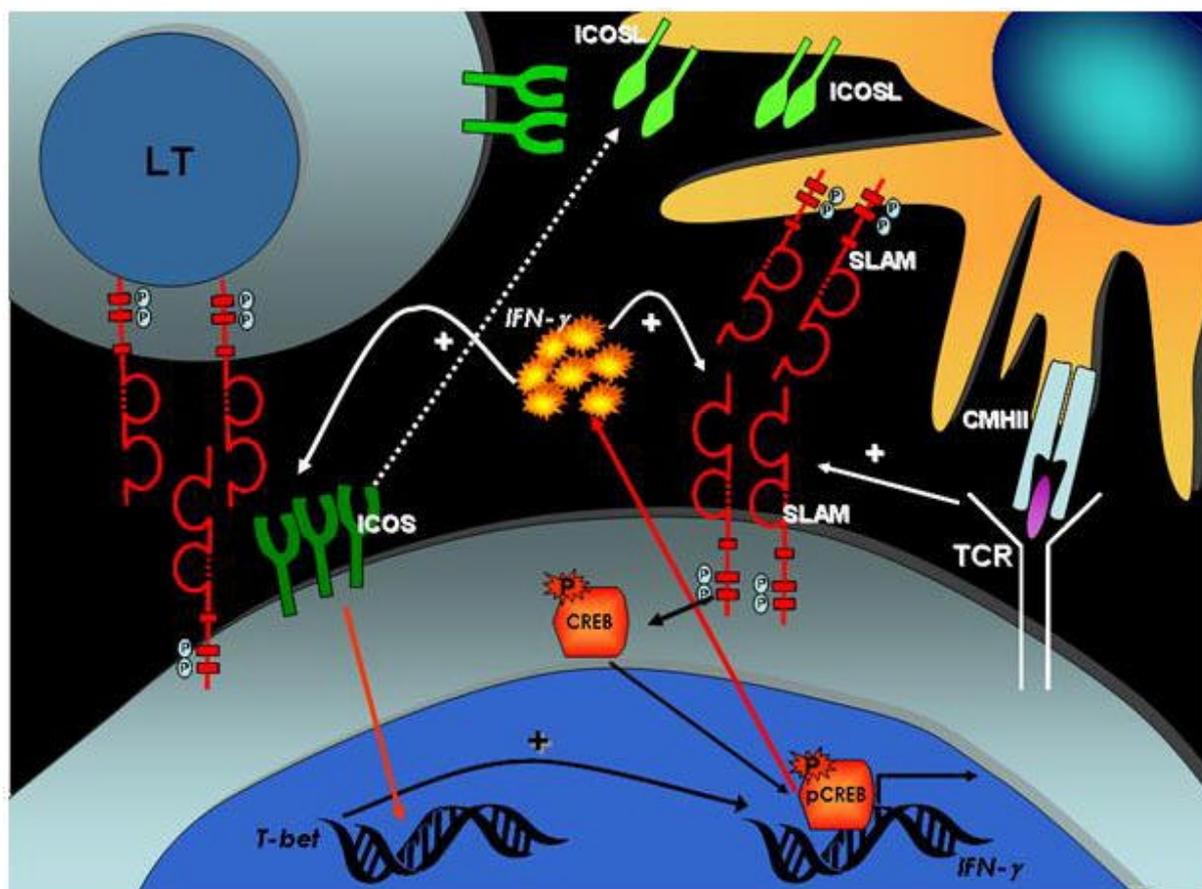
### ICOS (Coestimulador Inducible)

ICOS es el tercer miembro de la familia de CD28/CTLA-4 (79). A diferencia de CD28, ICOS se expresa en linfocitos T luego de activación (79). ICOS se une a una nueva molécula llamada B7RP-1 (B7h, GL50, LICOS, ICOSL), que se expresa constitutivamente en las CPA (80). La coestimulación a través de CD28 induce un incremento aún mayor en la expresión de ICOS en células T activadas (81, 82). El fenotipo de los ratones ICOS<sup>-/-</sup> es muy similar al observado en

