

Tolerancia inmunitaria oral a las proteínas de la dieta

Juan Fraj Lázaro

Hospital Clínico Universitario. Zaragoza.

Durante las fases de diferenciación y maduración linfocíticas se genera un repertorio ilimitado de receptores de células T y B que reconocerán todo tipo de antígenos. Consecuentemente, un gran número de linfocitos en desarrollo tendrán receptores que pueden reaccionar contra autoantígenos y contra antígenos extraños, pero inocuos, derivados de alimentos y de bacterias comensales. Las respuestas inmunitarias perjudiciales contra autoantígenos se previenen mediante mecanismos de tolerancia central que acontecen en el timo y la médula ósea, gracias a los cuales las células T y B autorreactivas son eliminadas del repertorio mediante procesos de anergia/delección clonal. Además, algunas células T que reconocen autoantígenos expresarán el factor de transcripción FoxP3 (*forkhead box Protein 3*) y se transformarán en células T reguladoras naturales (nTreg). En ambos casos se requiere la interacción del receptor de la célula T (TCR) con el antígeno afín. Sin embargo, estos procesos de tolerancia central resultan insuficientes para prevenir reacciones contra antígenos inocuos presentes en el intestino tales como proteínas alimentarias y microorganismos comensales, de ahí que resulte necesario elaborar una buena respuesta inmunitaria de tolerancia periférica en el aparato digestivo.

Tolerancia inmunitaria inducida en la mucosa intestinal

El intestino se expone, continuamente, a grandes cantidades de material antigénico extraño. Un adulto puede ingerir más de 100 gramos/día de proteínas heterólogas en su dieta y, además, el intestino está colonizado por una densa comunidad de bacterias comensales a la que llamamos microbiota. La densidad de estos microbios va incrementándose a lo largo del tubo digestivo, alcanzando más de 10^{12} bacterias por gramo de contenido intestinal en el colon. Paralelamente, el sistema inmunitario intestinal debe generar inmunidad protectora contra antígenos nocivos y tolerancia hacia antígenos inocuos. Las respuestas inmunitarias patológicas dirigidas contra la microbiota podrían derivar en enfermedades inflamatorias intestinales tales como la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa. La incidencia de la enfermedad inflamatoria intestinal no para de aumentar en todo el mundo pudiendo afectar, en algunos países occidentales, hasta al 0.6 % de la población (1). La no inducción de tolerancia a las proteínas alimentarias puede generar alergia y enfermedad celíaca (2).

En esta revisión utilizaremos el término “tolerancia oral” para describir la tolerancia a antígenos solubles administrados por vía oral y discutiremos sus mecanismos en el contexto más amplio de “tolerancia inducida en la mucosa intestinal”.

