



LOS ASESINOS DEL SISTEMA INMUNITARIO

“El conocimiento de los mecanismos inmunitarios se puede explotar para luchar contra el cáncer, las enfermedades infecciosas o las enfermedades autoinmunes.”

**POR ALBERTO ANEL,
LUIS MARTÍNEZ-LOSTAO
Y JULIÁN PARDO**

Los asesinos del sistema inmunitario

Los linfocitos T citotóxicos y las células NK son cruciales en la defensa del organismo contra infecciones virales y contra el desarrollo del cáncer. Una parte importante de esta función la desarrollan matando literalmente a las células infectadas o transformadas. En este artículo hablaremos de cómo desarrollan estas funciones y de cómo el conocimiento de estos mecanismos nos permitirá dar nuevas soluciones terapéuticas al cáncer y a las enfermedades infecciosas y autoinmunes.

EL SISTEMA INMUNE ES EL GUARDIÁN DE NUESTRO ORGANISMO

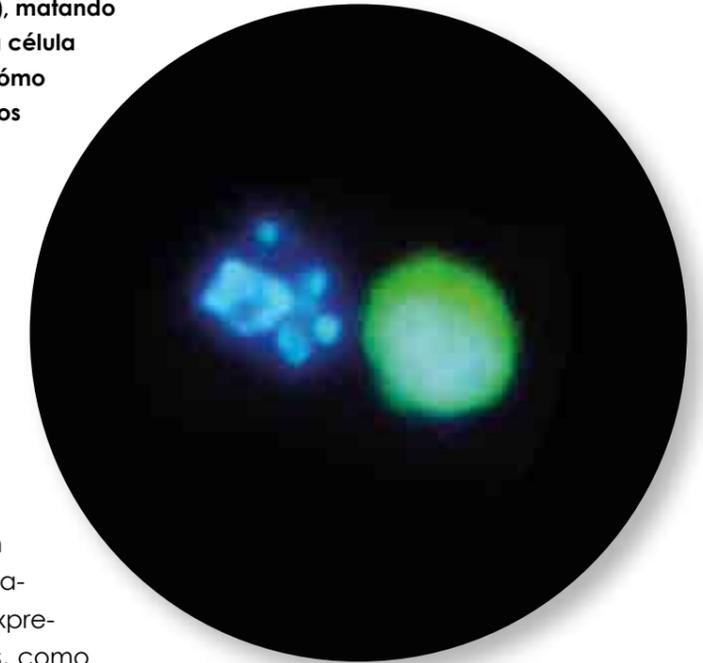
Nuestro sistema inmunitario se puede considerar como un conjunto de células que se encuentran presentes en la circulación sanguínea, en la linfa y también en los tejidos, que vigilan frente a la aparición de situaciones de peligro. Una de las más frecuentes son las infecciones, en las que microorganismos como virus o bac-

terias invaden nuestros tejidos. Si nuestro organismo no reaccionara contra esta invasión, su gran capacidad proliferativa o la producción de toxinas en su metabolismo acabarían rápidamente con la homeostasis entre nuestros tejidos, produciendo en algunos casos la muerte del organismo infectado. La puesta en marcha de los mecanismos efectores del sistema inmune es un proceso complejo que todavía no entendemos en detalle y que no vamos a analizar en este corto espacio. Pero lo que sí podemos afirmar es que existen dos tipos de linfocitos, los linfocitos T citotóxicos (CTL) y las células "asesinas naturales" (NK), que nos protegen sobre todo de las infecciones virales, pero también del desarrollo de tumores, y que parte de su función la ejercen matando directamente a las células infectadas o malignas.

Esta muerte suele tener lugar mediante un mecanismo llamado apoptosis, que es la forma fisiológica y regulada de muerte celular, y de cuyo mecanismo molecular tampoco vamos a

Linfocito T citotóxico (CTL, teñido en verde), matando a una célula tumoral. El núcleo de la célula tumoral está teñido en azul, y se observa cómo se ha fragmentado, uno de los eventos característicos de la apoptosis.

