

II. Participación del factor de transformación tumoral- β en la regulación de la inflamación y la respuesta inmunológica

Rogelio Hernández-Pando*

Introducción

Los factores de transformación tumoral beta (TGF- β) son una familia de citocinas con actividades multifuncionales que regulan diversos eventos en el desarrollo embrionario, la carcinogénesis, la inflamación, la regeneración tisular, la cicatrización y la respuesta inmunológica.¹ En los mamíferos existen tres isoformas de TGF- β , de las cuales predomina el TGF- β -1 que es producido por diversas células del sistema inmunológico, incluidos linfocitos, monocitos, macrófagos y células dendríticas.² El TGF- β producido por estas células participa en la atracción quimiotáctica de células inflamatorias y en la activación o supresión de las mismas, dependiendo de la concentración local de esta citocina y del grado de diferenciación de las células blanco.² La producción y activación excesiva del TGF- β se ha relacionado con inmunosupresión en diversas enfermedades autoinmunes, neoplásicas e infecciosas.^{1,2} El conocimiento sobre las funciones del TGF- β en modelos experimentales tanto *in vitro* como *in vivo* sugieren la posibilidad de nuevas estrategias terapéuticas fundamentadas en la modulación de esta familia de citocinas.

Participación del TGF- β en el reclutamiento y activación de células inflamatorias

El TGF- β es un factor esencial en la regulación de la respuesta inflamatoria desde su inicio hasta su total resolución.³ El proceso de inflamación y reparación tisular se caracteriza por el reclutamiento ordenado y progresivo de células inflamatorias, empezando por las plaquetas, seguido por la emigración de neutrófilos, macrófagos y linfocitos, para concluir con la participación de los fibroblastos.³ La agregación y degranulación plaquetaria son de los eventos más tempranos en la respuesta inflamatoria, durante ésta hay una importante liberación de mediadores inflamatorios, incluido el TGF- β que es almacenado en los gránulos plaquetarios alfa. En esta fase inicial de la inflamación existen bajas concentraciones de TGF- β (fentogramos), que participan eficientemente en la quimiotaxis de mono-

citocitos y linfocitos sanguíneos.⁴ Al progresar la respuesta inflamatoria hay una mayor cantidad de células participantes que constituyen otra fuente de TGF- β , por lo cual aumenta su concentración (picomoles). En estas concentraciones, el TGF- β activa a los monocitos, incrementando la expresión genética de citocinas proinflamatorias como la interleucina 1 (IL-1), el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y el factor de crecimiento liberado de plaquetas, entre otras.⁵ Cada una de estas citocinas tiene a su vez importantes funciones promotoras de la inflamación y activación de la respuesta inmunológica, por lo tanto se considera que durante el proceso inflamatorio, la participación proinflamatoria del TGF- β es indirecta, ya que es mediada a través de la atracción y activación de monocitos para que éstos, a su vez generen otras citocinas que magnifican la respuesta inflamatoria. También es durante estas etapas de la inflamación cuando el TGF- β participa en el inicio de la regeneración y cicatrización del tejido lesionado, al atraer quimiotácticamente y activar a fibroblastos y células endoteliales.⁶ Otro aspecto de importancia en este proceso es el control autocrino que tiene el TGF- β que consiste en inducir su propia producción actuando sobre todo en monocitos.⁷

Si el efecto proinflamatorio que tiene el TGF- β al inicio de la inflamación fuera constante, éste se convertiría en un mecanismo de lesión tisular, debido al continuo reclutamiento y activación de células inflamatorias. Sin embargo, la misma respuesta inflamatoria está dotada de mecanismos que suprimen las respuestas proinflamatorias y así evitan la inflamación excesiva que es capaz de producir daño tisular. Cuando la inflamación es extensa existen muchas células que producen TGF- β induciendo altas concentraciones de esta citocina (nanomoles). Cuando el TGF- β alcanza estas concentraciones actúa como una citocina antiinflamatoria tal vez porque en este momento existen células macrofágicas más diferenciadas que se desactivan ante la exposición a altas concentraciones de TGF- β .⁸ Por lo tanto, el efecto regulador del TGF- β en la inflamación es dependiente de sus concentraciones y del grado de maduración de sus células blanco. Otro mecanismo de control es la maduración bioquímica que esta citocina sufre durante su