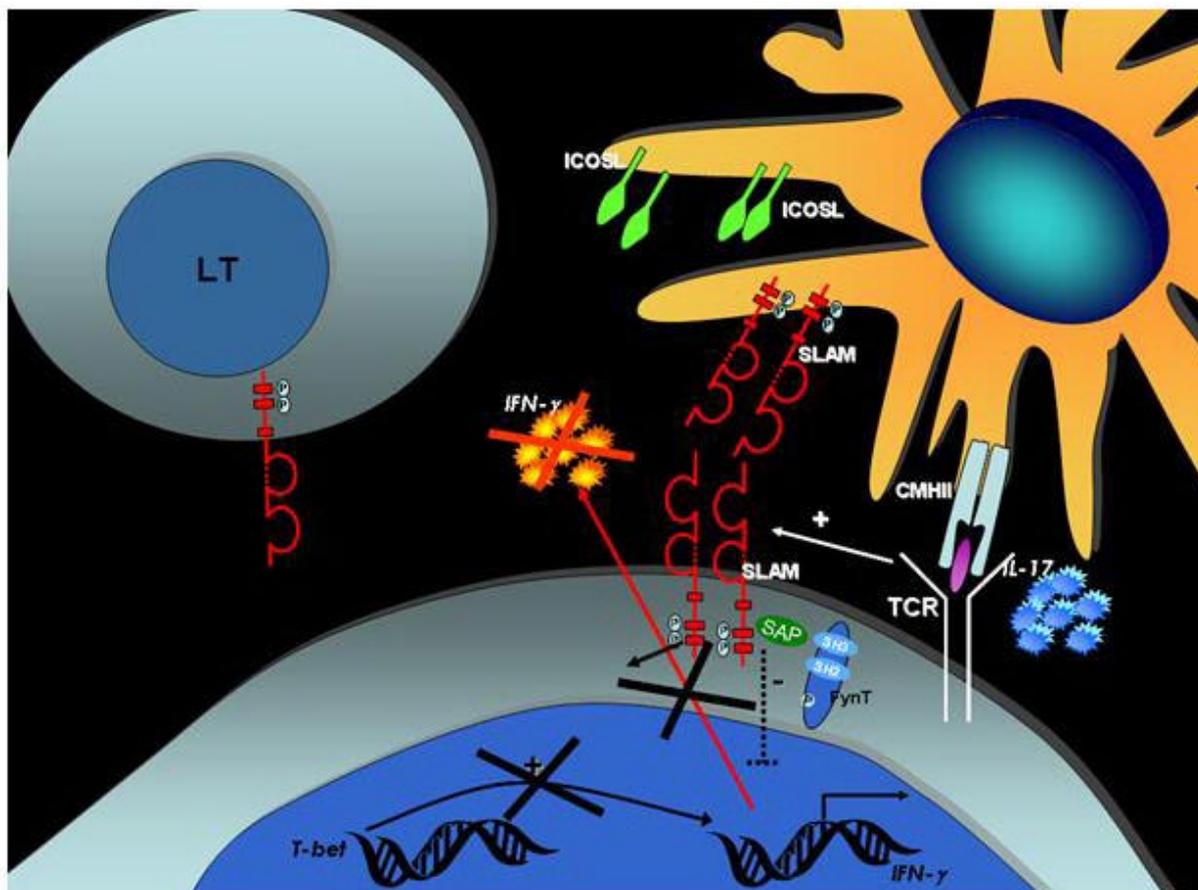
ratones CD28<sup>-/-</sup>, lo cual sugiere una importante función coestimuladora en las funciones efectoras Th y la colaboración T:B (80). Ha sido postulado que ICOS estaría implicado en el mantenimiento del inicio de respuestas T. Más aún, los ratones deficientes en el gen de ICOS presentan disminución en la producción de citoquinas tanto Th1 como Th2 frente a infección por *Leishmania major* (83, 84). También, ha sido descrito que ICOS podría inducir perfiles de citoquinas Th1 o Th2, dependiendo del contexto de la respuesta inmune, el cual es definido por el patógeno, su localización, y la cronicidad de la infección (85). Asimismo, recientemente fue publicado que en humanos ICOS participaría fundamentalmente en respuestas de tipo Th1, ya que esta molécula se ve incrementada por efecto de IL-12 e IL-23 (86). Así, aunque ICOS fue originalmente identificado como una molécula coestimuladora cuya activación inducía la diferenciación de las células T hacia un fenotipo Th2, actualmente se sabe que ICOS no actúa únicamente en el desarrollo o expansión de el linaje Th2 (80).

### **Breve resumen de los resultados de nuestro grupo de trabajo**

Los resultados obtenidos por nuestro grupo de trabajo demuestran que la producción de IFN- $\gamma$  por moléculas de señalización en la tuberculosis humana dependería principalmente del reconocimiento antigénico por linfocitos T. Las CD mediante la expresión de SLAM y secreción de citoquinas proinflamatorias, inducirían la diferenciación de las células T hacia un perfil Th1 (87). Las células T respondedoras a *M. tuberculosis* rápidamente incrementarían los niveles de SLAM y estas dos señales se combinarían para inducir la producción de IFN- $\gamma$  por un mecanismo que sería dependiente de la fosforilación del factor de transcripción CREB (un factor de transcripción que se une al promotor de IFN- $\gamma$  (88)) y de la activación de T-bet. Los linfocitos T activados serían reclutados al sitio de la infección con elevados niveles de SLAM sobre su superficie celular. Así, el reconocimiento antigénico induciría la liberación a nivel local de citoquinas proinflamatorias, llevando al aumento en los niveles de SLAM e ICOS (89). La ulterior señalización a través de ambos receptores incrementaría aún más los niveles de IFN- $\gamma$  en el microambiente celular, creándose un sistema de retroalimentación positivo. A su vez, los niveles de ICOS permanecerían elevados en los linfocitos T de memoria en pacientes de respondedores al Ag, facilitando la migración al sitio de infección e induciendo respuestas benéficas Th1 (Fig. 9). La falla de los linfocitos T en pacientes no respondedores (pacientes que producen bajos niveles de IFN- $\gamma$  y proliferación celular reducida en respuesta al Ag) para responder a *M. tuberculosis* impediría el incremento de SLAM y la producción de IFN- $\gamma$ , contribuyendo a una reducida expresión de ICOS. Por otro lado, la expresión de SAP y/o de CD31 (90) en estos pacientes induciría señales que inhibirían la producción de IFN- $\gamma$ . Asimismo, la IL-17 participaría en la modulación de respuestas de citoquinas en el microambiente, impidiendo la exacerbación de una respuesta Th1 mediante inhibición de la expresión de SLAM y fosforilación de CREB, corroborando la regulación recíproca de IL-17 e IFN- $\gamma$  (32) (Fig. 10). De esta forma, nuestros hallazgos demuestran que diferentes proteínas de señalización, activadoras (SLAM, ICOS) o inhibidoras (SAP, CD31) participan en la respuesta inmune del huésped contra *M. tuberculosis*, conduciendo a producción de citoquinas en el microambiente celular (IFN- $\gamma$ , IL-17) que determinan la protección contra el patógeno o el desarrollo de enfermedad.