Fotografía por J. I. Aguiló.



ocuparnos en este corto espacio. Solo decir que los descubridores de este mecanismo, muy relevante también en el desarrollo embrionario, recibieron el Premio Nobel en Fisiología y Medicina en el año 2002. Los linfocitos citotóxicos matan a sus células "diana" mediante dos mecanismos mayoritarios, uno mediado por la expresión en su membrana de ligandos mortales, como el ligando de Fas (FasL) o el ligando de Apo2/TRAIL (Apo2L/TRAIL), y otro mediado por la secreción de gránulos que contienen proteínas citotóxicas como perforina, granzimas y granulicina (Kagi et al.). Teniendo en cuenta que la inmunidad antitumoral y antiviral natural se lleva a cabo principalmente por estas células, es de vital importancia conocer en detalle sus mecanismos de activación, así como los mecanismos moleculares que inducen la eliminación de sus células "diana", para poder explotar estos conocimientos de cara a una mejora racional de la inmunoterapia tanto antiviral como antitumoral. Y en esto estamos unos cuantos investigadores en todo el mundo.

MECANISMOS DE ACTIVACIÓN DE LOS LINFOCITOS CITOTÓXICOS

Los mecanismos de reconocimiento de sus células "diana" por parte de los CTL y de las células NK son muy diferentes, y casi podría decirse que opuestos: lo que activa a los CTL de hecho inhibe a las células NK. A este respecto, es interesante señalar que el sistema inmunitario se entiende mejor usando el principio oriental del "Ying y el Yang": algo existe porque existe su opuesto. Los CTL reconocen a sus células "diana" a través de un receptor llamado TCR que reconoce específicamente un trocito de un virus (antígeno), pero siempre asociado a una proteína propia de nuestras células llamada "complejo mayor de histocompatibilidad de clase I", un nombre un poco largo y complejo que abreviaremos por MHC-I. Muchos tumores y virus escapan del sistema inmunitario reduciendo o eliminando la expresión del MHC-I, de

“Los linfocitos T citotóxicos (CTL) y las células asesinas naturales (NK) nos protegen sobre todo de las infecciones virales, pero también del desarrollo de tumores.”



forma que de esta manera evaden la acción de los CTL. Pero si esta reducción es muy acusada, entonces se hacen sensibles a la citotoxicidad mediada por las células NK, las cuales no atacan a las células normales porque expresan unos receptores de inhibición llamados KIR que son ligados por el MHC-I, expresado en condiciones normales por todas las células del organismo.

LA INMUNOTERAPIA QUE ESTÁ LLEGANDO A LA CLÍNICA

El conocimiento de los mecanismos inmunitarios se puede explotar para luchar contra el cáncer, las enfermedades infecciosas o las enfermedades autoinmunes. La inmunoterapia más clásica son las vacunas, que han sido y siguen siendo las herramientas más eficaces contra las enfermedades infecciosas. Uno de los principales efectos de las vacunas, especialmente en la prevención y/o eliminación de infecciones víricas, es la activación de los CTL y las células NK que finalmente serán las encargadas de la eliminación del agente infeccioso. En este aspecto, uno de los mayores esfuerzos, en los últimos años, para desarrollar vacunas frente a algunos virus como el HIV se centra en diseño de vacunas que sean capaces de “despertar” a los CTL para que reconozcan y eliminen las células infectadas. Siguiendo esta línea se están diseñando vacunas “universales” frente al virus de la gripe que sean capaces de eliminar cualquier cepa del virus sin necesidad de cambiar las vacunas cada año. El diseño de tratamientos de inmunoterapia para infecciones virales crónicas resulta especialmente

desafiante, dado que en estos casos la respuesta inmune se vuelve tolerante frente a la infección y ni CTL ni NK pueden ejercer su función. Este es el caso de virus como el de la hepatitis, el virus de Epstein-Barr, el HIV o el virus del papiloma. Los tratamientos clásicos para estos virus consisten en “despertar” el sistema inmune suministrando moléculas estimuladoras como el Interferon o la Interlequina 2. Actualmente, se están realizando ensayos donde se combina la vacunación con fármacos que desbloquean determinadas señales que mantiene inactivos a los CTL y las células NK, como moléculas que impiden la acción de PD1 o IL10.

