

CÉLULAS DENDRÍTICAS: DE SU PASADO INADVERTIDO A SU POSIBLE UTILIDAD EN INMUNOTERAPIA

Jorge Flavio Mendoza Rincón, Isabel Soto Cruz,
Teresa Corona Ortega, Benny Weiss Steider

RESUMEN

Las células dendríticas tienen una función capital para iniciar la respuesta inmune dada su elevada capacidad para tomar antígenos y presentarlos en el contexto de moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC). Cuando células T vírgenes con receptores específicos para tales antígenos se encuentran con las células dendríticas en los órganos linfáticos se produce una excesiva proliferación y diferenciación de las células T. Esta capacidad inmunoestimuladora de las células dendríticas se está empleando en diversas investigaciones para inmunoterapia. El presente trabajo tiene como objetivo describir las principales características biológicas y funcionales de las células dendríticas destacando su utilidad clínica próxima futura.

Palabras Clave: *Células dendríticas, complejo principal de histocompatibilidad, inmunoterapia.*

Dendritic Cells: From their unperceived past to possible usefulness in Immunotherapy

ABSTRACT

Dendritic cells play a crucial role for initiation of immune response. They are able to take up an antigen efficiently and after processing, present it on their surface in association with MHC molecules. When naive T cells with receptors specific for the antigen encounter such presenting dendritic cells, they are stimulated to proliferate and to differentiate. Many on going investigations attempt to use these immunostimulating features for immunotherapy. The present article describes current characteristics of dendritic cell biology as well as possible use of these cells for immunotherapy.

Key Words: *Dendritic cells, Major histocompatibility complex, Immunotherapy.*

ARTÍCULO RECIBIDO EL 29 DE NOVIEMBRE DEL 2001 Y ACEPTADO EL 11 DE FEBRERO DEL 2002.

INTRODUCCIÓN

La función principal del sistema inmunológico es proteger y eliminar patógenos externos, células cancerígenas o células senescentes del organismo. En principio esta función es realizada por un sistema de vigilancia cuya función principal es de captura y presentación conocida como respuesta *inmune innata* que genera de manera posterior una respuesta celular y humoral específica que se conoce como respuesta *inmune celular*. La respuesta *inmune innata* es realizada primariamente por células fagocíticas cuya función es engullir y presentar en su superficie partes degradadas del organismo invasor, de células cancerígenas o de células envejecidas a los componentes celulares del sistema inmunológico que se encargarán de su eliminación posterior¹⁻³. A las células que se encargan de esta fagocitosis y presentación se les conoce como células presentadoras de antígenos profesionales (CPAP). Las células dendríticas pertenecen a este

grupo de células junto con los macrófagos, pero las primeras se distinguen de éstos últimos por su gran capacidad de presentación a células T y en particular a células T sin reto inmune previo conocidas como células T en reposo. Debido a estas dos propiedades exclusivas: su gran capacidad de presentación a células inmunes y en particular a células T en reposo, la función de las células dendríticas en la respuesta inmune innata se ha revalorizado considerablemente en términos de que tales características pueden utilizarse para despertar la respuesta inmune en el organismo; que en algunos casos como el cáncer se encuentra disminuida, ausente o anulada. De ahí pues el interés de desarrollar terapias utilizando a estas células del sistema inmune innato en lo que se ha llamado inmunoterapia o bioterapia, que puede ser empleada contra tipos específicos de cánceres, leucemias y otro tipo de padecimientos⁴⁻⁵. En esta monografía se analizarán las características biológicas y funciones que posibilitan el empleo de las células dendríticas como agentes excepcionales para ser empleados en inmunoterapia.