**Figura 9. SLAM e ICOS inducen respuestas Th1 en tuberculosis.** En el grafico se muestra un modelo del mecanismo por el cual SLAM e ICOS inducirían la producción de IFN- $\gamma$  en pacientes con tuberculosis activa respondedores al Ag específico. Ver texto para más detalle.



**Figura 10. SAP inhibe las respuestas Th1 en tuberculosis.** En el gráfico se muestra un modelo del mecanismo por el cual la débil respuesta del TCR en pacientes no respondedores a *M. tuberculosis*, llevaría a una regulación deficiente de las moléculas coestimuladoras (SLAM e ICOS) y a expresión de SAP inhibiendo de esta manera la generación de respuestas Th1. Ver texto para más detalle.

## Referencias

- (1) Small PM and Fujiwara PI. 2001. Management of tuberculosis in the United States. *N Engl J Med* 345(3): 189-200.
- (2) Ferraz JC, Melo FB, Albuquerque MF, Montenegro SM and Abath FG. 2006. Immune factors and immunoregulation in tuberculosis. *Braz J Med Biol Res* 39(11): 1387-1397.
- (3) van Crevel R, Ottenhoff TH and van der Meer JW. 2002. Innate immunity to Mycobacterium tuberculosis. *Clin Microbiol Rev* 15(2): 294-309.
- (4) Berrington WR and Hawn TR. 2007. Mycobacterium tuberculosis, macrophages, and the innate immune response: does common variation matter? *Immunol Rev* 219(167-186).
- (5) Schindler H, Lutz MB, Rollinghoff M and Bogdan C. 2001. The production of IFN-gamma by IL-12/IL-18-activated macrophages requires STAT4 signaling and is inhibited by IL-4. *J Immunol* 166(5): 3075-3082.

- (6) Wang J, Wakeham J, Harkness R and Xing Z. 1999. Macrophages are a significant source of type 1 cytokines during mycobacterial infection. *J Clin Invest* 103(7): 1023-1029.
- (7) Fricke I, Mitchell D, Mittelstadt J, Lehan N, Heine H, Goldmann T, Bohle A and Brandau S. 2006. Mycobacteria induce IFN-gamma production in human dendritic cells via triggering of TLR2. *J Immunol* 176(9): 5173-5182.
- (8) Flynn JL. 2004. Immunology of tuberculosis and implications in vaccine development. *Tuberculosis (Edinb)* 84(1-2): 93-101.
- (9) Ottenhoff TH, Verreck FA, Hoeve MA and van de Vosse E. 2005. Control of human host immunity to mycobacteria. *Tuberculosis (Edinb)* 85(1-2): 53-64.
- (10) Cooper AM, Adams LB, Dalton DK, Appelberg R and Ehlers S. 2002. IFN-gamma and NO in mycobacterial disease: new jobs for old hands. *Trends Microbiol* 10(5): 221-226.
- (11) Doffinger R, Patel S and Kumararatne DS. 2005. Human immunodeficiencies that predispose to intracellular bacterial infections. *Curr Opin Rheumatol* 17(4): 440-446.
- (12) Algood HM, Chan J and Flynn JL. 2003. Chemokines and tuberculosis. *Cytokine Growth Factor Rev* 14(6): 467-477.
- (13) Salgame P. 2005. Host innate and Th1 responses and the bacterial factors that control Mycobacterium tuberculosis infection. *Curr Opin Immunol* 17(4): 374-380.
- (14) Chan J, Xing Y, Magliozzo RS and Bloom BR. 1992. Killing of virulent Mycobacterium tuberculosis by reactive nitrogen intermediates produced by activated murine macrophages. *J Exp Med* 175(4): 1111-1122.
- (15) MacMicking JD, Taylor GA and McKinney JD. 2003. Immune control of tuberculosis by IFN-gamma-inducible LRG-47. *Science* 302(5645): 654-659.
- (16) Gutierrez MG, Master SS, Singh SB, Taylor GA, Colombo MI and Deretic V. 2004. Autophagy is a defense mechanism inhibiting BCG and Mycobacterium tuberculosis survival in infected macrophages. *Cell* 119(6): 753-766.
- (17) Flynn JL, Goldstein MM, Triebold KJ, Koller B and Bloom BR. 1992. Major histocompatibility complex class I-restricted T cells are required for resistance to Mycobacterium tuberculosis infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89(24): 12013-12017.
- (18) Winau F, Weber S, Sad S, de Diego J, Hoops SL, Breiden B, Sandhoff K, Brinkmann V, Kaufmann SH and Schaible UE. 2006. Apoptotic vesicles crossprime CD8 T cells and protect against tuberculosis. *Immunity* 24(1): 105-117.
- (19) Lienhardt C, Azzurri A, Amedei A, Fielding K, Sillah J, Sow OY, Bah B, Benagiano M, Diallo A, Manetti R, Manneh K, Gustafson P, Bennett S, D'Elia MM, McAdam K and Del Prete G. 2002. Active tuberculosis in Africa is associated with reduced Th1 and increased Th2 activity in vivo. *Eur J Immunol* 32(6): 1605-1613.
- (20) North RJ. 1998. Mice incapable of making IL-4 or IL-10 display normal resistance to infection with Mycobacterium tuberculosis. *Clin Exp Immunol* 113(1): 55-58.
- (21) Rook GA, Hernandez-Pando R, Dheda K and Teng Seah G. 2004. IL-4 in tuberculosis: implications for vaccine design. *Trends Immunol* 25(9): 483-488.

