

La respuesta inmune celular del neonato

ARTURO CÉRBULO-VÁZQUEZ,^a FEDERICO JAVIER ORTIZ-IBARRA,^a
JOSÉ LUIS ARREDONDO-GARCÍA^b

RESUMEN

La capacidad de respuesta del sistema inmune (SI), no es la misma a lo largo de la vida, se ha observado que las infecciones son más frecuentes durante el primer año de vida que en la vida adulta, lo cual parece indicar que los neonatos son incapaces de desarrollar una respuesta inmunológica eficaz, durante la etapa de los retos inmunológicos primarios. Se han descrito diferencias fenotípicas y funcionales entre el SI del neonato y del adulto; con base en ellas se piensa que el SI del neonato es "inmaduro". Sin embargo, también se han realizado acercamientos experimentales que demuestran una capacidad similar de la respuesta celular, en neonatos y adultos. De estos ensayos se concluye que la inmadurez observada en el neonato, no es inicialmente debida a defectos cualitativos (por la capacidad de respuesta de las células); sino a las condiciones en las que se realiza el estímulo inmunológico. El presente artículo pretende proporcionar información actualizada sobre la naturaleza y desarrollo de la respuesta inmunológica en el neonato.

PALABRAS GUÍA: Recién nacido, sistema inmune, respuesta celular.

INTRODUCCIÓN

El sistema inmunológico (SI) debe su importancia gracias a su funcionalidad, plasticidad y eficiencia con la cual defiende al organismo de las agresiones del medio ambiente (infecciones bacterianas, virales o parasitarias), así como controlar procesos patológicos debidos a la naturaleza biológica del ser humano, por ejemplo, la detección y eliminación de células cancerosas, con lo cual el individuo preserva su vida y por ende su especie.

Una cualidad fundamental del SI, es su capacidad de distinguir entre lo propio y lo ajeno. Si éste es estimulado de manera eficiente, se da inicio a una serie de procesos de activación y diferenciación celular, que generalmente culminan en la eliminación o limitación de procesos infecciosos o cancerosos. Sin embargo, la capacidad de respuesta del sistema inmune, no es la misma a lo largo de la vida.^{1,2} Se ha observado que las infecciones son más frecuentes durante el primer año de vida que en la vida adulta, lo cual parece indicar que los neonatos son incapaces de desarrollar respuestas inmunológicas eficaces, durante la etapa de los retos inmunológicos primarios. Se han descrito diferencias fenotípicas y funcionales, entre el SI del neonato y del adulto; con base en ellas se piensa que el SI del recién nacido es "inmaduro". La intención del presente artículo es realizar una revisión que proporcione al lector la información relevante y actualizada sobre la naturaleza y desarrollo de la respuesta inmunológica en el neonato.

^a Departamento de Infectología e Inmunología.

^b Dirección de Investigación.

Instituto Nacional de Perinatología (INPer). SSA.

Correspondencia:

M. en C. Arturo Cébulo-Vázquez.

Departamento de Infectología e Inmunología Perinatal.

Instituto Nacional de Perinatología. SSA.

Montes Urales # 800, Lomas de Virreyes. CP 11 000

México DF. México. Laboratorio de Inmunología.

Torre de Investigación 4º piso.

E-mail: cerbulo@hotmail.com

Recibido: 6 de octubre de 1999

Aceptado: 28 de febrero de 2000

DIFERENCIAS DESCRITAS ENTRE LA POBLACIÓN CELULAR DEL NEONATO Y DEL ADULTO

El SI está constituido por componentes humorales (sistema del complemento, anticuerpos, citocinas y defensinas, entre otros) y componentes celulares (como linfocitos, monocitos y células dendríticas, etc.); los cuales se relacionan y se regulan de manera coordinada. Debido a la variedad y especificidad de cada uno de los factores participantes, la interacción entre los componentes celulares y humorales del SI, resulta altamente compleja. Se desconoce si el número de células presentes influye de alguna manera sobre la progresión y la calidad de la respuesta inmunológica que se desarrollará. En ese sentido, la denominada leucocitosis fisiológica del recién nacido no ha sido bien estudiada hasta el momento. En adultos la cuenta de leucocitos total normal varía de 4 mil a 10 mil células por mm^3 ; mientras que en los neonatos las cifras normales fluctúan de 5 mil a 25 mil células por mm^3 ; en niños de 1 año va desde 6 mil a 18 mil por mm^3 .³ La cuenta absoluta de linfocitos es mayor en neonatos ($4.8 \pm 1.1 \times 10^9/\text{L}$), que en adultos ($1.69 \pm 0.38 \times 10^9/\text{L}$); mientras que la proporción de células T en sangre periférica de neonatos es más alta que en adultos (58% y 74%, respectivamente).⁴ La causa o las causas de esta leucocitosis no es totalmente conocida y su influencia sobre la cantidad o calidad de la respuesta inmunológica, ha sido poco estudiada. La leucocitosis fisiológica del neonato parece indicar que el desarrollo de la respuesta inmunológica, poco enérgica o limitada, no se debe a limitantes cuantitativas. Es probable entonces que el defecto condicionante de esta respuesta del neonato, esté más bien asociado a las características funcionales de las células.