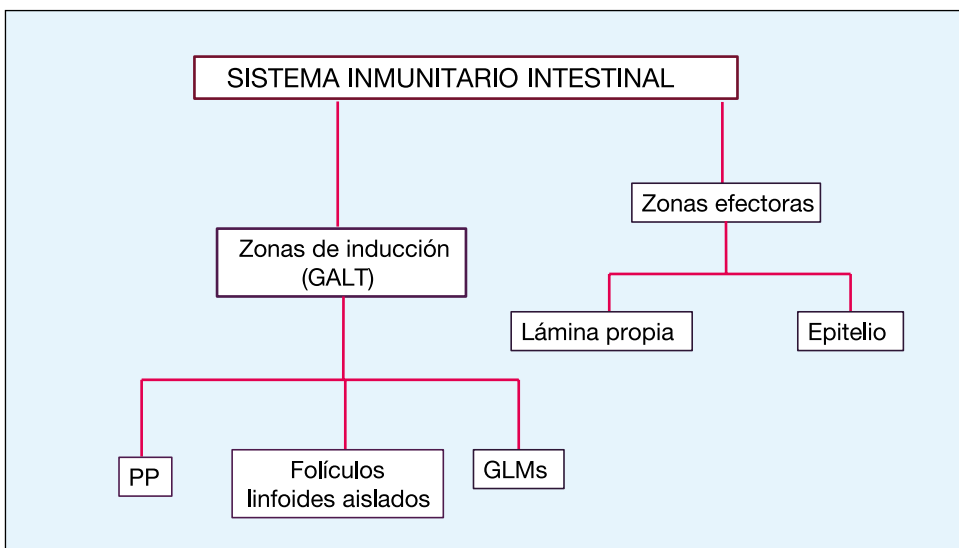
Efectos de la tolerancia oral

Los efectos de la tolerancia oral pueden ser computados como reducciones en las reacciones inmunológicas de hipersensibilidad retardada, en la proliferación de células T y en la producción de citoquinas. Igualmente, pueden ser suprimidas las respuestas inmunitarias humorales, especialmente la producción de IgE, de IgG2a Th1-dependiente y de IgA en las mucosas (3). De este modo, la tolerancia oral atenúa un amplio rango de respuestas inmunológicas e interviene, decisivamente, en la homeostasis inmunitaria.

Mecanismos de captación antigénica en la mucosa intestinal

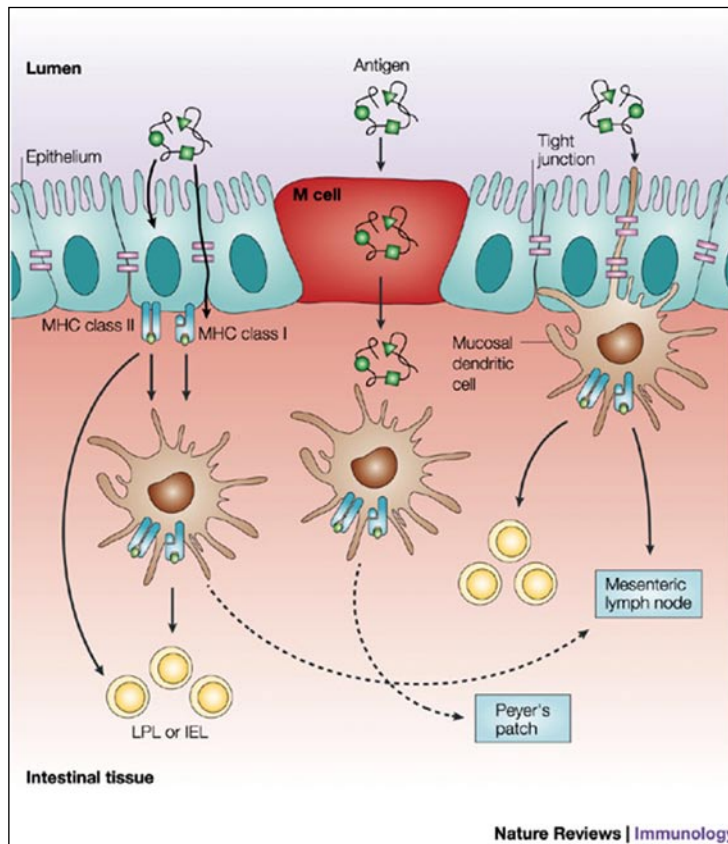
El sistema inmunitario intestinal puede ser dividido, anatómicamente, en lugares inductivos y efectores (Figura 1). Los lugares inductivos incluyen los tejidos linfoides asociados al intestino (GALT), entre los que se encuentran las placas de Peyer (PP), los folículos linfoides aislados y los ganglios linfáticos mesentéricos (GLMs). La lámina propia (LP) y el epitelio constituyen los lugares efectores. Las estructuras histológicas del GALT son esenciales para el reconocimiento inmunológico de antígenos particulados. Cabe destacar la especial capacidad de las células M (*microfold* o micropliegue)