- (22) Henao MI, Montes C, Paris SC and Garcia LF. 2006. Cytokine gene polymorphisms in Colombian patients with different clinical presentations of tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)* 86(1): 11-19.
- (23) Weir RE, Black GF, Dockrell HM, Floyd S, Fine PE, Chaguluka SD, Stenson S, King E, Nazareth B, Warndorff DK, Ngwira B, Crampin AC, Mwaungulu L, Sichali L, Jarman E, Donovan L and Blackwell JM. 2004. Mycobacterial purified protein derivatives stimulate innate immunity: Malawians show enhanced tumor necrosis factor alpha, interleukin-1beta (IL-1beta), and IL-10 responses compared to those of adolescents in the United Kingdom. *Infect Immun* 72(3): 1807-1811.
- (24) Toossi Z, Gogate P, Shiratsuchi H, Young T and Ellner JJ. 1995. Enhanced production of TGF-beta by blood monocytes from patients with active tuberculosis and presence of TGF-beta in tuberculous granulomatous lung lesions. *J Immunol* 154(1): 465-473.
- (25) Steinman L. 2007. A brief history of T(H)17, the first major revision in the T(H)1/T(H)2 hypothesis of T cell-mediated tissue damage. *Nat Med* 13(2): 139-145.
- (26) Langrish CL, Chen Y, Blumenschein WM, Mattson J, Basham B, Sedgwick JD, McClanahan T, Kastelein RA and Cua DJ. 2005. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. *J Exp Med* 201(2): 233-240.
- (27) Cua DJ, Sherlock J, Chen Y, Murphy CA, Joyce B, Seymour B, Lucian L, To W, Kwan S, Churakova T, Zurawski S, Wiekowski M, Lira SA, Gorman D, Kastelein RA and Sedgwick JD. 2003. Interleukin-23 rather than interleukin-12 is the critical cytokine for autoimmune inflammation of the brain. *Nature* 421(6924): 744-748.
- (28) Kolls JK and Linden A. 2004. Interleukin-17 family members and inflammation. *Immunity* 21(4): 467-476.
- (29) Bettelli E, Oukka M and Kuchroo VK. 2007. T(H)-17 cells in the circle of immunity and autoimmunity. *Nat Immunol* 8(4): 345-350.
- (30) Ye P, Rodriguez FH, Kanaly S, Stocking KL, Schurr J, Schwarzenberger P, Oliver P, Huang W, Zhang P, Zhang J, Shellito JE, Bagby GJ, Nelson S, Charrier K, Peschon JJ and Kolls JK. 2001. Requirement of interleukin 17 receptor signaling for lung CXC chemokine and granulocyte colony-stimulating factor expression, neutrophil recruitment, and host defense. *J Exp Med* 194(4): 519-527.
- (31) Park H, Li Z, Yang XO, Chang SH, Nurieva R, Wang YH, Wang Y, Hood L, Zhu Z, Tian Q and Dong C. 2005. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat Immunol* 6(11): 1133-1141.
- (32) Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, Weiner HL and Kuchroo VK. 2006. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 441(7090): 235-238.
- (33) Veldhoen M, Hocking RJ, Atkins CJ, Locksley RM and Stockinger B. 2006. TGFbeta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells. *Immunity* 24(2): 179-189.
- (34) Tato CM and O'Shea JJ. 2006. Immunology: what does it mean to be just 17? *Nature* 441(7090): 166-168.
- (35) Khader SA, Pearl JE, Sakamoto K, Gilmartin L, Bell GK, Jelley-Gibbs DM, Ghilardi N, deSavage F and Cooper AM. 2005. IL-23 compensates for the absence of IL-12p70 and is essential for the IL-17

response during tuberculosis but is dispensable for protection and antigen-specific IFN-gamma responses if IL-12p70 is available. *J Immunol* 175(2): 788-795.