ESTUDIOS FENOTÍPICOS

Con el fin de identificar las diferencias fenotípicas, entre las células del neonato y del adulto, que nos ayuden a comprender mejor la o las causas de la diferente respuesta del neonato, se han realizado estudios utilizando la técnica de citometría de flujo. Se ha reportado que en la sangre de cordón umbilical de neonato (SCUN) se encuentra una menor proporción de células T, que en sangre periférica que adultos (SPA). Por otro lado, se ha demostrado que la proporción de células con fenotipo inmaduro es mayor en SCUN que en SPA. Por ejemplo, el porcentaje de células $\text{CD4}^+ \text{CD8}^+$ (fenotipo inmaduro) en sangre

Tabla 1
Porcentaje de células con fenotipo inmaduro de sangre de cordón umbilical de neonato y sangre periférica de adulto

Población celular	Neonato	Adulto
CD3+	40%	62%
CD4+CD8+	3.5%	2.3%
CD3-CD8+	5%	0
CD3-CD7+	9%	0
CD5+CD19+	3%	1%
CD45RA+	84%	53%

periférica es de $3.5 \pm 1.4\%$ en sangre de neonatos y de $2.3 \pm 1.2\%$, en adultos. La tabla 1 presenta los porcentajes publicados para algunas poblaciones celulares con fenotipo inmaduro en SCUN y SPA.⁵⁻¹⁰ Puesto que se sabe que el SI del neonato tiene más células con fenotipo inmaduro, cabe preguntarse si la respuesta de dichas células es funcional y cuantitativamente comparable con la que tienen las células de fenotipo maduro; así mismo, es necesario esclarecer si estas diferencias fenotípicas influyen en el desarrollo de la respuesta inmunológica del neonato.

RECEPTORES PARA CITOCINAS EN CÉLULAS DE NEONATO

Se sabe que uno de los factores que regulan, tanto la iniciación como la progresión de la respuesta inmunológica, es la red de citocinas. La cual funciona a través de receptores específicos en células blanco. Es probable que la expresión disminuida de dichos receptores, puede condicionar una pobre respuesta a los estímulos mitogénicos. Se ha demostrado que las células T de neonatos tienen una menor expresión del receptor para interleucina-4 (IL-4R); así como en el receptor para interleucina-2 (IL-2R); en las cadenas α , β y γ . Se sabe que la cadena γ del receptor para IL-2 (CD132), es además un componente de los receptores para IL-4, IL-7, IL-9 e IL-15. La molécula CD132 participa de manera importante en el proceso de transducción de señales, que da como resultado: la unión completa de IL-2 al IL-2R. Resulta interesante mencionar también, la descripción de un síndrome de inmunodeficiencia ocasionado por una baja expresión de CD132 en la superficie de linfocitos.¹¹ Así mismo, la expresión de CD132 en linfocitos en neonatos se encuentra disminuida; sin embar-

go, no se sabe si esto condiciona que la respuesta inmunológica sea deficiente. También, se desconoce la magnitud del impacto que tiene la disminución en la expresión de CD132, sobre el proceso de activación (temprana o tardía) de linfocitos de neonatos o sobre la terminación de la respuesta inmunológica.

Así mismo, se ha publicado que la expresión de otros receptores para citocinas, se encuentra igualmente disminuida. Tal es el caso de p75, el cual es un receptor para el factor de necrosis tumoral (TNRF); en contraste, el receptor para interferón- γ (IFN- γ R), se encuentra a niveles similares, tanto en las células del neonato como del adulto.¹²⁻¹⁴ No obstante, son necesarios más estudios para llegar a determinar con precisión el papel que juegan los receptores para las citocinas: en el mantenimiento, progresión y regulación de la respuesta inmunológica del neonato.

Por otro lado, la expresión de ciertas citocinas, después de la estimulación con forbol miristato acetato (PMA) o fitohemaglutinina (PHA), se encuentra disminuida en las células del neonato, en comparación con las de adulto. Algunos ejemplos más son: el factor de crecimiento transformante-beta (TGF- β) y la proteína inflamatoria de macrófagos-1 α (MIP-1 α). En otros estudios, se ha encontrado un porcentaje menor de células que sintetizan IL-4 e IFN- γ en el neonato.

Con relación a la disminución de la síntesis de IFN- γ en las células de neonato, se sabe que una de las señales importantes inductoras de la síntesis es la IL-12. Se ha publicado que un porcentaje similar de células del neonato y adulto, sintetizan IL-12.^{15,16} Este resultado es importante ya que parece indicar que la disminución en la capacidad de síntesis de IFN- γ podría no deberse a una incapacidad para sintetizar IL-12 en neonatos. Sin embargo, los estudios sobre la síntesis de IL-12 han sido contradictorios.^{17,18} Es interesante señalar, que se ha encontrado que las células de neonato son menos capaces de sintetizar IFN- γ en respuesta a IL-12, en comparación con las de adulto.^{19,20} Los resultados obtenidos obligan a plantear nuevos ensayos para precisar cuál es el potencial real de las células de neonato para sintetizar IL-12, y si ello es adecuado para sintetizar IFN- γ así como determinar, si los niveles de IFN- γ sintetizado, son suficientes para apoyar una respuesta inmunológica eficiente en neonatos. Por último, es probable que la IL-12 no pueda inducir la expresión de IFN- γ debido a defectos a nivel del receptor para IL-12. IFN- γ induce la expresión de moléculas de clase II, aumenta el potencial

citotóxico, incrementa el estallido respiratorio, y apoya el desarrollo de respuestas celulares (tipo Th1) para controlar infecciones virales. Por lo tanto, la baja expresión de IFN- γ podría influir en forma negativa, sobre el control y la eventual eliminación de procesos infecciosos virales en neonatos.