Figura 1. Lugares de inducción y efectores del sistema inmunitario intestinal



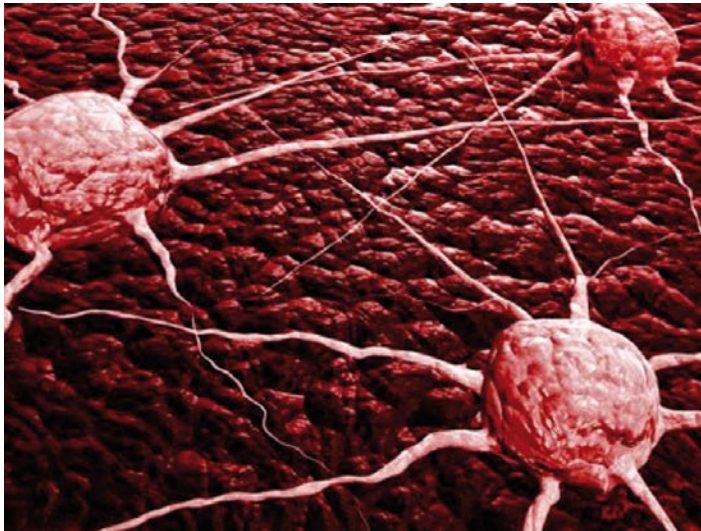
(Figura 2), presentes en el epitelio de las PP/folículos linfoides aislados, para transportar, activamente, material antigénico desde la luz intestinal a las áreas linfoides del GALT (4). La captación antigénica por las células dendríticas (CDs) situadas en la lámina propia subyacente al epitelio vellosos es fundamental para la inducción de tolerancia a antígenos en el intestino delgado (Figura 2). A pesar del bajo pH gástrico y de la presencia de enzimas proteolíticos que pueden desintegrar proteínas en el estómago y primeras porciones del intestino delgado, algunos componentes alimentarios son resistentes a la degradación y, consecuentemente, permanece material inmunogénico en la luz intestinal. Experimentalmente se ha demostrado que el antígeno, administrado por vía oral, puede ser detectado, íntegramente, en los enterocitos y en la LP intestinal pocos minutos después de su ingesta (5). Además, al cabo de 30-60 minutos podemos observar células CD11c+ (células dendríticas CD103 + y macrófagos CX3CR1^{high}) cargadas con el antígeno (6).

Figura 2. Captación y transporte transcelular del antígeno mediado por las células M especializadas



Las formas de acceso de los antígenos lumbinales a estas CDs, a través de la barrera intestinal, supuestamente impermeable, sólo es parcialmente conocida. Los complejos moleculares más grandes pueden ser transportados, a través de los enterocitos, mediante transcitosis (7). Igualmente, el material antigénico puede alcanzar la LP dentro de exosomas, en donde viene conjugado con las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad de clase II (MHC-II) expresadas en el citoplasma del enterocito. Posteriormente, estos exosomas serán endocitados, eficientemente, por CDs. En los últimos años se ha prestado especial atención a una población específica de células mieloides, presentes en la LP, que expresan el receptor para la quimioquina CX3C (células CX3CR1). Estas células rastrean la luz intestinal, en busca de material antigénico, expandiendo sus pseudópodos a través de las uniones intercelulares (8). No son, por naturaleza, CDs, ya que son incapaces de emigrar a los GLMs y presentar antígenos a las células Th0, indiferenciadas. Se las considera esenciales en la inducción de tolerancia inmunológica a las bacterias comensales (9) (Figura 3).

Figura 3. Células CX3CR1+ con sus amplios pseudópodos



Diseminación del antígeno más allá del intestino

Los antígenos administrados por vía oral pueden diseminarse a través de las vías sanguínea y linfática y generar tolerancia sistémica. Las proteínas de origen alimentario pueden ser detectadas en la sangre inmediatamente después de su ingesta (10). Desde las PP y/o la LP el antígeno puede ingresar en el torrente sanguíneo y, a través de la vena porta, alcanzar, primero, el hígado y, posteriormente, el resto de órganos linfoides periféricos en donde puede inducirse tolerancia inmunológica mediante la presentación del antígeno por las CDs tolerogénicas convencionales.