ORIGEN DE LAS CÉLULAS DENDRÍTICAS

Las células dendríticas se originan de células troncales presentes en la médula ósea de los mamíferos y que se conocen genéricamente como células madre (del inglés: stem cells). Las células madre tienen la capacidad de originar a todos los linajes de la sangre incluyendo a las células mieloides y linfoides. De hecho, las dos propiedades que distinguen a una célula madre son su capacidad de autorrenovación (con lo que se asegura su propia progenie) y de diferenciación (con lo que origina a todos los tipos sanguíneos conocidos). A partir de estos dos procesos de proliferación y diferenciación se genera a la célula progenitora de las células dendríticas de la que también derivan los macrófagos y que se denomina como célula progenitora de granulocitos y macrófagos (CFU-GM)⁶⁻⁹.

El desarrollo hacia células dendríticas a partir de la célula progenitora está bajo la influencia de proteínas conocidas como citocinas en particular de GM-CSF, IL-4 y TNF α . Aunque el origen de las células dendríticas es a partir de progenitores mieloides hay evidencias de que también pueden originarse de progenitores linfoides (Fig. 1).

MORFOLOGÍA

Las células dendríticas basan su nombre en su característica morfología que se distingue por presentar múltiples protuberancias en su membrana celular en forma de tentáculos que se incrementan considerablemente durante su maduración. De hecho, dada esta característica morfológica en forma de árbol fue que se nombraron como células dendríticas (*dendron*, del griego que significa árbol) (Fig. 2). Como puede seguirse a través de un microscopio invertido, las células dendríticas muestran una considerable plasticidad morfológica ya que durante su generación *in vitro* pasan de un estado inmaduro no adherente a la adherencia completa cuando están en presencia de las citocinas GM-CSF e IL-4; pero cuando se induce su

maduración con la citocina TNF α se convierten nuevamente en células no adherentes que se caracterizan por tener múltiples plegamientos en su membrana en forma de vellosos o tentáculos⁸⁻⁹. Estas diferencias en morfología entre formas inmaduras y maduras que presentan las células dendríticas *in vitro* probablemente reflejen lo que ocurre *in vivo*: las células inmaduras se distribuyen en la periferia donde migran hacia los tejidos, mientras que las formas maduras con sus tentáculos establecen fuertes contactos con otras células, especialmente con células T que se encuentran en grandes cantidades en las áreas ricas de los nódulos linfáticos.

DISTRIBUCIÓN EN EL ORGANISMO

Una vez que las células dendríticas se han desarrollado de progenitoras hematopoyéticas a partir de células madre de la médula ósea, salen al torrente sanguíneo donde se encuentran en diferentes estados de maduración que se distinguen por la presencia de moléculas de superficie en las células dendríticas, así como por realizar funciones específicas. De hecho, por el empleo de técnicas inmunológicas se ha descrito que las células madre presentan en su superficie el antígeno de diferenciación celular denominado CD34, mientras que las progenitoras de las células dendríticas presentan los antígenos CD14 y CD1a, las formas más maduras expresan casi exclusivamente los antígenos CD86 y CD83 (Fig. 3)¹⁰⁻¹³. Esta característica es de gran utilidad, ya que en la discriminación de estos antígenos de superficie se basa la separación y aislamiento de las células dendríticas que pueden obtenerse de muestras de médula ósea, de sangre periférica o de cordón umbilical. Una observación que destaca en el esquema anterior es que las células dendríticas inmaduras se localizan preferentemente en órganos no linfáticos, aquí es importante señalar que entre las células dendríticas inmaduras destacan las células de Langerhans que se encuentran en piel y que fueron descritas desde 1868. Sin embargo, su función en la presentación de antígenos no pudo ser reconocida