De las observaciones anteriores es posible concluir que es necesario realizar más estudios para determinar con precisión, el papel que juegan los receptores para citocinas; así como la cantidad que se requiere de éstas para el mantenimiento, progresión y regulación de la respuesta inmunológica del neonato.

MOLÉCULAS DE ACTIVACIÓN EN EL NEONATO

Se ha analizado la capacidad de las células del neonato para expresar las distintas moléculas relacionadas en el proceso de activación, determinando cuál es el nivel de expresión en la superficie celular de algunas moléculas de activación, como: CD25, CD69, CD71, y moléculas clase II, del Complejo Principal de Histocompatibilidad (MHC CII), entre otras. En general, se ha encontrado una menor expresión de este tipo de marcadores en la superficie de las células del neonato. Por ejemplo, la expresión en la superficie del ligando para CD40 (CD40L, CD154), en linfocitos T, posterior al estímulo mitogénico, está disminuida en las células del neonato, en comparación con las de adulto.²¹⁻²³ Esta disminución de CD154 podría ser muy importante, ya que los linfocitos B realizan el cambio de isotipo de anticuerpos: de IgM a IgG, IgA e IgE, de forma dependiente del CD154 (expresado sobre células T); con CD40 (expresado sobre células B). Al respecto, se ha descrito una entidad patológica denominada síndrome de hiper-IgM, en donde los pacientes que sufren tal patología, desarrollan infecciones repetidas que pueden ser mortales. En tales pacientes no es posible detectar CD154 (sobre células T) por lo cual los linfocitos B, carecen de ayuda para realizar el cambio de isotipo. Por lo tanto es probable que la menor expresión de CD154 en las células T de neonatos puede ser un factor que influya, en forma negativa, en el desarrollo de la respuesta inmunológica del neonato, afectando el proceso de activación y diferenciación de células T.

En la tabla 2 se muestran algunas características fenotípicas importantes de las células T del SI de neonatos.

Así, resulta difícil llegar a conclusiones sobre las características de las células, a partir exclusivamente

de estudios fenotípicos. Por ejemplo, se ha reportado que el cordón umbilical tiene un mayor porcentaje de linfocitos CD38 positivos y CD45RA positivos, en comparación con el valor de sangre periférica del adulto; así mismo, se ha detectado en neonatos un menor porcentaje de células HLA-DR, CD54 y CD11a positivas; en comparación con lo encontrado en sangre periférica del adulto. Sin embargo, después de realizar estimulación alogénica, la mayoría de las diferencias fenotípicas detectadas desaparecen.²⁴ Esto sugiere la necesidad de realizar ensayos funcionales que complementen lo encontrado en los ensayos fenotípicos y de esta forma precisar la potencialidad de respuesta del SI del neonato.

ESTUDIOS FUNCIONALES

Con el fin de obtener un mejor conocimiento de los procesos de iniciación, progresión y regulación de la respuesta inmunológica del neonato, se han efectuado ensayos para explorar la funcionalidad de células de SCUN. Por ejemplo, en pacientes que requieren de trasplante de médula ósea, es posible utilizar células de SCUN como fuente de células regeneradoras hematopoyéticas;²⁵⁻²⁷ mientras que en la enfermedad de injerto contra huésped (EIVsH) (complicación frecuente en los trasplantes entre individuos adultos alogénicos) su frecuencia disminuye al utilizar células de SCUN. Ello indicaría una menor capacidad para desarrollar una respuesta contra lo ajeno, por parte de las células de neonato. Esta observación es congruente, con las hechas por P. Medawar, realizadas en los años cincuenta.^{28,29} De acuerdo a esos estudios, en la etapa perinatal se desarrolla la capacidad de distinguir lo propio de lo ajeno. Es probable por lo tanto, que la exposición del neonato a células alogénicas, resulte en el posterior reconocimiento de dichas células ajenas,

como si fueran propias. En conjunto, estos datos apoyan el concepto de la inmadurez inmunológica del neonato.

PRESENTACIÓN ANTIGÉNICA EN NEONATOS

Por otro lado, se ha descrito que las células presentadoras de antígeno (CPA), son necesarias para iniciar el proceso de activación de células T. Se ha reportado que el principal tipo de CPA, capaz de inducir respuestas primarias de linfocitos T, son las células dendríticas (DC). En sangre de cordón umbilical se ha descrito una población de DC que expresa: CD4, CD11a, CD18, CD45RA, CD50, CD54 y CD123; pero no expresa CD1a, CD11c, CD33, CD40, CD45RO, CD80, CD83 y CD86; así como una limitada expresión de CD58, CD102 y CD116. Este fenotipo es considerado inmaduro dada la carencia de CD80 y CD86, cuya participación es crucial dentro de los eventos que activan a células T. Sin embargo, se ha reportado que las células dendríticas del neonato, son capaces de despertar respuestas vigorosas de proliferación celular en linfocitos T alogénicos; no obstante, existen reportes que no concuerdan con este resultado. Por otro lado, las células dendríticas de neonato, parecen contar con una capacidad fagocítica disminuida.³⁰ Se ha descrito que el fenotipo inmaduro, en células dendríticas, está asociado a una capacidad fagocítica mayor que cuando cuentan con un fenotipo maduro. Los resultados observados en neonato no coinciden con estos reportes. Es probable que la menor capacidad fagocítica, aunado a un fenotipo inmaduro de las células presentadoras de antígeno en el neonato, condicionen: tanto respuestas inmunológicas pobres en calidad, como en cantidad. Quizás, un acercamiento terapéutico adecuado, en el manejo de infecciones del neonato, sea cultivar sus CPA y hacer que maduren *in vitro*, para posteriormente re-introducirlas en el mismo organismo y tratar así de activar su respuesta inmunológica.