(36) Lockhart E, Green AM and Flynn JL. 2006. IL-17 production is dominated by gammadelta T cells rather than CD4 T cells during Mycobacterium tuberculosis infection. *J Immunol* 177(7): 4662-4669.

(37) Wozniak TM, Ryan AA, Triccas JA and Britton WJ. 2006. Plasmid interleukin-23 (IL-23), but not plasmid IL-27, enhances the protective efficacy of a DNA vaccine against Mycobacterium tuberculosis infection. *Infect Immun* 74(1): 557-565.

(38) Khader SA and Cooper AM. 2008. IL-23 and IL-17 in tuberculosis. *Cytokine*

(39) Dragon S, Saffar AS, Shan L and Gounni AS. 2008. IL-17 attenuates the anti-apoptotic effects of GM-CSF in human neutrophils. *Mol Immunol* 45(1): 160-168.

(40) Zelante T, De Luca A, Bonifazi P, Montagnoli C, Bozza S, Moretti S, Belladonna ML, Vacca C, Conte C, Mosci P, Bistoni F, Puccetti P, Kastelein RA, Kopf M and Romani L. 2007. IL-23 and the Th17 pathway promote inflammation and impair antifungal immune resistance. *Eur J Immunol* 37(10): 2695-2706.

(41) Hoeve MA, Savage ND, de Boer T, Langenberg DM, de Waal Malefyt R, Ottenhoff TH and Verreck FA. 2006. Divergent effects of IL-12 and IL-23 on the production of IL-17 by human T cells. *Eur J Immunol* 36(3): 661-670.

(42) Scriba TJ, Kalsdorf B, Abrahams DA, Isaacs F, Hofmeister J, Black G, Hassan HY, Wilkinson RJ, Walzl G, Gelderbloem SJ, Mahomed H, Hussey GD and Hanekom WA. 2008. Distinct, Specific IL-17- and IL-22-Producing CD4+ T Cell Subsets Contribute to the Human Anti-Mycobacterial Immune Response. *J Immunol* 180(3): 1962-1970.

(43) Garg A, Barnes PF, Roy S, Quiroga MF, Wu S, Garcia VE, Krutzik SR, Weis SE and Vankayalapati R. 2008. Mannose-capped lipoarabinomannan- and prostaglandin E2-dependent expansion of regulatory T cells in human Mycobacterium tuberculosis infection. *Eur J Immunol*

(44) Li L, Lao SH and Wu CY. 2007. Increased frequency of CD4(+)CD25(high) Treg cells inhibit BCG-specific induction of IFN-gamma by CD4(+) T cells from TB patients. *Tuberculosis (Edinb)* 87(6): 526-534.

(45) Hbugardy JM, Place S, Hildebrand M, Drowart A, Debie AS, Loch C and Mascart F. 2007. Regulatory T cells depress immune responses to protective antigens in active tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 176(4): 409-416.

(46) Chen X, Zhou B, Li M, Deng Q, Wu X, Le X, Wu C, Larmonier N, Zhang W, Zhang H, Wang H and Katsanis E. 2007. CD4(+)CD25(+)FoxP3(+) regulatory T cells suppress Mycobacterium tuberculosis immunity in patients with active disease. *Clin Immunol* 123(1): 50-59.

(47) Abdi K, Singh N and Matzinger P. 2006. T-cell control of IL-12p75 production. *Scand J Immunol* 64(2): 83-92.

(48) Corthay A. 2006. A three-cell model for activation of naive T helper cells. *Scand J Immunol* 64(2): 93-96.

(49) Aicher A, Hayden-Ledbetter M, Brady WA, Pezzutto A, Richter G, Magaletti D, Buckwalter S, Ledbetter JA and Clark EA. 2000. Characterization of human inducible costimulator ligand expression and function. *J Immunol* 164(9): 4689-4696.