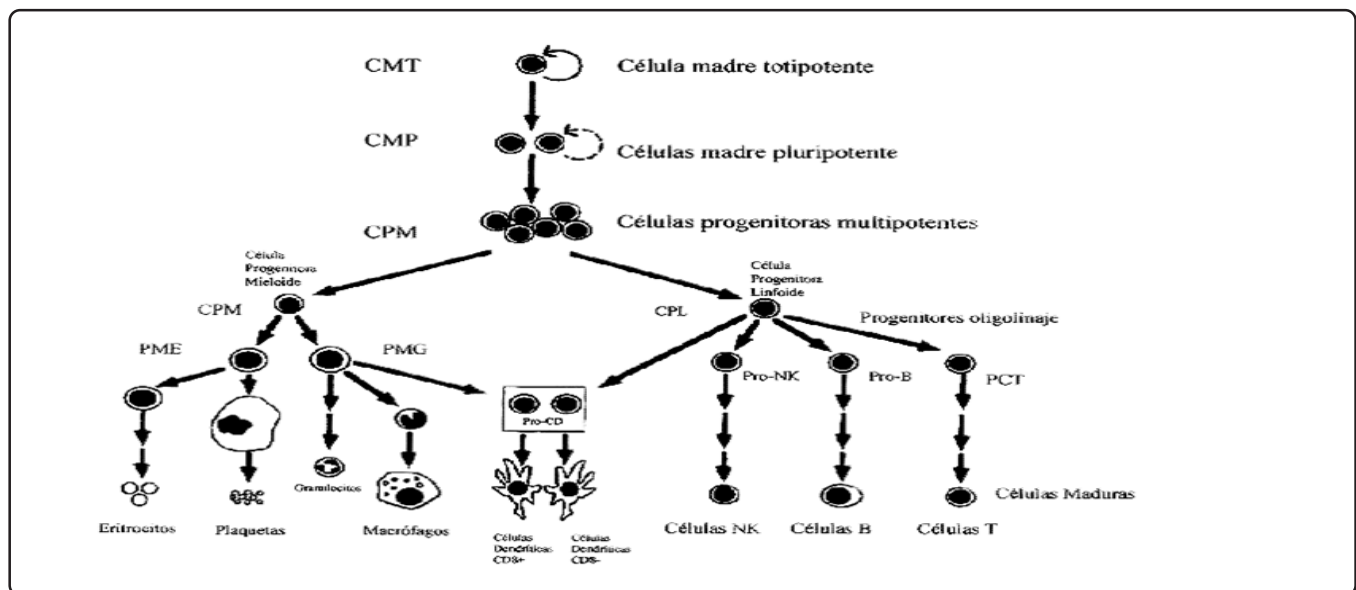


Figura 1.

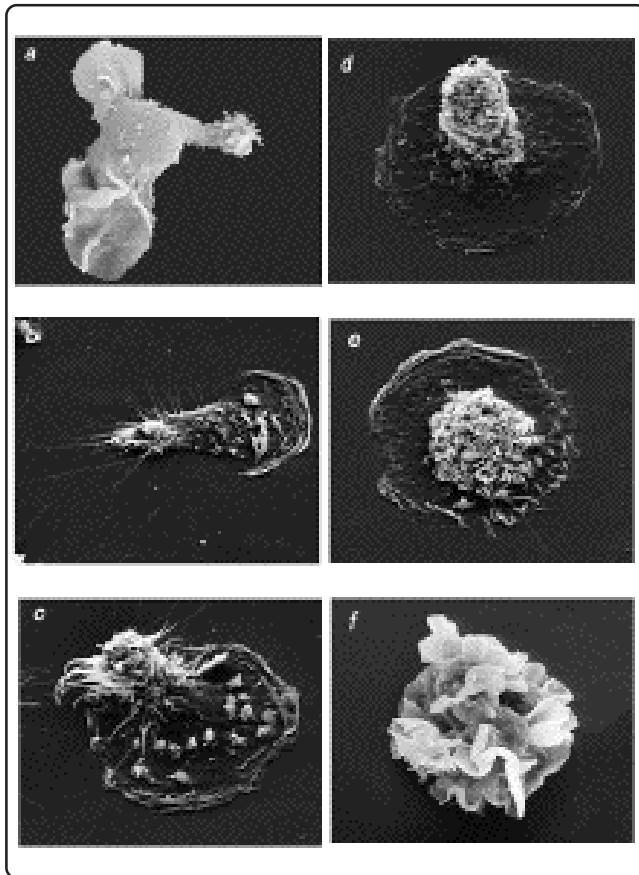


Figura 2.