Tabla 2
Características fenotípicas de las células T del neonato, comparadas con células T de adulto

- Menor nivel de expresión de superficie del receptor para IL-4, IL-2 y TNF- α .
- Menor nivel de expresión de molécula CD40L en superficie.
- Mayor proporción de células con fenotipo "naive" CD45RA+.

PROLIFERACIÓN CELULAR Y CAPACIDAD CITOTÓXICA EN NEONATOS

Se han realizado ensayos para determinar el potencial de proliferación celular y citotóxico de las células del cordón umbilical. En general, se ha encontrado que el potencial de proliferación, ante diferentes mitógenos, es muy similar entre las células de neonato y las de adulto.^{31,32} Sin embargo, se ha publicado que las respuestas de proliferación celular son similares, sólo ante respuestas alogénicas primarias. En contraste, las

células del neonato no proliferan después de un segundo reto alogénico; este estado de no-respuesta puede superarse, adicionando PMA o IL-2 en concentraciones altas. La razón de este bloqueo parece ser un defecto en la activación de la proteína oncogénica *Ras* de los linfocitos del cordón umbilical, durante las respuestas secundarias.³³ Estos resultados sugieren que *in vitro*, existe un bloqueo en el proceso de activación en los linfocitos de neonato, después de una estimulación alogénica secundaria. Sin embargo, se desconoce si este tipo de bloqueo se desarrolla en la misma forma en condiciones *in vivo*, ya que podrían existir vías redundantes que salven los procesos de activación.

Por otra parte, se ha publicado que la proliferación de linfocitos B del neonato, como respuesta a estímulos independientes de células T, es similar a la que existe en el adulto.³⁴ El resultado parece indicar que los procesos de activación temprana, son similares en las células B del neonato y del adulto, ya que tanto las células de neonato como las de adulto, presentan un aumento del calcio intracelular de la expresión de moléculas de clase II, así como un incremento en el volumen celular. En conjunto, los datos de proliferación celular de linfocitos T y B del neonato, parecen indicar que la activación celular temprana es muy similar a la del adulto. Sin embargo, un potencial proliferativo similar, entre células del neonato y del adulto, no garantiza que se desarrolle una fase efectiva que elimine el estímulo que dio origen al proceso de activación celular, por lo tanto es deseable que se realicen ensayos adicionales que consideren otros aspectos funcionales de las células inmunológicas del neonato. En este sentido, se ha detectado una menor actividad citotóxica de células del neonato ante un estímulo alogénico, en comparación con el que existe en células de adulto;^{35,36} este resultado es congruente con la disminución de la frecuencia de EIVsH, mencionada anteriormente (en el contexto de la importante actividad citotóxica ejercida por células T y NK, en la EIVsH). Adicionalmente, se ha detectado que la proporción de linfocitos que expresan perforina, es menor en neonatos que en adultos, es interesante destacar que el porcentaje de células positivas aumenta con la edad. Adicionalmente, tanto las células de neonato como las de adulto, que son estimuladas alogénicamente o con IL-2, expresan porcentajes similares de células positivas para perforina.³⁷ Este resultado parece indicar que existe una similitud en

cuanto a la funcionalidad citotóxica de las células del neonato y del adulto.

En forma simultánea, a los ensayos para determinar la capacidad de proliferación y citotoxicidad celular, se han realizado estudios para analizar la síntesis de IL-2 e IL-4 de las células T de SCUN, estimuladas con el superantígeno denominado: toxina relacionada con el síndrome de choque séptico (TSST-1). En ellos se encuentra una capacidad limitada para sintetizar IL-2 e IL-4, en las células del neonato reestimuladas con TSST-1, en comparación con las células de SPA.³⁸ El resultado parece indicar que las células de neonato son más susceptibles a desarrollar estados de baja o nula activación, en respuesta a estímulos secundarios (a diferencia de lo que ocurre en las células del adulto) lo cual concuerda con el resultado sobre la pobre proliferación celular, en respuesta a estímulos alogénicos secundarios. Adicionalmente, se ha encontrado que las células T del neonato, también desarrollan una pobre respuesta de proliferación, ante otros superantígenos como la enterotoxina B de *Staphylococcus* (SEB).³⁹ El resultado parece indicar, de nueva cuenta, que el proceso de activación celular en las células del neonato y del adulto, es similar tanto fenotípica como funcionalmente, pero que el estado celular resultante, en las células de neonato, no permite desarrollar respuestas secundarias efectivas.