*Sección de Patología Experimental, Departamento de Patología. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán". Correspondencia y solicitud de sobretiros: Dr. Rogelio Hernández-Pando, Calle Vasco de Quiroga, 15. 14000, Tlalpan, México DF. Tel.: 5254 853491. Número de Fax: 52-56-55-10-76 E-mail: rhdezpando@hotmail.com o rhpando@quetzal.innsz.mx

producción. El TGF- β es producido en su forma latente, la cual es biológicamente inactiva porque no puede asociarse a sus receptores celulares. El TGF- β latente está unido de forma no covalente a una glicoproteína de 75 kD y debe ser escindido enzimáticamente para dar origen al TGF- β activo. La actividad biológica del TGF- β es también controlada por otras citocinas, factores de crecimiento y hormonas, las cuales también están presentes en el microambiente de la respuesta inflamatoria.⁹

Efectos del TGF- β sobre la respuesta inmunológica

El TGF- β es una citocina única entre las interleucinas ya que suprime eficientemente la inmunidad celular actuando en varios niveles.² Como sucede con muchos otros tipos celulares, el TGF- β inhibe la proliferación de linfocitos, especialmente T maduros que ya han sido activados,¹⁰ mientras que los linfocitos T vírgenes o no activados son relativamente resistentes al efecto anti-mitogénico del TGF- β . Por lo tanto, como sucede con los monocitos, el efecto del TGF- β es altamente dependiente del grado de diferenciación celular de los linfocitos.²

También hay relación con el subtipo de linfocito, puesto que el efecto inhibitorio del TGF- β es considerablemente mayor en las células CD-4 que en las CD-8.¹¹ El TGF- β también inhibe la proliferación de los linfocitos B, les induce muerte celular por apoptosis¹² y suprime la diferenciación y actividad citolítica de las células NK y T.¹²

Otro efecto inhibitorio del TGF- β es la supresión de la expresión de las moléculas clase II del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) en macrófagos,¹³ con lo cual interfiere en el proceso de presentación antigénica evitando la activación de los linfocitos T. El resultado más importante de esta interferencia es la inhibición de la secreción de interleucina 2 (IL-2), que es un factor inductor de proliferación celular. De hecho, se considera que éste es el principal mecanismo por el cual el TGF- β inhibe la proliferación linfocitaria. Otra citocina mitogénica de linfocitos T y activadora de macrófagos es la interleucina 1 (IL-1). El TGF- β también inhibe su producción de manera directa e indirecta a través de suprimir la expresión de su receptor específico y al mismo tiempo aumentar la liberación del receptor soluble antagonista de IL-1, cuya función es atrapar y evitar la unión de esta citocina con su receptor.¹⁴