en aquel tiempo. Las células dendríticas inmaduras se distinguen por su capacidad de engullir antígenos externos principalmente por pinocitosis por la que pueden tomar antígenos solubles como proteínas, pero si se trata de antígenos en forma de partículas como bacterias o restos celulares lo hacen por fagocitosis

(Fig. 4). Una vez que las células dendríticas ha engullido los antígenos se inicia un proceso de maduración de las mismas y comienza su migración hacia los órganos linfáticos como el bazo y los nódulos linfáticos (Fig. 3). Así, a través de este proceso las células dendríticas son las responsables del transporte de los antígenos desde la periferia del organismo hacia el interior de las áreas ricas en células T de los órganos linfáticos. Es así que se inicia la presentación de los antígenos a células T en reposo y a células T de memoria. Como se comentó inicialmente la característica de presentar antígenos a células T en reposo es exclusiva de las células dendríticas, ya que a través de esta propiedad se desencadena una respuesta inmune específica¹⁴⁻¹⁷. De ahí el interés que ha despertado el empleo de las células dendríticas en inmunoterapia, ya que literalmente pueden utilizarse como vacunas para inducir respuestas específicas en diferentes tipos de padecimientos incluido el cáncer.

FUNCIÓN EN LA RESPUESTA INMUNE

Como ya se ha mencionado las proteínas antigénicas no pueden ser reconocidas de manera directa por los receptores de antígenos que se encuentran en las células T. Para llevarse a cabo este reconocimiento es necesario que el antígeno una vez engullido sea procesado y degradado por enzimas proteolíticas que se encuentran en el interior de la célula. Finalizado este proceso el antígeno es presentado en la superficie de la célula presentadora en unión a receptores del MHC. Estos receptores son moléculas que pertenecen al complejo principal de histocompatibilidad (MHC). Existen dos principales clases de moléculas de MHC: Las moléculas de MHC clase I y las MHC de clase II: Las MHC de clase I se encargan de la presentación de péptidos endógenos procesados internamente, a células T citotóxicas o linfocitos T CD8⁺. Por otra parte, antígenos tomados en el exterior se presentan por moléculas de MHC clase II después de haber sido procesados internamente en vesículas lisosomales, a células T auxiliares o linfocitos T CD4⁺. Es importante señalar que