Pero, exactamente, ¿dónde y cómo el antígeno absorbido puede contribuir a la inducción de tolerancia inmunitaria? Un lugar seguro es el hígado. La vena porta drena sangre desde el intestino al hígado y, en animales de experimentación, es bien sabido que la inyección directa del antígeno en ella induce tolerancia específica para ese antígeno (11). El hígado contiene varias subpoblaciones de células presentadoras de antígeno especializadas que contribuyen a la inducción de tolerancia. Las células endoteliales sinusoidales pueden actuar como células presentadoras de antígeno e inducir tolerancia. La presentación del antígeno por las células de Kupffer, las CD8 hepáticas convencionales y plasmocitoides inducen tolerancia inmunitaria con gran efectividad. Los antígenos que sobrepasan el hígado pueden ser captados por las CD8 tolerogénicas residentes en los ganglios linfáticos periféricos y el bazo, en donde inducirán anergia de linfocitos T y/o generación de células Treg. Pero, si bien todos estos hechos son evidentes, el transporte de las proteínas antigénicas desde la LP a los GLMs por las CD8 CD103+ va a ser el acontecimiento clave en los fenómenos de tolerancia inmunitaria oral y sus consecuencias sistémicas (12). La migración de este tipo de CD8 a los GLMs requiere la presencia del receptor de quimioquina CCR7 (13). De esta manera, el GLM es el lugar clave de inducción de tolerancia oral.

Celulas dendríticas CD103+ migratorias y condiciones locales adecuadas para crear un microambiente tolerogénico en los GLMs

CD103 es una integrina αE , expresada por una población específica de CD8 migratorias presentes en la LP intestinal, que se une a la cadena $\beta 7$ de otra integrina ($\alpha 4\beta 7$), presente en la matriz extracelular. Estas CD8 CD103+, que transportan proteínas antigénicas desde el intestino, no transitan más allá de los GLMs y no entran en la circulación sanguínea ni en otros órganos linfoides (14). Son particularmente potentes en generar células Treg FoxP3 (15). Parte de las propiedades funcionales de las CD8 CD103+ están relacionadas con su capacidad de metabolizar la vitamina A de la dieta (retinoides) a ácido retinoico (AR). El AR es fundamental para inducir moléculas CCR9 y $\alpha 4\beta 7$ sobre las células T activadas (16). Además, el AR derivado de las CD8 CD103+ actúa como cofactor en la transformación, mediada por TGF- β , de células T CD4 indiferenciadas en células Tregs antígeno-específicas.

Las propiedades especiales de las CD8 CD103+ de la mucosa intestinal no son compartidas por las CD8 CD103+ presentes en otros tejidos y vienen determinadas por el microambiente en el propio tejido intestinal (17). Concretamente, las células epiteliales intestinales promueven un fenotipo tolerogénico de CD8 mediante la producción de linfopoyetina estromal tímica, TGF- β y AR (18). El AR participa, decisivamente, en la configuración de las propiedades fisiológicas de las CD8 CD103+ y, por ende, en sus efectos sobre las células T, ayudando a inducir y mantener un único fenotipo Treg FoxP3+ (19). Las fuentes de producción de AR intestinal, a partir de los retinoides de la dieta (20), incluyen las células epiteliales, las propias CD8 CD103+ y,

especialmente, las células del estroma, no hematopoyéticas, de los GLMs que expresan altos niveles de enzimas productoras de AR (aldehído dehidrogenasas ó ALDH).