- (50) Chambers CA. 2001. The expanding world of co-stimulation: the two-signal model revisited. *Trends Immunol* 22(4): 217-223.
- (51) Lenschow DJ, Walunas TL and Bluestone JA. 1996. CD28/B7 system of T cell costimulation. *Annu Rev Immunol* 14(233-258).
- (52) McDyer JF, Goletz TJ, Thomas E, June CH and Seder RA. 1998. CD40 ligand/CD40 stimulation regulates the production of IFN-gamma from human peripheral blood mononuclear cells in an IL-12- and/or CD28-dependent manner. *J Immunol* 160(4): 1701-1707.
- (53) Yang Y and Wilson JM. 1996. CD40 ligand-dependent T cell activation: requirement of B7-CD28 signaling through CD40. *Science* 273(5283): 1862-1864.
- (54) Sridevi K, Neena K, Chitralkha KT, Arif AK, Tomar D and Rao DN. 2004. Expression of costimulatory molecules (CD80, CD86, CD28, CD152), accessory molecules (TCR alphabeta, TCR gammadelta) and T cell lineage molecules (CD4+, CD8+) in PBMC of leprosy patients using Mycobacterium leprae antigen (MLCWA) with murabutide and T cell peptide of Trt protein. *Int Immunopharmacol* 4(1): 1-14.
- (55) Yamauchi PS, Bleharski JR, Uyemura K, Kim J, Sieling PA, Miller A, Brightbill H, Schlienger K, Rea TH and Modlin RL. 2000. A role for CD40-CD40 ligand interactions in the generation of type 1 cytokine responses in human leprosy. *J Immunol* 165(3): 1506-1512.
- (56) Gong JH, Zhang M, Modlin RL, Linsley PS, Iyer D, Lin Y and Barnes PF. 1996. Interleukin-10 downregulates Mycobacterium tuberculosis-induced Th1 responses and CTLA-4 expression. *Infect Immun* 64(3): 913-918.
- (57) Merlo A, Saverino D, Tenca C, Grossi CE, Bruno S and Ciccone E. 2001. CD85/LIR-1/ILT2 and CD152 (cytotoxic T lymphocyte antigen 4) inhibitory molecules down-regulate the cytolytic activity of human CD4+ T-cell clones specific for Mycobacterium tuberculosis. *Infect Immun* 69(10): 6022-6029.
- (58) Cocks BG, Chang CC, Carballido JM, Yssel H, de Vries JE and Aversa G. 1995. A novel receptor involved in T-cell activation. *Nature* 376(6537): 260-263.
- (59) Aversa G, Chang CC, Carballido JM, Cocks BG and de Vries JE. 1997. Engagement of the signaling lymphocytic activation molecule (SLAM) on activated T cells results in IL-2-independent, cyclosporin A-sensitive T cell proliferation and IFN-gamma production. *J Immunol* 158(9): 4036-4044.
- (60) Punnonen J, Cocks BG, Carballido JM, Bennett B, Peterson D, Aversa G and de Vries JE. 1997. Soluble and membrane-bound forms of signaling lymphocytic activation molecule (SLAM) induce proliferation and Ig synthesis by activated human B lymphocytes. *J Exp Med* 185(6): 993-1004.
- (61) Bleharski JR, Niazi KR, Sieling PA, Cheng G and Modlin RL. 2001. Signaling lymphocytic activation molecule is expressed on CD40 ligand-activated dendritic cells and directly augments production of inflammatory cytokines. *J Immunol* 167(6): 3174-3181.
- (62) Minagawa H, Tanaka K, Ono N, Tatsuo H and Yanagi Y. 2001. Induction of the measles virus receptor SLAM (CD150) on monocytes. *J Gen Virol* 82(Pt 12): 2913-2917.
- (63) Meroni L, Fusi ML, Varchetta S, Biasin M, Rusconi S, Villa ML, De Vries JE, Aversa G, Galli M and Clerici M. 1999. Altered signaling lymphocytic activation molecule (SLAM) expression in HIV infection and redirection of HIV-specific responses via SLAM triggering. *Clin Immunol* 92(3): 276-284.