EL REPERTORIO DE RECEPTORES DE CÉLULAS T EN NEONATOS

Se ha determinado que el repertorio de receptores de células T ab, sobre las células del neonato, no se modifica después de la estimulación con la TSST-1. Este resultado parece indicar que las células de neonato son capaces de responder a la estimulación con superantígeno, al mismo nivel que lo hacen las células de adulto; por otro lado, el repertorio de células no sufre alteraciones.⁴⁰ Sin embargo, también se ha publicado que si bien los mecanismos de diversificación del repertorio parecen ser funcionales en neonatos, a partir de la semana 24 de gestación, la diversidad del repertorio es limitada a expensas de CDR3.⁴¹ Los resultados parecen indicar que la estimulación con superantígeno de las células de neonato, da como resultado un proceso de activación en donde no es posible obtener respuestas inmunológicas eficaces, ya que el repertorio de células de respuesta resulta limitado. Este resultado apoya el concepto de inmadurez inmunológica del neonato.

SÍNTESIS DE CITOCINAS EN NEONATOS

Con respecto a la capacidad de síntesis de citocinas se ha encontrado que el porcentaje de células de neonato productoras de IL-2, es similar entre neonatos y adultos, después del estímulo mitogénico; no obstante, se ha detectado que en cultivos de células de neonato la cantidad de IL-2 en sobrenadante, es siempre menor que al cultivar células de adulto.^{16,42} Quizás esto sea debido a las condiciones experimentales en las que se realiza el estímulo o bien al tipo de estímulo utilizado, y que por lo tanto no reflejen la capacidad real para sintetizar IL-2.

Con el fin de proporcionar una respuesta a esta pregunta, se realizó un ensayo de estimulación en condiciones más cercanas a las fisiológicas. En donde se encontró que la estimulación de células T de cordón umbilical, con anti-CD3 + anti-CD28, induce la síntesis de IL-2 a niveles menores que lo expresado por células de adulto. Así mismo, la estimulación a través de anti-CD3 + anti-CD28, induce una menor translocación al núcleo del NF-kappa B y una menor formación de intermediarios del oxígeno en células T de neonato, que en las de adulto.⁴³ Los resultados parecen indicar que efectivamente existe una menor capacidad de sintetizar IL-2 por parte de las células del neonato.

En contraste, la producción de IL-1b, IL-6 y del factor estimulador de colonias-granulocitos y monocitos (GM-CSF), después de estimular células con lipopolisacárido más PHA, fue similar en cultivos de células de neonato y adulto.¹⁷ Sin embargo, como se sabe, la red de citocinas presenta redundancia biológica, por lo cual, la baja expresión de IL-2 de las células de neonato, puede ser cubierta por la actividad de alguna otra citocina, en condiciones *in vivo*. Con base en este razonamiento, se debe considerar la disminución de más de una sola citocina, para calificar al SI del neonato como inmaduro.

APOPTOSIS EN EL NEONATO

Recientemente, se ha analizado la susceptibilidad a desarrollar apoptosis por parte de las células de neonato y adulto, después de ser estimuladas con anticuerpos anti-CD3 o anti-Fas. Encontrándose que en la estimulación primaria, las células de SCUN son resistentes al proceso de apoptosis, en comparación con lo observado con las células de SPA. En contraste, ante un segundo estímulo con anti-CD3, las células de neonato fueron más susceptibles a la muerte por apoptosis. Adicionalmente, una segunda estimulación con anti-Fas, induce

una menor apoptosis en las células del neonato, al compararlas con la respuesta del adulto.⁴⁴ Así mismo, se ha publicado una menor expresión de CD95 (Apo/Fas) y de su ligando (CD95L), en la superficie de células del neonato, con respecto a lo observado en adulto.⁴⁵ Los resultados indican que los procesos apoptóticos son más difíciles de desarrollarse en las células del neonato, probablemente por la menor expresión del receptor (CD95) en la superficie, el cual media el proceso apoptótico en la célula.

Finalmente, es posible que la menor disposición de las células del neonato, para desarrollar apoptosis, pueda deberse a una menor capacidad para iniciar un estado de activación celular. Una consecuencia indirecta de esto, resulta en una menor susceptibilidad para desarrollar apoptosis, ya que este último mecanismo es un proceso activo. En la tabla 3 se mencionan algunas de las características de funcionalidad más importantes del SI del neonato.

REQUERIMIENTOS DEL PROCESO DE ACTIVACIÓN CELULAR EN EL NEONATO (ESTUDIOS EN MODELOS ANIMALES)

Frecuentemente, el modelo al que recurren los inmunólogos para analizar el SI de mamíferos es el ratón. Se sabe que existe una gran similitud entre el SI del ratón y del humano, aunque éstos no son idénticos. Sin embargo, el estudio del SI en el ratón puede ayudar a entender los procesos de activación, proliferación y diferenciación en el humano. En este sentido, recientemente se analizó la capacidad de respuesta citotóxica de las células de neonato en ratón. Los investigadores realizaron un estudio que analiza la importancia de la presentación antigénica; los autores mencionan que las señales coestimuladoras son factores condicionantes de un estado de activación o tolerancia de las células T. Los resultados presentados en el reporte, indican que existe una susceptibilidad similar para desarrollar tolerancia inmunológica, de las células de neonato y adulto. Así mismo, parece ser que, tanto la naturaleza de la presentación antigénica (realizada por células B o DC), como la dosis antigénica utilizada, son importantes para el destino final de la respuesta inmunológica.⁴⁶ En apoyo a estos resultados, el grupo de Hoffman, demostró que la exposición de células de ratón neonato a bajas dosis del virus Cas, provoca respuestas protectoras, las cuales son dependientes de la actividad citotóxica de los linfocitos T. En forma

consistente, las respuestas protectoras citotóxicas no se presentaron en ratones neonatos inoculados con dosis altas del virus. La actividad citotóxica en células de neonato y de adulto perduró de 10 a 15 días, después de la exposición al virus. La inmunidad al daño neuropatogénico, que desarrollaron los ratones inoculados con bajas dosis del virus, puede ser transferida a ratones expuestos a dosis neuropatogénica del virus.⁴⁷