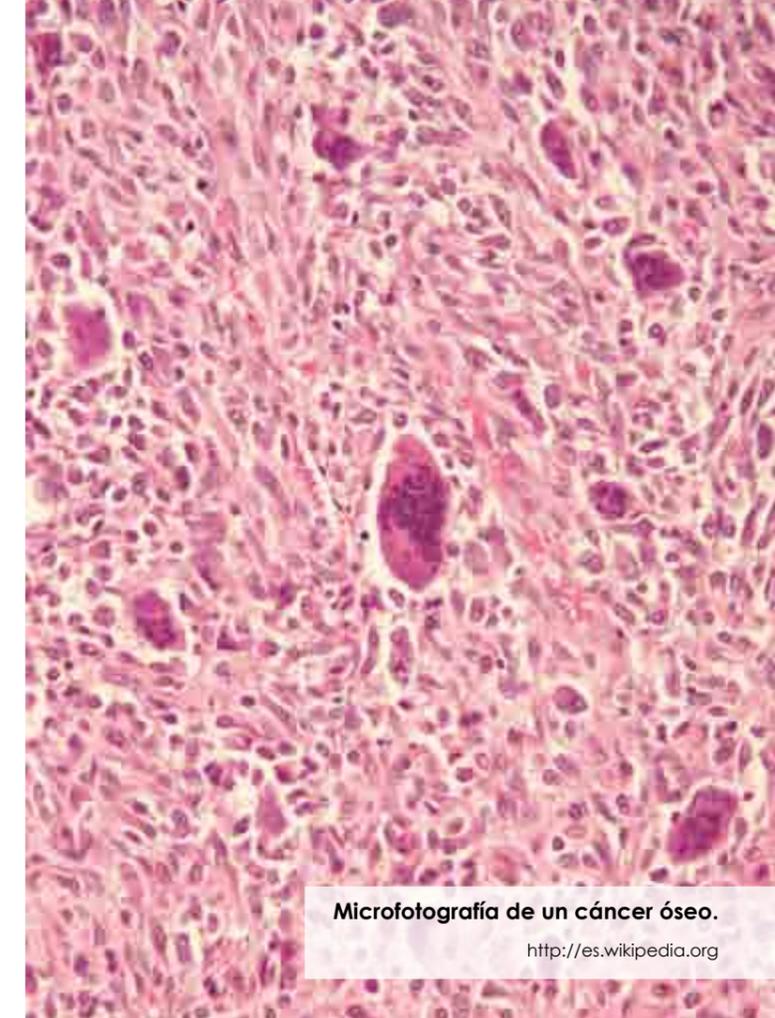
En los últimos años están surgiendo nuevos protocolos de inmunoterapia antitumoral, con resultados altamente prometedores. Las terapias que están dando buenos resultados en la clínica se basan sobre todo en el uso de anticuerpos. Estos anticuerpos pueden ser bloqueantes, como los dirigidos contra el receptor del factor de crecimiento epidérmico que se usan ya como tratamiento de primera línea contra el cáncer de colon, o pueden inducir la muerte del tumor, como los anticuerpos anti-CD20 que

“En los últimos años están surgiendo nuevos protocolos de inmunoterapia antitumoral, con resultados altamente prometedores.”