- (64) Isomaki P, Aversa G, Cocks BG, Luukkainen R, Saario R, Toivanen P, de Vries JE and Punnonen J. 1997. Increased expression of signaling lymphocytic activation molecule in patients with rheumatoid arthritis and its role in the regulation of cytokine production in rheumatoid synovium. *J Immunol* 159(6): 2986-2993.
- (65) Carballido JM, Aversa G, Kaltoft K, Cocks BG, Punnonen J, Yssel H, Thestrup-Pedersen K and de Vries JE. 1997. Reversal of human allergic T helper 2 responses by engagement of signaling lymphocytic activation molecule. *J Immunol* 159(9): 4316-4321.
- (66) Kruse M, Meinl E, Henning G, Kuhnt C, Berchtold S, Berger T, Schuler G and Steinkasserer A. 2001. Signaling lymphocytic activation molecule is expressed on mature CD83+ dendritic cells and is up-regulated by IL-1 beta. *J Immunol* 167(4): 1989-1995.
- (67) Mikhalap SV, Shlapatska LM, Yurchenko OV, Yurchenko MY, Berdova GG, Nichols KE, Clark EA and Sidorenko SP. 2004. The adaptor protein SH2D1A regulates signaling through CD150 (SLAM) in B cells. *Blood* 104(13): 4063-4070.
- (68) Sayos J, Wu C, Morra M, Wang N, Zhang X, Allen D, van Schaik S, Notarangelo L, Geha R, Roncarolo MG, Oettgen H, De Vries JE, Aversa G and Terhorst C. 1998. The X-linked lymphoproliferative-disease gene product SAP regulates signals induced through the co-receptor SLAM. *Nature* 395(6701): 462-469.
- (69) Veillette A. 2002. The SAP family: a new class of adaptor-like molecules that regulates immune cell functions. *Sci STKE* 2002(120): PE8.
- (70) Howie D, Sayos J, Terhorst C and Morra M. 2000. The gene defective in X-linked lymphoproliferative disease controls T cell dependent immune surveillance against Epstein-Barr virus. *Curr Opin Immunol* 12(4): 474-478.
- (71) Nichols KE, Koretzky GA and June CH. 2001. SAP: natural inhibitor or grand SLAM of T cell activation? *Nat Immunol* 2(8): 665-666.
- (72) Czar MJ, Kersh EN, Mijares LA, Lanier G, Lewis J, Yap G, Chen A, Sher A, Duckett CS, Ahmed R and Schwartzberg PL. 2001. Altered lymphocyte responses and cytokine production in mice deficient in the Xlinked lymphoproliferative disease gene SH2D1A/DSHP/SAP. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98(13): 7449-7454.
- (73) Latour S, Gish G, Helgason CD, Humphries RK, Pawson T and Veillette A. 2001. Regulation of SLAM-mediated signal transduction by SAP, the X-linked lymphoproliferative gene product. *Nat Immunol* 2(8): 681-690.
- (74) Latour S, Roncagalli R, Chen R, Bakinowski M, Shi X, Schwartzberg PL, Davidson D and Veillette A. 2003. Binding of SAP SH2 domain to FynT SH3 domain reveals a novel mechanism of receptor signalling in immune regulation. *Nat Cell Biol* 5(2): 149-154.
- (75) Chan B, Lanyi A, Song HK, Griesbach J, Simarro-Grande M, Poy F, Howie D, Sumegi J, Terhorst C and Eck MJ. 2003. SAP couples Fyn to SLAM immune receptors. *Nat Cell Biol* 5(2): 155-160.
- (76) Davidson D, Shi X, Zhang S, Wang H, Nemer M, Ono N, Ohno S, Yanagi Y and Veillette A. 2004. Genetic evidence linking SAP, the Xlinked lymphoproliferative gene product, to Src-related kinase FynT in T(H)2 cytokine regulation. *Immunity* 21(5): 707-717.

- (77) Cannons JL, Yu LJ, Hill B, Mijares LA, Dombroski D, Nichols KE, Antonellis A, Koretzky GA, Gardner K and Schwartzberg PL. 2004. SAP regulates T(H)2 differentiation and PKC-theta-mediated activation of NF-kappaB1. *Immunity* 21(5): 693-706.
- (78) Yurchenko MY, Kashuba EV, Shlapatska LM, Sivkovich SA and Sidorenko SP. 2005. The role of CD150-SH2D1A association in CD150 signaling in Hodgkin's lymphoma cell lines. *Exp Oncol* 27(1): 24-30.
- (79) Hutloff A, Dittrich AM, Beier KC, Eljaschewitsch B, Kraft R, Anagnostopoulos I and Kroczeck RA. 1999. ICOS is an inducible T-cell co-stimulator structurally and functionally related to CD28. *Nature* 397(6716): 263-266.
- (80) van Berkel ME and Oosterwegel MA. 2006. CD28 and ICOS: similar or separate costimulators of T cells? *Immunol Lett* 105(2): 115-122.
- (81) Beier KC, Hutloff A, Dittrich AM, Heuck C, Rauch A, Buchner K, Ludewig B, Ochs HD, Mages HW and Kroczeck RA. 2000. Induction, binding specificity and function of human ICOS. *Eur J Immunol* 30(12): 3707-3717.
- (82) McAdam AJ, Chang TT, Lumelsky AE, Greenfield EA, Boussiotis VA, Duke-Cohan JS, Chernova T, Malenkovich N, Jabs C, Kuchroo VK, Ling V, Collins M, Sharpe AH and Freeman GJ. 2000. Mouse inducible costimulatory molecule (ICOS) expression is enhanced by CD28 costimulation and regulates differentiation of CD4+ T cells. *J Immunol* 165(9): 5035-5040.
- (83) Greenwald RJ, McAdam AJ, Van der Woude D, Satoskar AR and Sharpe AH. 2002. Cutting edge: inducible costimulator protein regulates both Th1 and Th2 responses to cutaneous leishmaniasis. *J Immunol* 168(3): 991-995.
- (84) Miyahira Y, Akiba H, Ogawa SH, Ishi T, Watanabe S, Kobayashi S, Takeuchi T, Aoki T, Tezuka K, Abe R, Okumura K, Yagita H and Watanabe N. 2003. Involvement of ICOS-B7RP-1 costimulatory pathway in the regulation of immune responses to *Leishmania major* and *Nippostrongylus brasiliensis* infections. *Immunol Lett* 89(2-3): 193-199.
- (85) Bonhagen K, Liesenfeld O, Stadercker MJ, Hutloff A, Erb K, Coyle AJ, Lipp M, Kroczeck RA and Kamradt T. 2003. ICOS+ Th cells produce distinct cytokines in different mucosal immune responses. *Eur J Immunol* 33(2): 392-401.
- (86) Wassink L, Vieira PL, Smits HH, Kingsbury GA, Coyle AJ, Kapsenberg ML and Wierenga EA. 2004. ICOS expression by activated human Th cells is enhanced by IL-12 and IL-23: increased ICOS expression enhances the effector function of both Th1 and Th2 cells. *J Immunol* 173(3): 1779-1786.
- (87) Pasquinelli V, Quiroga MF, Martinez GJ, Zorrilla LC, Musella RM, Bracco MM, Belmonte L, Malbran A, Fainboim L, Sieling PA and Garcia VE. 2004. Expression of signaling lymphocytic activation molecule-associated protein interrupts IFN-gamma production in human tuberculosis. *J Immunol* 172(2): 1177-1185.
- (88) Samten B, Howard ST, Weis SE, Wu S, Shams H, Townsend JC, Safi H and Barnes PF. 2005. Cyclic AMP response element-binding protein positively regulates production of IFN-gamma by T cells in response to a microbial pathogen. *J Immunol* 174(10): 6357-6363.