Por otro lado, el desarrollo de respuestas tipo Th1 y Th2, fue analizado en ratones neonatos y adultos inmunizados con dosis altas del virus Cas, en donde se encontró que los linfocitos de adulto, infectado al nacimiento, sintetizaron una elevada cantidad de IL-4, pero baja de IFN- γ ; en contraste, la inoculación del ratón neonato con bajas dosis de virus provocó síntesis de IFN- γ pero no de IL-4 en el cultivo. Los resultados indican que la exposición del SI del neonato a altas dosis induce un estado no protector con patrón Th2.

Por último, el grupo de Lehmann, analizó la proliferación celular desarrollada por esplenocitos y células de ganglio linfático, en respuesta a estimulación con lizosima de huevo. Los ratones inmunizados al nacimiento con lizosima y retados por segunda ocasión en la vida adulta, mostraron bajos índices de proliferación de las células del ganglio linfático; mientras que los esplenocitos desarrollaron índices de proliferación celular de alto grado. Esta diferencia observada entre esplenocitos y células del ganglio

linfático, puede ser atribuida a la presencia mayoritaria de células de memoria en bazo y por la relativa ausencia de éstas, en ganglios linfáticos. La capacidad para sintetizar IFN- γ (patrón Th1) o IL-5 (patrón Th2), fue analizada en ratones inmunizados con lizosima de huevo con adyuvante completo e incompleto de Freund, se encontró que independientemente de la edad de inmunización, así como de la vía de inoculación, los ratones neonatos y adultos se comportaron en forma similar. Los autores mencionan que las respuestas observadas no son en realidad un proceso de “Tolerancia inmunológica”, sino una desviación de la respuesta inmunológica hacia el patrón Th2. Adicionalmente, se ha reportado que bajo condiciones de activación óptima, la respuesta y maduración de las células “naive”, de adultos y neonatos, son similares y que el patrón Th2 expresado por células de neonato no es una condición intrínseca de la respuesta de las células T de neonato.⁴⁸

CONCLUSIONES

El estudio de la respuesta inmunológica en neonatos puede brindar soluciones a procesos patológicos de gran interés médico (por ejemplo, sepsis en neonatos). Inicialmente se ha calificado al SI del neonato como “inmaduro”, y se han realizado estudios fenotípicos y funcionales que apoyan esta línea de pensamiento.

Sin embargo, también se han realizado acercamientos experimentales que demuestran una capacidad similar de la respuesta celular, en neonatos y adultos. De estos ensayos se concluye que la inmadurez observada en el neonato no es inicialmente debida a defectos cualitativos (capacidad de respuesta de las células), sino a las condiciones en las que se realiza el estímulo inmunológico, como por ejemplo: la dosis antigénica, la vía de estimulación, la naturaleza química de los antígenos, así como el microambiente presente. Estos factores deben ser tomados en cuenta como reguladores e iniciadores del proceso de activación celular y crear modelos experimentales que exploren la capacidad de respuesta del SI del neonato, en forma integral. Es deseable además diseñar sistemas experimentales que analicen el desarrollo del proceso de activación celular, en las fases tempranas y tardías, que exploren con mayor detenimiento las señales co-estimulatorias necesarias que derivan en respuestas efectoras inmunocompetentes en el neonato.

Tabla 3
Características funcionales importantes de células T del neonato, comparadas con células T de adulto

• Menor capacidad citotóxica en respuesta a estímulo alogénico. • Capacidad de proliferación celular similar a la de adultos en respuesta a estímulo mitogénico. • Menor capacidad de expresión de IL-4, IFN-γ y TNF-α. • Menor desarrollo de enfermedad de injerto contra huésped, al ser utilizadas como fuente de células para trasplante de médula ósea. • Mayor susceptibilidad que células de adulto a desarrollar “Tolerancia inmunológica”.

ABSTRACT

Response capacity of the immunologic system it is not the same throughout the life. It has been observed that the infections are but frequent during the first year of life, rather than in the adult life, something which seems to indicate that the newborn are unable to developing effective immunologic response, during the stage of the immunologic primary challenges. They have been described phenotypic and functional differences, between the immunologic system of the newborn and of the adult; based on them is thought that the immunologic system of the newborn is "immature". However, also they have been accomplished experimental approximations that demonstrate a similar capacity of cellular response, in newborn and adult. Of these trials is concluded that the immaturity observed in the newborn, it is not initially had to qualitative defects (as response capacity of the cells); but to the conditions in those which is accomplished the immunologic stimulus. The present article intends to provide relevant information and updated on the nature and development of immunologic response in the newborn.