se usan en el tratamiento del linfoma no-Hodgkin. Recientemente, se han obtenido resultados sorprendentes con anticuerpos que impiden la desactivación de la respuesta mediada por linfocitos T: anticuerpos bloqueantes anti-CTLA4, anti-PD1 o anti-PDL1 han sido efectivos sobre melanomas en estadios muy avanzados de la enfermedad. Por otra parte, se aprobó recientemente por la FDA norteamericana el primer tratamiento que promueve la respuesta de linfocitos T contra un antígeno tumoral propio del cáncer de próstata, llamado Sipleucel-T. En cuanto a tratamientos celulares, se han llevado a cabo ensayos sobre pacientes de leucemia utilizando la infusión de los llamados linfocitos T con receptores de antígeno quiméricos (CARTs). Estos son linfocitos T de los pacientes, a los cuales se les ha transfectado un receptor quimérico hecho en el laboratorio que reconoce una proteína de la superficie de las células leucémicas llamado CD19, los cuales han sido expandidos in vitro e infundidos al paciente. Los éxitos en esta terapia han sido espectaculares y han hecho que otros muchos CARTs hayan entrado en ensayos clínicos. La esperanza que suponen estos tratamientos de inmunoterapia ha hecho que estos tratamientos, tanto los debidos a anticuerpos como los celulares, hayan aparecido en la prensa generalista como un gran avance (Corbella, 2013; Díaz, 2013) y que empresas biotecnológicas como Novartis hayan invertido grandes sumas de dinero en el desarrollo de estos tratamientos. En relación con este gran

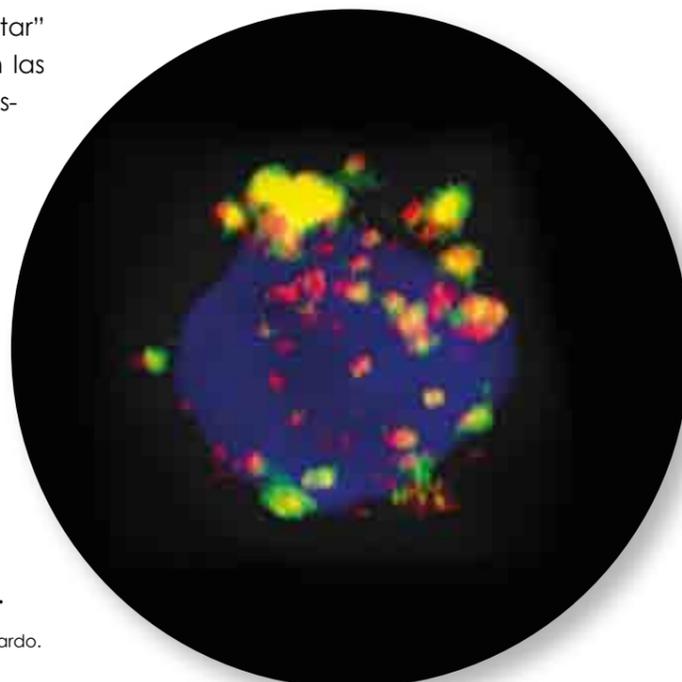
interés desatado por la inmunoterapia, se acaba de fundar el Grupo Español de Inmunoterapia (GEIT), que tuvo su primera reunión el 10 de Diciembre de 2013 en Madrid, cuyo objetivo es aunar esfuerzos en este campo en España y promover la interacción entre la ciencia básica y la clínica (<http://www.inmunologia.org/esp/geclid/grupos/inmunoterapiag.php>).

A pesar de todas estas buenas noticias, estos tratamientos no están exentos de posibles fallos y resistencias por parte de las células tumorales. Por ejemplo, en el caso de los CARTs, estas células persisten crónicamente en el paciente, eliminando sus linfocitos B normales, que también expresan CD19, produciendo por tanto una inmunodeficiencia crónica que ha de ser tratada de por vida. Por otra parte, los tratamientos basados en promover una respuesta de CTL contra los tumores se verán contrarrestados si los tumores pierden la expresión del MHC de clase I, algo muy frecuente en los tumores, sobre todo en las metástasis. En este caso, la