Mecanismos de tolerancia oral

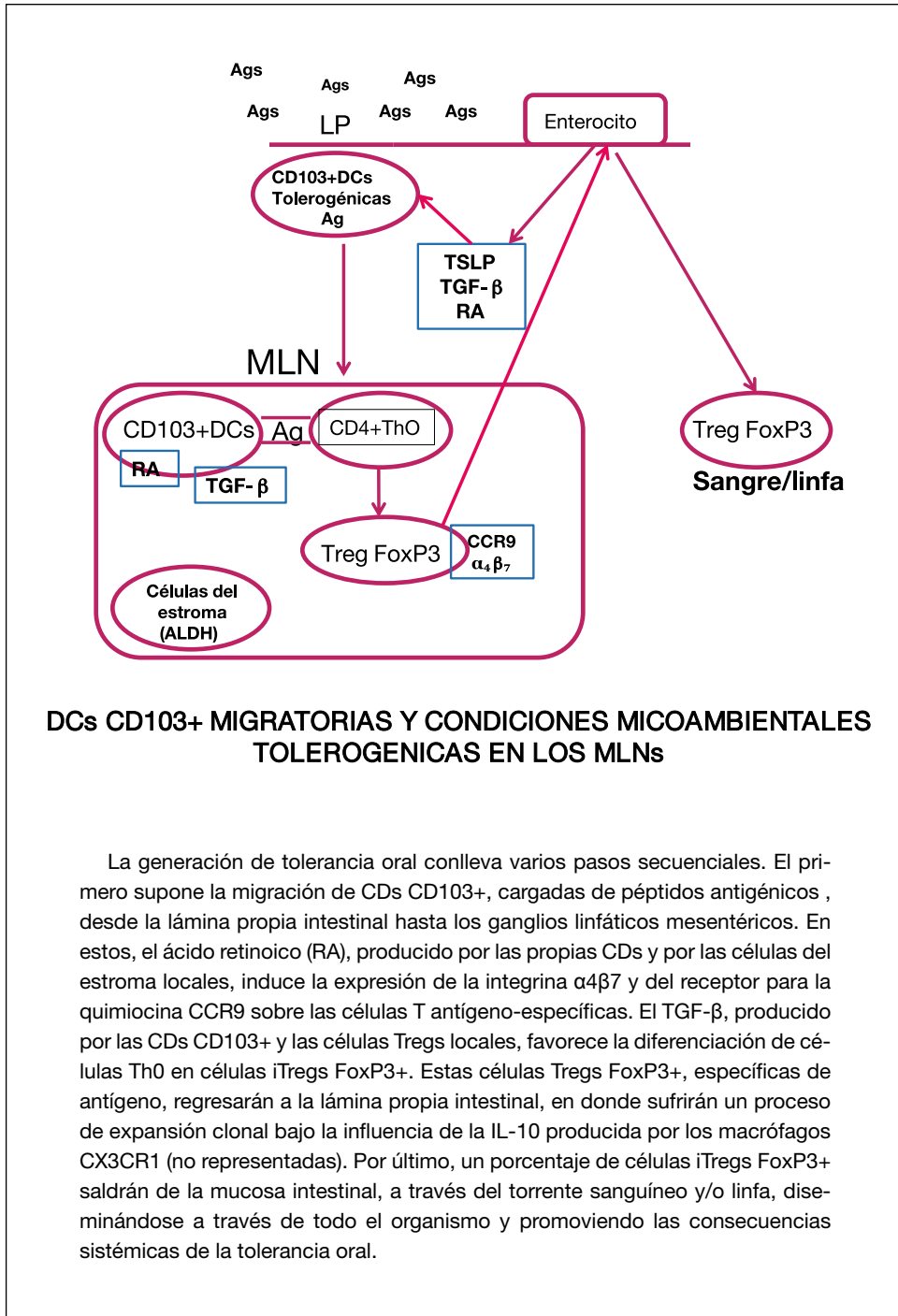
Como con otros modelos de tolerancia periférica, han sido implicados diferentes mecanismos en la tolerancia oral, incluyendo inmunorregulación por células Tregs, deleción y anergia clonal de células T. Inicialmente se creyó que los mecanismos de tolerancia oral venían determinados por el régimen de alimentación, de forma que la ingestión de grandes cantidades de proteínas favorecería la anergia y deleción clonales, mientras que dietas pobres en proteínas favorecerían una supresión mediada por células Treg antígeno-específicas. Sin embargo, esto no es cierto ya que se han demostrado altas concentraciones de células Tregs FoxP3+ en la sangre de pacientes alimentados con altas cantidades de proteínas (21). En todo caso, los GLMs y las CD103+ son elementos claves en la generación de células Tregs antígeno-específicas y, por lo tanto, en los fenómenos de tolerancia inmunológica. La transferencia de células T CD4+CD25+FoxP3+ antígeno-específicas a animales que nunca han entrado en contacto con ese antígeno puede conferirles tolerancia oral. Por el contrario, la depleción de este tipo de células la anula (22). Además de estas células FoxP3+, otros fenotipos de células T regs, FoxP3-, han sido implicadas en la tolerancia oral, incluyendo células Tr1 y Th3 productoras de IL-10. Es bien conocido que las poblaciones de células Tregs, FoxP3+ y FoxP3-, todas ellas productoras de IL-10, están presentes en la mucosa intestinal (23).