KEY WORDS: *Newborn; immunologic system, cellular response.*

REFERENCIAS

1. Kovarik J, Siegrit CA. Immunity in early life. *Immunol Today* 1998; 19: 150-2.
2. Bona C, Bot A. Neonatal immunoresponsiveness. *The Immunologist* 1997; 5: 5-9.
3. Opdenakker G, Fabbe W E, van Damme J. The molecular basis of leukocytosis. *Immunol Today* 1998; 19: 182-9.
4. Back R, Lam-po-Tang PR. Comparison of cord blood and adult blood normal ranges: a possible explanation for decreased severity of graft versus host disease after cord blood transplantation. *Immunol Cell Biol* 1994; 72: 440-4.
5. Harris DT, Schumacher MJ, Locascio J, Besencon FJ, Olson GB, DeLuca D et al. Phenotypic and functional immaturity of human umbilical cord blood T lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 10006-10.
6. Han P, Hodge G, Story C, Xu X. Phenotypic analyses of functional T-lymphocyte subtypes and natural killer cells in human cord blood: relevance to umbilical cord blood transplantation. *British J Haematol* 1995; 89: 773-40.
7. Motley D, Meyer MP, King RA, Naus GJ. Determination of lymphocyte immunophenotypic values for normal full normal full-term cord blood. *Am J Clin Pathol* 1996; 105: 38-43.
8. Rablan-Harzog C, Lesange S, Gluckman E, Charron D. Characterization of lymphocyte subpopulations in cord blood. *J Hematother* 1993; 2: 255-7.
9. Hassan J, Reen DJ. Cord blood CD4+T cells archive a lower magnitude of activation when compared with their adult counterparts. *Immunology* 1997; 90: 397-401.
10. D'Arena G, Musto P, Cascavilla N, Di Giorgio G, Fusilli S, Zendoli F et al. Flow cytometric characterization of human umbilical cord blood lymphocytes: immunophenotypic features. *Haematologica* 1998; 83: 197-203.
11. Brugnoli D, Airo P, Graf D, Marconi M, Lebowitz M, Plebani A et al. Ineffective expression of CD40 ligand on cord blood T cells may contribute to poor immunoglobulin production in the newborn. *Eur J Immunol* 1994; 24: 1910-24.
12. Zola H, Fusco M, Macardale PJ, Flego L, Robertson D. Expression of cytokine receptors by human cord blood lymphocytes: comparison with adult blood lymphocytes. *Pediatr Res* 1995; 38: 397-403.
13. Zola H, Fusco M, Weedon H, Macardale PJ, Ridgins J, Robertson D. Reduced expression of interleukin-2-receptor gamma chain on cord blood lymphocytes: relationship to functional immaturity of the neonatal immune response. *Immunology* 1996; 87: 86-91.

14. Saito S, Morii T, Umenkage H, Makita K, Nishikawa K, Narita N et al. Expression of the interleukin-2 receptor γ chain on cord blood mononuclear cells. *Blood* 1996; 87: 3344-50.
15. Ghang M, Suen Y, Sun min Lee, Baly D, Buzby JS, Knoppel E et al. Transforming growth factor-1 β , Macrophage inflammatory protein-1 α and interleukin-8 gene expression is lower in stimulated human neonatal compared with adult mononuclear cells. *Blood* 1994; 84: 118-24.
16. Andersson U, Andersson, Lindfors A, Wagner K, Möller G, Heusser CH. Simultaneous production of interleukin-2, interleukin-4 and interferon- γ by activated human blood lymphocytes. *Eur J Immunol* 1990; 20: 1591-6.
17. Sautois B, Fillet G, Beguin Y. Comparative cytokine production by *in vitro* stimulated mononucleated cells from cord blood and adult blood. *Exp Hematol* 1997; 25: 103-8.
18. Sun min Lee, Sue Y, Chang L, Bruner V, Qian J, Indes J, Knoppel E et al. Decreased interleukin-12 (IL-12) from activated cord versus adult peripheral blood mononuclear cells and upregulation of interferon- γ , natural killer, and lymphokine activated killer activity by IL-12 in cord blood mononuclear cells. *Blood* 1996; 88: 945-54.
19. Lau AS, Sigaroudinia M, Yeung MC, Kohl S. Interleukin -12 induces interferon- γ expression and natural killer cytotoxicity in cord blood mononuclear cells. *Pediatric Res* 1996; 39: 150-5.
20. Scott ME, Kubin M, Kohl S. High level interleukin-12 production, but diminished interferon- γ production, by cord blood mononuclear cells. *Pediatr Res* 1997; 41: 547-53.
21. Splawski J B, Nishioka, Lipsky P E. CD40 ligand is expressed and functional on activated neonatal T cells. *J Immunol* 1996; 156: 119-27.
22. Durandy A, De saint Basile G, Lisowska-Groszpiere B, Gauchat JF, Forveille M, Kroczeck RA et al. Undetectable CD40 ligand expression on T cells and low B cell responses to CD40 binding agonists in human newborns. *J Immunol* 1995; 154: 1560-8.
23. Puck JM, Balley LC, Conley ME. Up-date on linkage of x linked severe combined immunodeficiency (SCIDX1) to loci in Xq 13. *Cytogenet* 1991; 58: 330-5.
24. Paiva A, Freitas A, Loureiro A, Couceiro A, Martinho A, Simoes O et al. Functional aspects of cord blood lymphocytes response to polyclonal and allogeneic activation. *Bone Marrow Transplant* 1998; 22 : S31-4.
25. Cairo MS, Wagnet JE. Placental and/or umbilical cord blood: An alternative source of hematopoietic stem cells for transplantation. *Blood* 1997; 9012: 4665-78.
26. Gluckman E, Rocha V, Boyer Chamard A, Locatelli F, Acece W, Souillrt G. Results of cord blood transplants in Europe. *Blood* 1996; 88: 485.
27. Rubinstein P, Carrier C, Adamson J, Migliaccio A, Berkowitz R, Kurtzbarg J et al. New York Blood Center's program for unrelated placental/umbilical cord blood (PCB) transplantation: 243 transplants in the first 3 years. *Blood* 1996; 88: 142.
28. Billingham R, Brent I, Medawar P. Quantitative studies on tissue transplantation immunity. The survival times of skin homografts exchanged between members of different inbred strains of mice. *Proc R Soc London* 1956; 143B: 43-58.
29. Billingham R, Medawar P. Actively acquired tolerance of foreign cells. *Nature* 1953; 172: 603.
30. Sorg RV, Kogler G, Wernet P. Identification of cord blood dendritic cells as an immature CD11c-population. *Blood* 1999; 93: 2302-7.
31. Risdon G, Gaddy J, Ateghan FB, Broxmeyer HE. Proliferative and cytotoxic responses of human cord blood T lymphocyte following allogeneic stimulation. *Cell Immunol* 1994; 154: 14-24.
32. Bertoto A, Gerli R, Lanfranccone L, Crupi S, Aracangeli C, Cerneti C et al. Activation of cord T lymphocyte. Cellular and molecular analysis of the defective response induced by anti-CD3 monoclonal antibody. *Cell Immunol* 1990; 127: 247-59.
33. Porcu P, Gaddy J, Broxmeyer HE. Alloantigen-induced unresponsiveness in cord blood T lymphocytes is associated with defective activation of Ras. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 4538-43.
34. Halista SM, Johnson-Robbins LA, El-Mohandes AE, Lees A, Mond JJ, Katona IM. Characterization of early activation events in cord blood B cells after stimulation with T cell-independent activators. *Pediatr Res* 1998; 43: 496-503.
35. Chin TW, Ank BJ, Murakami D, Gill M, Spina C, Strom S et al. Cytotoxic studies in human newborns: lessened allogeneic cell-Induced (augmented) cytotoxicity but strong lymphokine-activated cytotoxicity of cord mononuclear cells. *Cell Immunol* 1986; 103: 241-51.