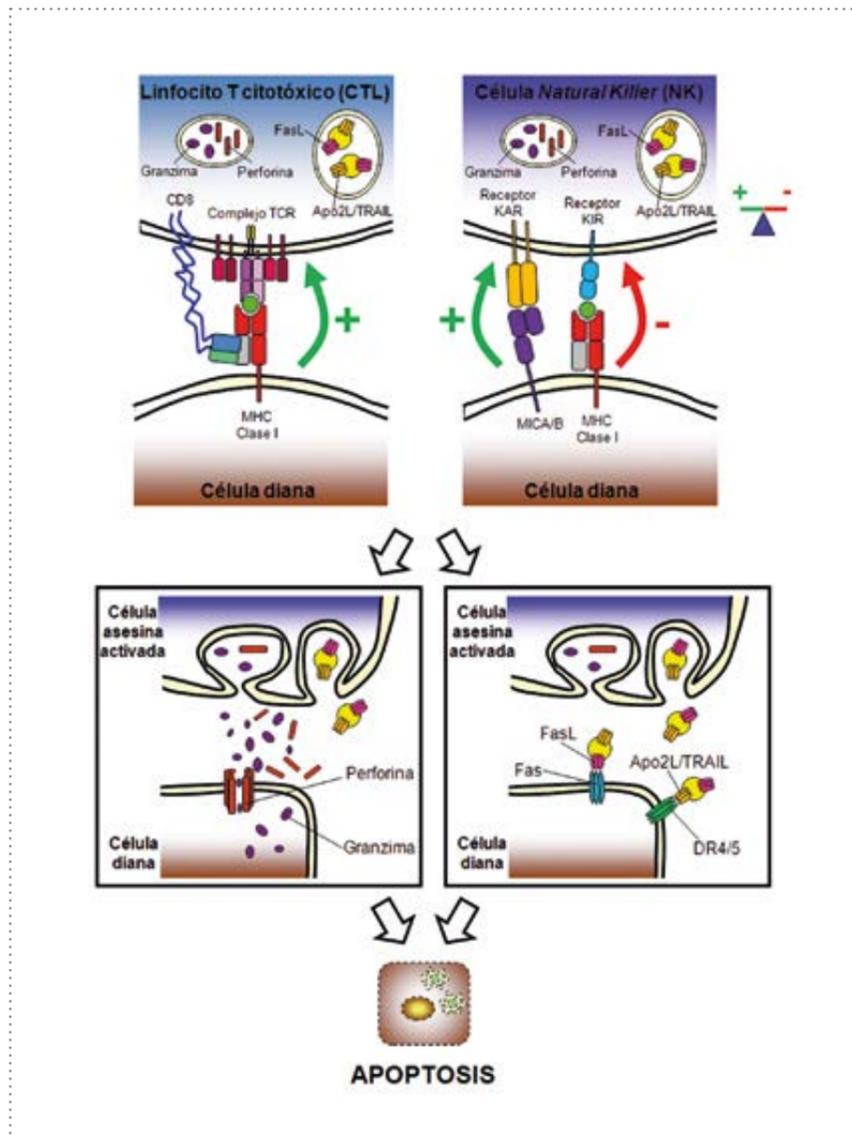
Microfotografía de un cáncer óseo.

<http://es.wikipedia.org>



CTL en el que se han teñido las moléculas citotóxicas de sus gránulos en verde y en rojo y su núcleo en azul.

Fotografía por J. Pardo.



Panel superior izquierdo: Esquema en el que se muestra cómo la activación de los CTL depende de la interacción de su complejo TCR con el MHC de clase I de la célula "diana".

Panel superior derecho: En el caso de las células NK, su activación depende de un equilibrio entre las señales de activación, dadas por los KAR, y las de inhibición, dadas por los KIR.