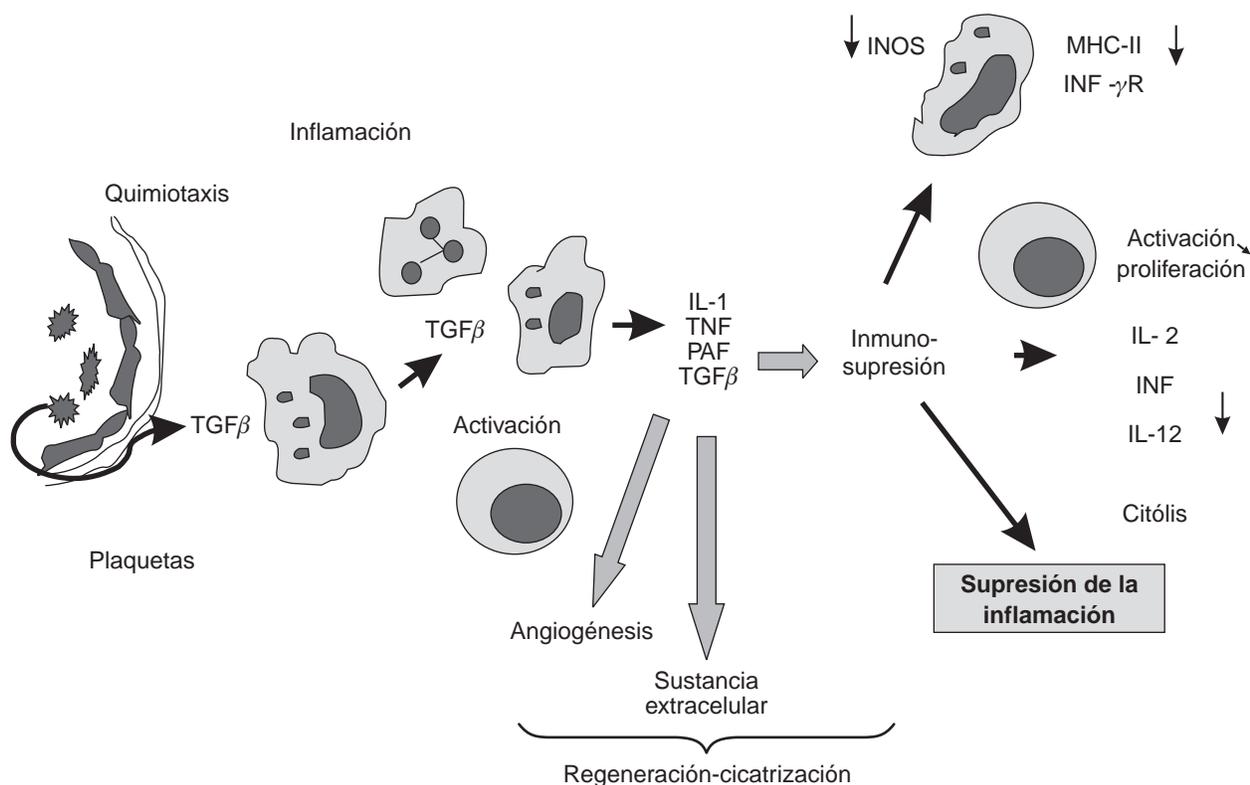


Figura 1. Participación del TGF- β en la inflamación e inmunomodulación. Al inicio de la inflamación las plaquetas liberan cantidades femtomolares de TGF- β , que por quimiotaxis atraen a los monocitos, los cuales producen TGF- β en concentraciones picomolares que a su vez estimulan la producción de citocinas proinflamatorias y de esta manera inducen regeneración y cicatrización tisular. Cuando la inflamación es intensa, el TGF- β es producido en concentraciones nanomolares que actúan suprimiendo la inflamación y la respuesta inmunológica.

Uno de los efectos fundamentales del TGF- β sobre el sistema inmunológico es la desactivación de los macrófagos, la cual puede llevarse a cabo a través de la inhibición directa de la producción de radicales libres de oxígeno y óxido nítrico, o de forma indirecta al suprimir la producción de citocinas activadoras de macrófagos como el TNF- α y el INF- γ y sus receptores.^{15,16} Para la producción de óxido nítrico es necesario que el TNF- α y el INF- γ activen la enzima óxido nítrico sintetasa inducible y el TGF- β inhibe tanto la transcripción como la traducción del gen que codifica esta enzima.¹⁷ Por otro lado, el INF- γ activa a los macrófagos como parte de la respuesta Th-1 y uno de los efectos inmunosupresores más eficientes del TGF- β es inhibir la producción de INF- γ y de su receptor expresado en la membrana de macrófagos.¹⁶ El TGF- β es un eficiente promotor de citocinas Th-2, particularmente de interleucina 10.¹⁸⁻²⁰ De hecho existe un subtipo especial de linfocito T el cual además de producir IL-4 e IL-10 (como las células Th-2) también secreta TGF- β , a esta subpoblación se le denomina Th-3 y está capacitada especialmente para suprimir las respuestas de inmunidad celular, además de ser la base de la tolerancia inmunológica de antígenos administrados por vía oral.²¹ Recientemente se han descrito las células T reguladoras CD4+CD25+ que al contactar con la membrana de linfocitos CD4 o CD8 suprimen su actividad a través del TGF- β .³³