(89) Quiroga MF, Pasquinelli V, Martinez GJ, Jurado JO, Zorrilla LC, Musella RM, Abbate E, Sieling PA and Garcia VE. 2006. Inducible costimulator: a modulator of IFN-gamma production in human tuberculosis. *J Immunol* 176(10): 5965-5974.

(90) Quiroga MF, Jurado JO, Martinez GJ, Pasquinelli V, Musella RM, Abbate E, Issekutz AC, Bracco MM, Malbran A, Sieling PA, Chuluyan E and Garcia VE. 2007. Cross-talk between CD31 and the signaling lymphocytic activation molecule-associated protein during interferon- gamma production against *Mycobacterium tuberculosis*. *J Infect Dis* 196(9): 1369-1378.

**BOX 1.** Diferenciación TH1/TH2: Luego de que las células T se encuentran por primera vez en la periferia con el antígeno presentado por las CPA se inicia un proceso de diferenciación hacia las subpoblaciones Th1 y Th2, favoreciendo así la inducción de funciones inmunes celulares y humorales, respectivamente. Las células diferenciadas hacia un fenotipo Th1 secretarán IL-2, IFN- $\gamma$  y linfotóxina- $\alpha$  mientras que las células Th2 producirán IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 e IL-13. El proceso de diferenciación a Th1 o Th2 puede ser influenciado por la concentración y vía de administración del antígeno, el tiempo de interacción entre el receptor de la célula T (TCR) y el Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH)-péptido, el tipo de CPA y moléculas coestimuladoras presentes en las CPA y en linfocitos T, aunque los reguladores más potentes de la diferenciación Th son indudablemente las citoquinas. La IL-4 es la citoquina crítica producida por células Th2. Por otro lado, la IL-12, es el principal inductor del desarrollo de células efectoras Th1.

**Box 2.** Células T regulatorias: Varias poblaciones de células Treg capaces de controlar la respuestas T efectoras han sido descritas: las células T CD4<sup>+</sup> productoras de TGF- $\beta$  (Th3) y las células Treg CD4<sup>+</sup> (Tr1) productoras de altos niveles de IL-10. Las células Tr1 y Th3 pueden desarrollarse a partir de células T CD4<sup>+</sup> cuando son expuestas a condiciones estimuladoras específicas (Treg "inducibles"). Las Treg naturales son originadas a partir de precursores en el timo y comprenden el 5-10% del total de las CD4<sup>+</sup> periféricas. Los efectos supresores de las Treg naturales son mediados por contacto célula-célula, aunque esto no excluye algunas acciones mediadas por citoquinas.

### **Abreviaturas**

BCG	Bacilo de Calmette Guérin
CD	Células Dendríticas
CMH	Complejo Mayor de Histocompatibilidad
CPA	Célula presentadora de antígeno
CREB	Proteína de unión al elemento de respuesta al AMPc (CRE)
IFN- $\gamma$	Interferón gamma
IL	Interleuquina
ICOS	Coestimulador Inducible
NK	Células natural killer

PPD	Derivado Proteico Purificado
SLAM	Molécula Linfocitaria Activadora de Señales
SAP	Proteína Asociada a SLAM
Stat	Proteínas transductoras de señales y activadoras de la transcripción
T-Bet	T-Boy expresado en células T
TCR	Receptor de la célula T
Th	Linfocito T colaborador (Helper)
TLR	Receptores tipo Toll
TNF- $\alpha$	Factor de necrosis tumoral alfa
Treg	Células T regulatorias
XLP	Síndrome linfoproliferativo ligado al cromosoma X



ISSN 1666-7948

[www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar](http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar)

Revista **QuímicaViva**

Número 2, año 7, agosto 2008

[quimicaviva@qb.fcen.uba.ar](mailto:quimicaviva@qb.fcen.uba.ar)