Paneles inferiores: En ambos casos, si los CTL o las NK se activan, se ponen en marcha dos mecanismos citotóxicos, uno dependiente de la secreción de gránulos que contienen perforina y granzimas, y otro en el que ligandos mortales (FasL, Apo2L/TRAIL) se secretan en la superficie de vesículas y se unen a sus receptores (Fas, DR4/5), induciendo en ambos casos la muerte de la célula "diana".

combinación de tratamientos que conseguirían un aumento en la expresión del MHC-I junto con la inmunoterapia mediada por CTL podría ser de gran eficacia. Finalmente, las respuestas de CTL tienen especificidad antigénica, de manera que pueden plantear problemas al ser excesivamente específicas de uno o de unos pocos antígenos tumorales. Este problema no lo tiene, por ejemplo, la respuesta anti-tumoral mediada por células NK, al ser independiente del antígeno.

LIGANDOS MORTALES Y LIPOSOMAS

Nuestro grupo de investigación descubrió hace ya unos años que en los linfocitos T humanos, los ligandos mortales FasL y Apo2L/TRAIL eran secretados al exterior en asociación con pequeñas estructuras de membrana llamadas exosomas, manteniendo así su bioactividad. Como consecuencia de estos estudios, desarrollamos y patentamos una tecnología para la producción de liposomas portadores de Apo2L/TRAIL

bioactivo en su superficie, que hemos ensayado con resultados muy prometedores en un modelo de artritis reumatoide en conejos (Martínez-Lostao et al.). Estos liposomas también tienen potencialidad para su uso en el tratamiento del cáncer (De Miguel et al.). Se ha analizado el potencial citotóxico de estos liposomas con Apo2L/TRAIL en su superficie (LUV-TRAIL) en líneas celulares tumorales humanas de estirpe hematológica, comparándolos con la forma soluble de la proteína que es la versión que actualmente se está usando en diversos ensayos clínicos frente a distintos tipos de tumores. En todas las líneas tumorales analizadas, los LUV-TRAIL fueron capaces de eliminar a las células tumorales de una manera mucho más eficiente que Apo2L/TRAIL soluble reduciendo hasta 20 veces la concentración inhibitoria media. Resulta muy interesante que los LUV-TRAIL fueran capaces de superar la resistencia que algunos tumores presentan a la forma soluble de Apo2L/TRAIL, algo que en los ensayos clínicos ocurre hasta en un 50% de los casos. También resulta muy interesante que los LUV-TRAIL no presentan efecto citotóxico en los linfocitos T normales, hecho que junto con su mayor capacidad citotóxica sobre las células tumorales resulta muy atractivo para intentar llevar a la práctica clínica esta nueva formulación de Apo2L/TRAIL basada en su unión a la superficie de liposomas artificiales.

“Resulta muy interesante que los LUV-TRAIL fueran capaces de superar la resistencia que algunos tumores presentan a la forma soluble de Apo2L/TRAIL.”

Corbella L. (2013). *Inmunoterapia: la nueva frontera del cáncer*. La Vanguardia (3 de Junio).

De Miguel et al. (2013). *The tethering Apo2L/TRAIL to liposomes overcomes chemoresistance of human hematological tumor cells*. Mol Pharm 10, 893-904.

Díaz I. (2013). *Nuevo tratamiento experimental contra el cáncer. La esperanza se llama Emma*. XL Semanal (17 al 23 de Febrero).

Kögi et al. (1994). *Fas and perforin pathways as major mechanisms of T cell-mediated cytotoxicity*. Science. 265: 528. 1994

Martínez-Lostao et al. (2010). *Liposome-Bound APO2L/TRAIL Is an Effective Treatment in a Rabbit Model of Rheumatoid Arthritis*. Arthritis Rheum 62, 2272-2282.

Alberto Anel (A), Luis Martínez-Lostao (A) y Julián Pardo (B)

A.- Grupo "Apoptosis, Inmunidad y Cáncer" Universidad de Zaragoza

B.- Fundación Aragón I+D (ARAID)

Centro de Investigación Biomédica de Aragón (CIBA)