Contribución del efecto inmunosupresor del TGF- β en la patogenia de enfermedades infecciosas

La producción sostenida y excesiva de TGF- β se ha sugerido como un factor patogénico en la fibrosis y el daño tisular presente en diferentes enfermedades.¹ Además de este efecto inductor de fibrosis existe anergia de la inmunidad celular, en varias enfermedades inflamatorias crónicas como la artritis reumatoide, lepra y tuberculosis y ésta también se ha atribuido, al menos en parte, a la excesiva producción de TGF- β .^{1,2,22} Este mecanismo patogénico es apoyado, por un lado, por las observaciones realizadas en animales transgénicos con sobreexpresión del gen de TGF- β en los cuales se observa intensa inmunosupresión y, por el otro, por la extensa inflamación multifocal que presentan los ratones con disrupción del gen que codifica al TGF- β 1.²³ En modelos animales de infecciones por gérmenes intracelulares facultativos como leishmaniasis y tripanosomiasis, se ha observado que hay un exceso en la producción de TGF- β y que esto favorece la progresión incontrolable de la enfermedad.^{24,25} En leishmaniasis y filariasis humana también se ha documentado la participación del TGF- β en la inducción de la inmunosupresión.^{26,27} En relación con infecciones virales, se ha observado que la inmunodeficiencia progresiva durante el SIDA se asocia a incremen-

to paulatino del TGF- β ²⁸ y en los casos de coinfección HIV y *M. tuberculosis* hay un efecto potenciador sinérgico en la producción del TGF- β lo cual incrementa la actividad viral y acelera la enfermedad.^{28,29}

El *Mycobacterium tuberculosis*, sus derivados proteicos purificados (PPD) y algunos de sus componentes moleculares como lipoarbinomano inducen a los macrófagos a producir y secretar grandes cantidades de TGF- β .²² La participación de INF- γ es fundamental para activar a los macrófagos como parte de la respuesta Th-1, la cual es esencial en el control de enfermedades infecciosas producidas por gérmenes intracelulares facultativos, como la tuberculosis y la leishmaniasis.³⁰ Debido a que el TGF- β es un eficiente bloqueador de la producción de INF- γ y al mismo tiempo induce la producción de citocinas Th2,¹⁸⁻²⁰ favorece la progresión de la enfermedad. En realidad, es probable que en este tipo de enfermedades infecciosas el TGF- β pueda tener una función dual, que por un lado estimule el reclutamiento y activación de células inflamatorias y por el otro inhiba a la inflamación y la activación de linfocitos T y macrófagos. El fino balance de la liberación y activación del TGF- β (durante el proceso infeccioso e inflamatorio) y la relación entre sus concentraciones y el grado de diferenciación de los diferentes tipos celulares con los que interactúa, determinarán que la respuesta infamatoria e inmunológica sea o no adecuada. En modelos experimentales de tuberculosis pulmonar y en la enfermedad humana activa se ha demostrado una alta producción de TGF- β ,^{31,32} lo cual coincide con disminución de la actividad inmunológica protectora mediada por las citocinas producidas por los linfocitos Th-1 (INF- γ , IL-2) y el TNF- α . Estudios *in vitro* han demostrado que la anergia de la inmunidad celular que generalmente existe en pacientes con tuberculosis pulmonar activa puede ser corregida con la administración de anticuerpos bloqueadores o bloqueadores naturales del TGF- β , lo cual reduce significativamente el crecimiento intracelular del bacilo tuberculoso.³² Experimentos *in vivo* actualmente en curso en nuestro laboratorio, han mostrado que el bloqueo de la actividad del TGF- β por la administración de anticuerpos o bloqueadores naturales (betaglicano receptor tipo III soluble recombinante) administrados durante la fase avanzada de la tuberculosis pulmonar murina, reactiva eficientemente a la inmunidad protectora pero la respuesta inflamatoria es excesiva y produce extensas áreas de neumonía e insuficiencia respiratoria fatal. Esto demuestra claramente el papel que el TGF- β tiene como mediador antiinflamatorio. Es interesante que cuando además del bloqueador de TGF- β se administra un medicamento antiinflamatorio, específicamente un supresor de la síntesis de prostaglandinas, hay un efecto sinérgico de incremento en la producción de citocinas Th-1 y disminución significativa de la carga bacilar y de la extensión de la neumonía. Este tipo de agentes bloqueadores del

TGF- β administrados solos o en combinación con otros medicamentos pueden constituir un nuevo tipo de inmunoterapia, que contribuiría a reducir eficientemente el tiempo de antibioticoterapia y/o permitiría un mejor control de la enfermedad producida por microorganismos resistentes a antibióticos.