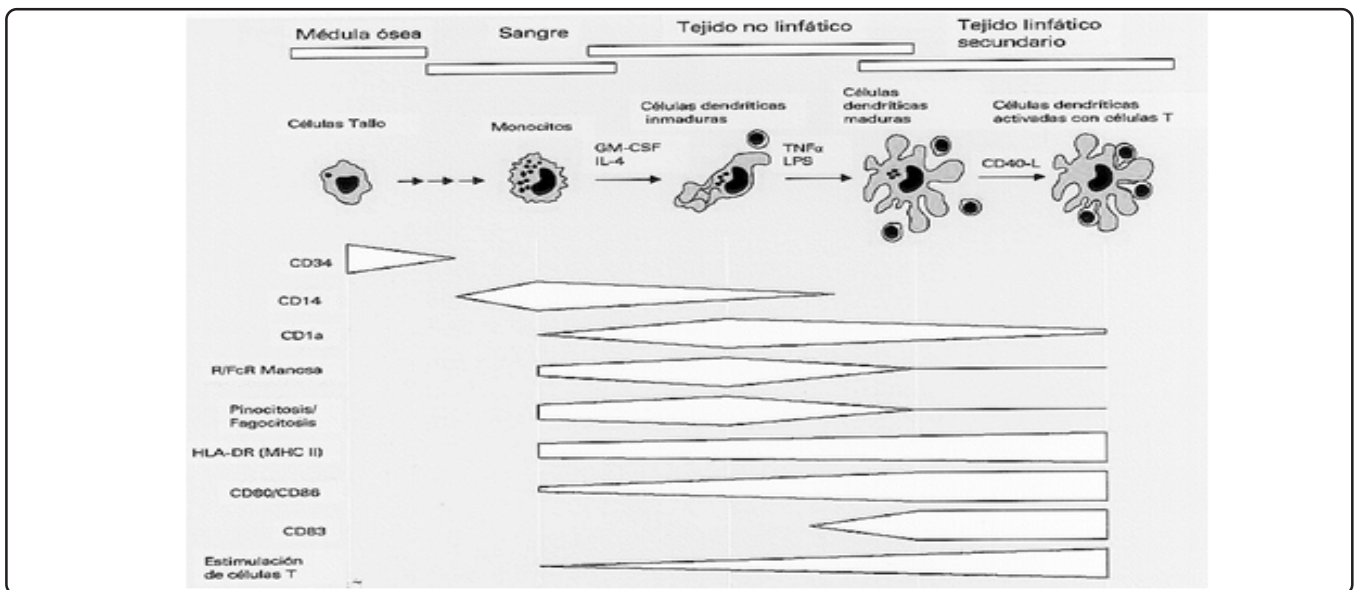


Figura 3.

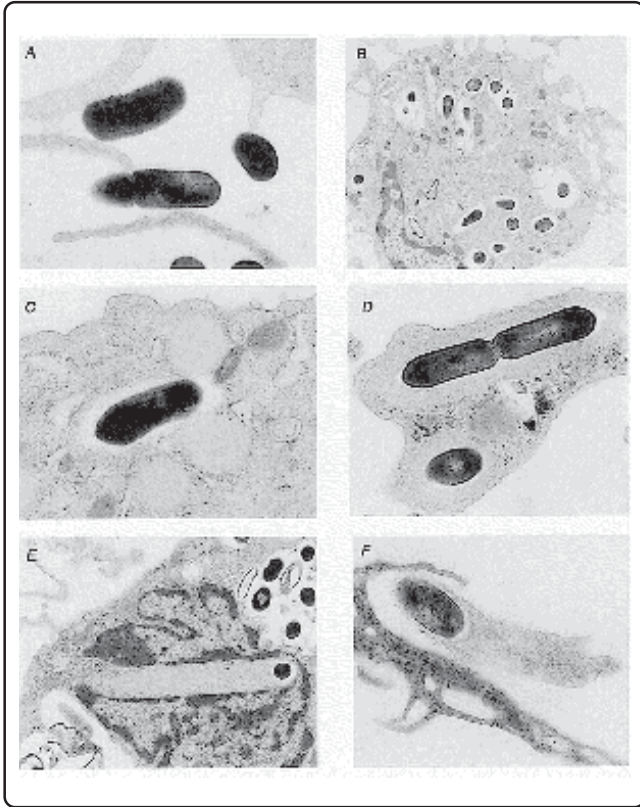


Figura 4.

ambos tipos de receptores, MHC de clase I y clase II, están presentes en células dendríticas en elevadas densidades, lo que no acontece con otro tipo de células presentadoras profesionales como macrófagos o células B. Una vez que ha terminado este proceso de toma de antígeno las células dendríticas migran hacia órganos linfáticos donde completan su diferenciación e inician su interacción con células T. Una de las características de madurez de las células dendríticas es su falta de capacidad para tomar y procesar antígenos, ya que en su estado de diferenciación completa pierden esta habilidad. La razón principal es que ahora las células dendríticas se ocuparán de estimular respuestas específicas antigénicas en células T. De hecho, en este estado de madurez las células dendríticas expresan elevados niveles de moléculas de MHC clase I y clase II, así como moléculas coestimuladoras sobre su superficie⁶⁻⁹. La presencia de estas moléculas es fundamental para estimular la activación y proliferación de células T; se ha demostrado que la interacción entre los péptidos antigénicos presentados por moléculas de MHC clase I y clase II y reconocidos por receptores en células T no es suficiente para el estímulo y proliferación de células T. Ya que si no se expresan moléculas coestimuladoras como el CD86 y el CD83 en las células dendríticas éstas no activan ni estimulan la proliferación de células T. Por esta razón, las células dendríticas son conocidas como “células presentadoras de antígenos profesionales” (CPAP), ya que presentan las señales coestimuladoras necesarias adicionales a las de presentación de péptidos por moléculas de MHC a células T que no han sido expuestas a reto inmune previo. De acuerdo

con esto y por evidencias experimentales se tiene que las células dendríticas son las únicas células capaces de estimular a células CD4⁻ en reposo y a células T CD8⁺ que no han estado en contacto con antígeno alguno de manera previa. Por estas propiedades las células dendríticas son excelentes candidatas para emplearse como vacunas biológicas en la inmunoterapia contra diferentes tipos de padecimientos.