Las poblaciones de células Tregs mejor caracterizadas expresan FoxP3. Las células Tregs FoxP3+ pueden ser clasificadas en células Tregs FoxP3 + naturales (nTregs) y FoxP3+ inducidas (iTregs) (24). Las células nTregs son seleccionadas en el timo como mecanismo de tolerancia a lo propio, mientras que las células iTregs son generadas desde células T CD4+ Th0/indiferenciadas en los órganos linfoides periféricos. Además, mientras las nTregs son estables "in vivo" (25), las iTregs pueden diferenciarse en otras células T helper bajo condiciones microambientales inflamatorias específicas (26).

Un modelo de generación y mantenimiento de tolerancia oral

Dada la gran cantidad de proteínas extrañas, potencialmente alergénicas, ingeridas con nuestra dieta diaria, la generación de células iTregs, en respuesta a antígenos intestinales, debería ser un proceso continuado. La inducción y mantenimiento de tolerancia oral (27) conlleva varios procesos secuenciales que involucran a órganos linfoides y a la mucosa intestinal (Figura 4). La microbiota intestinal ejerce profundos efectos sobre el sistema inmunitario en tanto en cuanto diferentes especies bacterianas pueden favorecer o impedir la inducción de células Tregs FoxP3+ (28).

Figura 4. Generación de la tolerancia oral en la mucosa intestinal



DCs CD103+ MIGRATORIAS Y CONDICIONES MICOAMBIENTALES TOLEROGENICAS EN LOS MLNs

La generación de tolerancia oral conlleva varios pasos secuenciales. El primero supone la migración de CDs CD103+, cargadas de péptidos antigénicos, desde la lámina propia intestinal hasta los ganglios linfáticos mesentéricos. En estos, el ácido retinoico (RA), producido por las propias CDs y por las células del estroma locales, induce la expresión de la integrina $\alpha_4\beta_7$ y del receptor para la quimiocina CCR9 sobre las células T antígeno-específicas. El TGF- β , producido por las CDs CD103+ y las células Tregs locales, favorece la diferenciación de células Th0 en células iTregs FoxP3+. Estas células Tregs FoxP3+, específicas de antígeno, regresarán a la lámina propia intestinal, en donde sufrirán un proceso de expansión clonal bajo la influencia de la IL-10 producida por los macrófagos CX3CR1 (no representadas). Por último, un porcentaje de células iTregs FoxP3+ saldrán de la mucosa intestinal, a través del torrente sanguíneo y/o linfa, diseminándose a través de todo el organismo y promoviendo las consecuencias sistémicas de la tolerancia oral.