36. Barbey C, Irion O, Helg C, Chapuis B, Grand C, Chizzolini C et al. Characterization of the cytotoxic alloresponse of cord blood. *Bone Marrow Transplant* 1998; 22: S26-30.
37. Rukavina D, Laskarin G, Rubesa G, Strbo N, Bedenicki I, Manestar D et al. Age-related decline of perforin expression in human cytotoxic T lymphocytes and natural killer cells. *Blood* 1998; 92: 2410-20.
38. Takahashi N, Imanishi K, Nishida H, Uchiyama T. Evidence for immunologic immaturity of cord blood T cells. Cord blood T cells are susceptible to tolerance induction to *in vitro* stimulation with a superantigen. *J Immunol* 1995; 155: 5213-9.
39. Macardle PJ, Wheatland L, Zola H. Analysis of the cord blood T lymphocyte response to superantigen. *Hum Immunol* 1999; 60: 127-39.
40. Toubert A, Douay C, Chalumeau N, Garderet L, Dulphy N, Zilber MT et al. Effects of superantigenic stimulation on the cord blood alphabeta T cell repertoire. *Bone Marrow Transplant* 1998; 22: S36-8.
41. Schelonka RL, Raaphorst FM, Infante D, Kraig E, Teale JM, Infante AJ. T cell receptor repertoire diversity and clonal expansion in human neonates. *Pediatr Res* 1998; 43: 396-402.
42. Delespesse G, Yang LP, Ohshima Y, Demeure C, Shu U, Byun DG et al. Maturation of human neonatal CD4+ and CD8+ T lymphocytes into Th1/Th2 effectors. *Vaccine* 1998; 16: 1415-9.
43. Kilpinen S, Hurme M. Low CD3+CD28-induced interleukin-2 production correlates with decreased reactive oxygen intermediate formation in neonatal T cells. *Immunology* 1998; 94: 167-72.
44. Aggarawal S, Gupta A, Nagata S, Gupta S. Programmed cell death (apoptosis) in cord blood lymphocyte. *J Clin Immunol* 1997; 17: 63-73.
45. Drenou B, Choqueux C, El Ghalbzouri A, Blancheteau V, Toubert A, Charron D et al. Characterization of the roles of CD95 and CD95 ligand in cord blood. *Bone Marrow Transplant* 1998; 22: S44-7.
46. Ridge JP, Fuchs EJ, Matzinger P. Neonatal tolerance revisited: Turning on newborn T cells with dendritic cells. *Science* 1996; 271: 1723-6.
47. Sarzotti M, Robbins DS, Hoffman PM. Induction of protective CTL responses in newborn mice by a murine retrovirus. *Science* 1996; 271: 1726-8.
48. Forsthuber T, Yip H C, Lehmann PV. Induction of Th1 and Th2 immunity in neonatal mice. *Science* 1996; 271: 1728-30.