GENERACIÓN *IN VITRO*

Dado el enorme interés clínico del empleo de células dendríticas para inmunoterapia se han desarrollado diferentes protocolos para generarlas en cultivos *in vitro*. Aunque uno de los principales obstáculos ha sido la escasa disponibilidad de progenitores de células dendríticas en fluidos como la sangre o en tejidos como la médula ósea. Sin embargo, recientemente se han desarrollado cultivos de este tipo de células utilizando citocinas del tipo del factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF), interleucina-4 (IL-4) y factor de necrosis tumoral α (TNF α), a partir de sangre periférica humana (Fig. 2). De hecho, en sangre periférica se ha demostrado que los precursores de las células dendríticas están presentes en pequeñas cantidades (menos del 0.5% del total de células con núcleo en sangre), en la fracción que comprende a las células mononucleares. También es posible generar células dendríticas a partir de células madre hematopoyéticas CD34 positivas (CD34⁺) de médula ósea y de cordón umbilical. Como se comentó con anterioridad la presencia de GM-CSF e IL-4 son importantes para la generación de las células dendríticas, pero las células que se generan son inmaduras mostrando una gran variabilidad en su morfología (Fig. 2)^{8,9}. La total maduración de las células dendríticas se logra al cultivarlas en presencia de TNF α y esto se demuestra por su clásica morfología en forma de árbol. Para corroborar que la madurez de las células dendríticas se ha logrado, se puede seguir el proceso de diferenciación por citometría de flujo (FACS), ya que se puede detectar la diferente expresión de moléculas de superficie en células dendríticas inmaduras versus maduras (Fig. 3). Aunque como ya mencionamos también existen diferencias funcionales y fisiológicas en su capacidad para tomar y presentar antígenos dependiendo de su estado de madurez.

USO EN INMUNOTERAPIA

Dadas las características funcionales y fisiológicas ya descritas que presentan las células dendríticas y su capacidad exclusiva de activar las funciones efectoras de células T CD4⁺ en reposo y de células T CD8⁺ sin reto inmune previo, se tiene que las células dendríticas pueden ser utilizadas como vacunas para inmunoterapia¹⁻³. De hecho, para generar este tipo de vacunas empleando a las células dendríticas puede ser a través de exponer a estas células a antígenos específicos como pueden ser células tumorales completas, DNA o RNA de células tumorales, así como el empleo de algunos vectores virales como los adenovirus¹⁸⁻²¹. La forma más idónea de selección de la mejor estrategia de exposición para generar la vacuna utilizando a las células dendríticas está en función de varios factores. Entre

éstos se encuentran la disponibilidad del antígeno, la naturaleza antigénica del mismo, su accesibilidad al tumor y la cantidad presente en el tejido, entre otros. Cualquiera que sea el caso, la gran versatilidad que tienen las células dendríticas para tomar antígenos solubles o en partículas favorece y su elevada capacidad de presentación a células del sistema inmune hacen prever su empleo en el futuro inmediato para generar una respuesta inmune altamente específica.

UTILIDAD CLÍNICA

Aquí se resume el empleo de estas células en diferentes tipos de enfermedades:

Cáncer

El empleo de células dendríticas para la terapia contra el cáncer ha despertado mucho interés. Esto es como consecuencia de que en modelos animales se ha demostrado la posibilidad de generar células T citotóxicas después de transfundir células dendríticas previamente pulsadas con antígenos de tumores específicos. También en humanos existen resultados interesantes sobre todo en linfoma folicular de células B no-Hodgkin's, en melanoma, en cáncer de próstata, en mieloma múltiple y en cáncer renal²²⁻²³.