Bibliografía

1. Burisch J. Crohn's disease and ulcerative colitis. Occurrence, course and prognosis during the first year of disease in a European population-based inception cohort. *Dan Med J* 2014; 61:B4778
2. Meresse B, Ripoché J, Heyman M et al. Celiac disease: from oral tolerance to intestinal inflammation, autoimmunity and lymphomagenesis. *Mucosa Immunol* 2009; 2:8-23.
3. Hostmann A, Meyer T, Maul J et al. Preexisting antigen-specific immune responses are modulated by oral KLH feeding in humans. *Eur J Immunol* 2015; 45:1991-6.
4. Suzuki K, Kawamoto S, Maruya M et al. GALT: organization and dynamics leading to IgA synthesis. *Adv Immunol* 2010; 107:153-85.
5. Katz JD, Janssen EM. Breaking T cell tolerance to beta cell antigens by merocytic dendritic cells. *Cell Mol Sci* 2011; 68:2873-83.
6. Chang JH, Lee JM, Youn HJ et al. Functional maturation of lamina propria dendritic cells by activation of NKT cells mediates the abrogation of oral tolerance. *Eur J Immunol* 2008; 38:2727-39.
7. Ménard S, Cerf-Bensussan N, Heyman M. Multiple facets of intestinal permeability and epithelial handling of dietary antigens. *Mucosal Immunol* 2010; 3:247-59.
8. Ogasawara N, Kojima T, Go M et al. Epithelial barrier and antigen uptake in lymphoepithelium of human adenoids. *Acta Otolaryngol* 2011; 131:116-23.
9. Little MC, Hurst RJ, Else KJ. Dynamic changes in macrophage activation and proliferation during the development and resolution of intestinal inflammation. *J Immunol* 2014; 193:4684-95.
10. Husby S, Foged N, Host A et al. Passage of dietary antigens into the blood of children with coeliac disease. Quantification and size distribution of absorbed antigens. *Gut* 1987; 28:1062-72.
11. Invernizzi P. Liver auto-immunology: the paradox of autoimmunity in a tolerogenic organ. *J Autoimmun* 2013; 46:1-6.
12. Pabst O, Bernhardt G, Förster R. The impact of cell-bound antigen transport on mucosal tolerance induction. *J Leukoc Biol* 2007; 82:795-800.
13. Comerford I, Harata Lee Y, Bunting MD et al. A myriad of functions and complex regulation of the CCR7/CCL19/CCL21 chemokine axis in the adaptive immune system. *Cytokine Growth Factor Rev* 2013; 24:269-83.
14. Milling S, Yrlid U, Cerovic V. Subsets of migrating intestinal dendritic cells. *Immunol Rev* 2010; 234:259-67.
15. Worthington JJ, Czajkowska BI, Melton AC et al. Intestinal dendritic cells specialize to activate transforming growth factor- β and induce FoxP3+ regulatory T cells via integrin $\alpha\upsilon\beta 8$. *Gastroenterology* 2011; 180:2-12.
16. Takeuchi H, Yokota A, Ohoka Y et al. Efficient induction of CCR9 on T cells requires coactivation of retinoic acid receptors and retinoid X receptors (RXRs): exaggerated T cell homing to the intestine by RXR activation with organotins. *J Immunol* 2010; 185: 5289-99.
17. Scott CL, Aumeunier AM, Mowat AM. Intestinal CD103+ dendritic cells: master regulators of tolerance?. *Trends Immunol* 2011; 32:412-9.
18. del Río ML, Bernhardt G, Rodríguez-Barbosa JI et al. Development and functional specialization of CD103+ dendritic cells. *Immunol Rev* 2010; 234:268-81.
19. Agace WW, Persson EK. How vitamin A metabolizing dendritic cells are generated in the gut mucosa. *Trends Immunol* 2012; 33:42-8.
20. Agace W. Generation of gut-homing T cells and their localization to the small intestinal mucosa. *Immunol Lett* 2010; 18:21-3.

21. Siewert C, Lauer U, Cording S et al. Experience-driven development: effector/memory-like αE +Foxp3⁺ regulatory T cells originate from both naive T cells and naturally occurring naive-like regulatory T cells. *J Immunol* 2008; 180:146-55.
22. Dubois B, Joubert G, Gómez de Agüero M et al. Sequential role of plasmacytoid dendritic cells and regulatory T cells in oral tolerance. *Gastroenterology* 2009; 137:1019-28.
23. Saqacuchi S, Miyara M, Costantino CM et al. FOXP3⁺regulatory T cells in the human immune system. *Nat Rev Immunol* 2010; 10:490-500.
24. Curotto de Lafaille MA, Lafaille JJ. Natural and adaptative foxp3 regulatory cells: more of the same or a division of labor?. *Immunity* 2009; 30:626-35.
25. Campbell DJ, Koch MA. Phenotypical and functional specialization of FOXP3⁺ regulatory T cells. *Nat Rev Immunol* 2011; 11:119-30.
26. Koenecke C, Czeloth N, Bubke A et al. Alloantigen-specific de novo-induced FoxP3⁺ Treg revert in vivo and do not protect from experimental GVHD. *Eur J Immunol* 2009; 39:3091-6.
27. Hadis U, Wahl B, Schultz O et al. Intestinal tolerance requires gut homing and expansion of FoxP3 regulatory T cells in the lamina propia. *Immunity* 2011; 34:237-46.
28. Nishio J, Honda K. Immunoregulation by the gut microbiota. *Cell Mol Life Sci* 2012; 69:3635-50.