Referencias

1. **Wahl SM.** Transforming growth factor beta: the good, the bad and the ugly. *J Exp Med* 1994;180:1587-90.
2. **Letterio JJ, Roberts AB.** Regulation of immune response by TGF β . *Annu Rev Immunol* 1998;16:137-61.
3. **Wahl SM, Mc Cartney-Francis N, Mergenhagen ES.** Inflammatory and immunomodulatory release of TGF- β . *Immunol Today* 1989;10:258-262.
4. **Wahl Sm, Hunt DA, Wakefield LM, Mc Cartney-Francis N, Wahl LM, Roberts AB, Sporn MB.** Transforming growth factor beta induces monocyte chemotaxis and growth factor production. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:5788-5792.
5. **McCartney-Francis N, Mizel D, Wong L, Whal L, Whal S.** TGF- β regulates production of growth factors and TGF- β by human peripheral blood monocytes. *Growth Factors* 1990;4:27-35.
6. **Wahl SM.** Transforming growth factor beta in inflammation: a cause and a cure. *J Clin Immunol* 1992;12:61-68.
7. **Kim SJ, Angel P, Lafyatis R, Hattori K, Kim KY, Sporn MB, Karin M, Roberts AB.** Autoinduction of transforming growth factor beta is mediated by the AP-1 complex. *Mol Cell Biol* 1990;10:1492-1495.
8. **Tsunawaki S, Sporn M, Ding A, Nathan C.** Deactivation of macrophages by transforming growth factor beta. *Nature* 1988;334:260-262.
9. **Sporn M, Roberts AB.** Autocrine secretion-10 years later. *Ann Int Med* 1992;117:408-414.
10. **Kehrl JH, Wakefield LM, Robert AB, Jakowlew S, Alvarez-Mon M, Derynck R, Sporn M, Fauci AS.** Production of transforming growth factor beta by human T lymphocytes and its potential role in the regulation of T cell growth. *J Exp Med* 1986;163: 037-50.
11. **Inge TH, Mc Coy KE, Susskind BM, Barret SK, Zhao G, Bear HD.** Immunomodulatory effects of transforming growth factor beta on T lymphocytes. Induction of CD-8 expression in the CTLL-2 cell line in normal thymocytes. *J Immunol* 1992;148: 3847-53.
12. **Lomo J, Blomhof HK, Beiske K, Stokke T, Smeland EB.** TGF- β 1 and cyclic AMP promotes apoptosis in resting human B lymphocytes. *J Immunol* 1995;154:1634-43.
13. **Czarniecki CW, Chiu HH, Wong GH, Mc Cabe SM, Palladino MA.** Transforming growth factor beta I modulars the expression of class II histocompatibility antigens on human cells. *J Immunol* 1988;140:4217-4232.
14. **Tumer M, Chantry D, Katsikis T, Berger A, Brennan FM, Feldman M.** Induction of interleukin 1 receptor antagonist protein by transforming growth factor beta. *J Immunol* 1991;21:1635-1639.
15. **Ranges GE, Figari IS, Espevik T, Palladino MA.** Inhibition of cytotoxic T cell development by transforming growth factor beta and reversal by recombinant tumor necrosis factor alpha. *J Exp Med* 1987;166:991-999.
16. **Pinson DM, Le Claire RD, Lorsbach RB, Parmely MJ, Russell R.** Regulation by transforming growth factor beta-1 of expression and function of the receptor for INF gamma on mouse macrophages. *J Immunol* 1992;149:2028-2038.
17. **Vodovotz Y, Bogdan C.** Control of nitric oxide synthase expression by transforming growth factor beta: implications for homeostasis. *Prog Growth Factor Res* 1994;5:341-351.
18. **Schmitt E, Hoehn P, Hueis C, Goedert S, Palm N, Rude E, Germann T.** T helper type 1 development of naive CD-4 T cells requires the coordinated action of interleukin 12 and interferon gamma and is inhibited by transforming growth factor beta. *Eur J Immunol* 1994;24:793-798.