Enfermedad injerto contra Huésped

Aquí sobre todo se trata de aprovechar el efecto observado conocido como efecto injerto contra leucemia. Se ha observado que pacientes con leucemia mieloide aguda (LMA) y leucemia linfocítica aguda (LLA) que reciben trasplante de médula ósea alogénico desarrollan células T citotóxicas que presentan el efecto anti-leucemia. Es decir, las células de médula ósea transplantada son capaces de eliminar a las células leucémicas del huésped. Sin embargo, las células T citotóxicas generadas no tienen especificidad alguna presentándose los síntomas de la enfermedad injerto contra huésped. Es por ello, que se pretende utilizar a las células dendríticas como mediadoras de una respuesta inmune específica, enseñando a las células T citotóxicas una respuesta particular a través de la presentación de un péptido o antígeno de leucemia mieloide aguda o leucemia linfocítica aguda¹⁴⁻¹⁷.

Trasplante de órganos

Aquí se pretende aprovechar la capacidad de las células dendríticas presentes en el órgano trasplantado de inducir tolerancia inmunológica sobre el sistema inmune del huésped. Se ha observado, que esto precisamente ocurre con el trasplante de corazón, en donde la presencia de células dendríticas en el trasplante generan esta tolerancia. Ya que si éstas son eliminadas del trasplante se produce el rechazo del injerto por parte del huésped. Se cree que esto se debe a la presencia de células dendríticas inmaduras presentes en el trasplante que migran hacia los órganos linfáticos del huésped donde al no presentar moléculas coestimuladoras provocan en el huésped un fenómeno de tolerancia hacia los antígenos del donador. Esto que se ha observado en pruebas de laboratorio en animales puede ser una estrategia en un futuro próximo para ser empleada en humanos⁴³.

ENFERMEDADES AUTOINMUNES

Debido a que en este tipo de padecimientos existe una activación permanente de células T contra antígenos propios en la que se ha observado una participación activa de células dendríticas, ya sea presentando los antígenos o auxiliando en algunas otras funciones efectoras a las células T autoreactivas. Por lo menos este es el caso de la artritis reumatoide, en donde se ha observado que las células dendríticas toman tejidos sinovial en las articulaciones y después migran hacia los nódulos linfáticos primarios en donde se encuentran las células T autorreactivas. Estas células una vez activadas generan otras respuestas en la que participan células B y células T auxiliares, generando respuestas específicas contra antígenos propios. Es por ello, que si se logra bloquear la participación de las células dendríticas en este proceso de activación, es probable que se eliminen las células T autorreactivas y con ello se disminuya el efecto autoinmune²¹.

PERSPECTIVAS

El descubrimiento de las células dendríticas, su purificación, su propagación *in vitro*, así como la demostración de su extraordinaria capacidad para estimular a células T sin reto inmune, permite considerarlas como agentes con una gran utilidad en protocolos de inmunoterapia para el combate de ciertos tipos de cáncer, trasplante de tejidos, infecciones virales y enfermedades autoinmunes. Para lograr que la capacidad de las células dendríticas en inmunoterapia sea mucho más eficaz y específica, queda como trabajo futuro la identificación de antígenos tumorales precisos y el aseguramiento de una inmunidad protectora generada en los pacientes en los que el empleo de las células dendríticas tenga como finalidad la inmunoterapia. En cualquier caso, estas células tienen asegurado un papel importante en las nuevas estrategias que se emplean en la actualidad con fines terapéuticos.