19. **Strober W, Kelsali B, Fuss I, Marth T, Ludviksson B, Ehrhardt R, Neurath M.** Reciprocal IFN gamma and TGF- β responses regulate the occurrence of mucosal inflammation. *Immunol Today* 1997;18:61-64.
20. **Maeda Y, Kuwahara H, Ichimura Y, Ohtsuki M, Kurakata S, Shirahishi A.** TGF β enhances macrophage ability to produce IL-10 in normal and tumor bearing mice. *J Immunol* 1995;15:4926-4932.
21. **Fukaura H, Kent SC, Pietrusewicz MJ, Khoury SJ, Weiner HL, Haffer DA.** Induction of circulating myelin basic protein and proteolipid protein-specific transforming growth factor beta-1 secreting Th-3 cells by oral administration of myelin in multiple sclerosis patients. *J Clin Invest* 1996;98: 70-77.
22. **Tossi Z, Ellner J.** The role of TGF β in the pathogenesis of human tuberculosis. *Clin Immunol Immunopathol* 1998;87:107-114.
23. **Shull MM, Ormsby I, Kier AB, Pawloski S, Diebold R, Yin M, Alien R, Sidman C, Proetzel G, Calvin D.** Targeted disruption of the mouse transforming growth factor beta 1 gene results in multifocal inflammatory disease. *Nature* 1992;359:693-99.
24. **Barral Netto M, Barral A, Brownell CE, Skeiki YA, Ellingsworth LR, Twardzic DR, Reed SG.** Transforming growth factor beta in leishmanial infection; a parasite escape mechanism. *Science* 1992;257:545-48.
25. **Gazzinelli RT, Oswald IP, Hieny S, James SL, Sher A.** The microbicidal activity of interferon gamma treated macrophages against *Trypanosoma cruzi*, involves an L-arginine-dependent, nitrogen oxide-mediated mechanism inhabitable by interleukin 10 and transforming growth factor beta. *Eur J Immunol* 1992;22:2501-06.
26. **Barral Neto M, Barral A, Brodskyn C, Carvalho EM.** Cytotoxicity in human mucosal and cutaneous leishmaniasis. *Parasite Immunol* 1995,17:21-28.
27. **King CL, Mahanty S, Kumarasawami V, Abrams JS, Regunthan J, Jeyamaram K, Ottesen EA, Nutman TB.** Cytokine control of parasite specific energy in human lymphatic filariasis. *J Clin Invest* 1993,92:1667-1673.
28. **Lotz M, Seth P.** TGF beta and HIV. *Annu NY Acad Sci* 1993,685:501-511.
29. **Maltman J, Pargnell IB, Graham GJ.** Specificity and reciprocity in the interactions between TGF- and macrophage inflammatory protein 1 -alpha. *J Immunol* 1996;156: 1566-1571.
30. **Rook GAW, Hernández Pando R.** The pathogenesis of tuberculosis. *Annu Rev Microbiol* 1996;50:259-284.
31. **Hernández Pando R, Orozco EH, Arriaga K, Sampieri A, Larriva Sahd J, Madrid MV.** Analysis of the local kinetics and localization of interleukin 1 alpha, tumor necrosis factor alpha and transforming growth factor beta during the course of experimental pulmonary tuberculosis. *Immunology* 1997;90:607-17.
32. **Hirsch C, Ellner J, Blinkhorn R, Tossi Z.** *In vitro* restoration of T cell responses in tuberculosis and augmentation of monocyte effector function against *Mycobacterium tuberculosis* by natural inhibitors of transforming growth factor beta. *Proc Natl Acad Sci* 1997;94:3926-3931.
33. **Shevaen EM.** CD4 + CD25 + suppressor T cells more questions than answers. *Nat Rev Immunol* 2002;2:389-400.