REFERENCIAS

1. Bayley I, Edward Jenner (1749-1823): naturalist, scientist, country doctor, benefactor to mankind. *J Med Biog* 1996; 63-70.
2. Oettgen H, Old L. The history of cancer immunotherapy. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds. *Principles of Cancer Biotherapy*. 2nd ed. New York, Marcel Dekker; 1991: 87-119.
3. Levitin N. Progress in the development of an HIV-1 vaccine. *Science* 1998; 280: 1875-1879.
4. Sutherland C. The immunology of peripheral stem cell transplantation. In: Buchsel P, Kapustay P, eds. *Stem Cell Transplantation: A Clinical Textbook*. Pittsburgh, Pa: Oncology Nursing Press, Inc.; 2000: 2.3-2.23.
5. Lewis S. Inflammation and infection. In: Lewis S, Heitkemper M, Dirksen S, eds. *Medical-Surgical Nursing: Assessment and Management of Clinical Problems*. St. Louis, Mo: Mosby; 2000: 189-211.
6. Tew J, Kapasi Z, Qin d, Wu J, Haley S, Szakal A. In: Lotze M, Thomson A, eds. *Dendritic Cells: Biology and Clinical Applications*. San Diego, Calif: Academic Press; 1999: 51-62.
7. Hart D. Dendritic cells: unique leukocyte populations which control the primary immune response. *Blood* 1997; 90: 3245-3287.

VERTIENTES

8. Banchereau J, Steinman R. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998;392:245-252.
9. Holt P, Stumbles P. Regulation of immunologic homeostasis in peripheral tissues by dendritic cells: the respiratory tract a paradigm. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:421-429.
10. Tjoa B, Lodge P, Salgaller M, Boynton A, Murphy G. Dendritic cell-based immunotherapy for prostate cancer. *CA Cancer J Clin* 1999;49:117-128.
11. Mule J. Dendritic cells: at the clinical crossroads. *J Clin Invest* 2000;105:707-708.
12. Avigan D. Dendritic cells: development, function and potential use for cancer immunotherapy. *Blood Rev* 1999;13:51-64.
13. Steinman R, Banchereau J. Introduction. In Lotze M, Thomson A, eds. *Dendritic Cells: Biology and Clinical Applications*. San Diego, Calif: Academic Press; 1999:xxiii-xxvii.
14. Luyckx-de Bakker S, de Gruijl T, Scheper R, Wagstaff J, Pinedo H. Dendritic cells: a novel therapeutic modality. *Ann Oncol* 1999;10:21-27.
15. Tarte K, Klein B. Dendritic cell-based vaccine: a promising approach for cancer immunotherapy. *Leukemia* 1999;13:653-663.
16. Palucka K, Fay J, Banchereau J. Dendritic cells and tumor immunity. *Curr Opin Oncol Endocr Metab Investig Drugs* 1999;1:282-290.
17. Baar J. Clinical applications of dendritic cell cancer vaccines. *Oncologist* 1999;4(82):140-144.
18. Kietscher S, Luo J, Roth M. Tumors promote altered maturation and early apoptosis of monocyte-derived dendritic cells. *J Immunol* 2000;164:1269-1276.
19. Narita M, Takahashi M, Liu A, Ayres F, Satoh N, Abe T, Nikkuni K, Furokawa T, Toba K, Aizawa Y. Generation of dendritic cells from leukemia cells of a patient with acute promyelocytic leukemia by culture with GM-CSF, IL-4 and TNF-alpha. *Acta Haematol* 2001;106(3):89-94.
20. Soling A, Rainov NG. Dendritic cell therapy of primary brain tumors. *Mol Med* 2001;7(10):659-697.
21. Blanco P, Palucka AK, Gill M, Pascual V, Banchereau J. Induction of dendritic cell differentiation by INF-alpha in systemic lupus erythematosus. *Science* 2001;294(5546):1540-1543.
22. Zavadova E, Savary CA, Templin S, Verschraegen CF, Freedman RS. Maturation of dendritic cells from ovarian cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol* 2001;48(4):289-296.
23. Kim KD, Choi SC, Kim A, Choe Yk, Choe IS, Lim JS. Dendritic cell-tumor coculturing vaccine can induce antitumor immunity through both NK and CTL interaction. *Int Immunopharmacol* 2001;1(12):2117-2129.