

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Activación policlonal de linfocitos B en la Leishmaniasis Visceral. Una revisión.

Figueiras M¹, Ferreira G¹, Fernández A¹, Fergusson A¹



RESUMEN

La Leishmaniasis Visceral (LV) es una histoparasitosis producida por protozoarios del género *Leishmania sp.* Un hallazgo característico es la hipergammaglobulinemia asociada a la activación policlonal de linfocitos B. Se llevó a cabo una revisión exhaustiva con el objetivo de describir las características, mecanismos y efectos de este fenómeno. Para ello se realizaron búsquedas en las bases de datos MEDLINE y LILACS incluyendo 36 artículos publicados entre 1982 y 2014. La respuesta inmune al parásito varía: la de tipo Th1 (IFN γ), con activación de macrófagos, es efectora; mientras que la Th2 (IL-10), con producción de anticuerpos, es perjudicial. Estudios coinciden en que niveles bajos de IFN- γ y elevados de IL-10, y recientemente de IL-33, son indicadores de gravedad. Dos hipótesis explican la activación policlonal de linfocitos B en la LV: la primera es dependiente del parásito, con un creciente número de antígenos identificados (PGS, GLP, gp63 y LmS3arp). La segunda involucra a linfocitos T reguladores, y recientemente a células dendríticas, como inductores de linfocitos B. La activación de los mismos posee fundamentalmente un papel negativo, gracias a la producción de autoanticuerpos y respuestas de hipersensibilidad tipo III. Sin embargo se plantean beneficios relacionados con células B de memoria. En conclusión, la activación policlonal de linfocitos B es característica intrínseca y temprana de la enfermedad, parece depender de la localización y especie del parásito involucrado, es desencadenada por antígenos parasitarios y células del huésped, con un papel más perjudicial que beneficioso.

Palabras clave: Hipergammaglobulinemia, Inmunidad humoral. *Leishmania infantum*, Leishmaniasis visceral, Linfocitos B,

¹Escuela de Medicina "Luis Razetti", Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

Av. José María Vargas, Edificio Karamacate, Urbanización Santa Fe Norte, Caracas, Venezuela, CP:1080.
E-mail: manuefigueiras@gmail.com

Recibido: 16/03/15.
Aceptado: 12/05/15.
Publicado: 18/07/15.

INTRODUCCIÓN

La leishmaniasis es una histoparasitosis producida por protozoarios del género *Leishmania sp.* de localización intracelular en células del sistema fagocítico mononuclear, caracterizada por lesiones cutáneas, mucosas o viscerales, y transmitida por la picadura de insectos dípteros de la familia *Phlebotominae sp.* géneros *Phlebotomus sp.* y *Lutzomyia sp.* La leishmaniasis visceral (LV) es la forma diseminada de la enfermedad en donde los parásitos tienen tropismo hacia órganos profundos (bazo, hígado y médula ósea) y sólo en raras ocasiones hay afectación cutánea; es causada por *Leishmania (Leishmania) infantum/chagasi* en América, África y Europa y por *Leishmania (Leishmania) donovani* en África e India. En la leishmaniasis visceral es característica la activación policlonal de linfocitos B asociándose a hipergammaglobulinemia y fenómenos inmunes con formación de autoanticuerpos y de respuestas de hipersensibilidad tipo III (RHS-III), por lo que se le atribuye a ésta un papel fundamental en la patogenia de la enfermedad. Por otra parte, en estudios recientes se han considerado a las células B policlonales como posibles blancos terapéuticos. A pesar de que la activación de linfocitos B en la LV es un fenómeno estudiado desde hace por lo menos tres décadas, todavía se develan nuevos conceptos e implicaciones para la enfermedad, persistiendo incógnitas por contestar. Por lo que para diagnosticar, comprender y tratar esta enfermedad es de vital importancia el estudio de este tema. Se llevó a cabo una revisión exhaustiva de la literatura sobre la activación policlonal de linfocitos B en la leishmaniasis visceral con el objetivo de determinar los conceptos previos y nuevos avances en cuanto a sus características, mecanismos de producción y efectos positivos o negativos en la patogenia de la enfermedad.

MÉTODOS

Se tomó en cuenta la declaración PRISMA del 2009 ("Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses", por sus siglas en inglés) para la realización del protocolo de búsqueda y reporte de los resultados de la revisión [1]. Como fuente de información, se realizaron búsquedas electrónicas utilizando las bases de datos MEDLINE y LILACS. Para asegurar la amplitud de la revisión, se incluyeron revisiones científicas, ensayos clínicos aleatorizados y protocolos experimentales de investigación tanto en animales como en humanos, para un total de 36 artículos publicados entre 1982 y 2014 en inglés o español y de revistas científicas indexadas y de alto impacto.

Para el mecanismo de exploración electrónica en la base de datos de MEDLINE se utilizó el motor de búsqueda PubMed con el uso de descriptores indexados en el MeSH. Para la base de datos de LILACS se utilizó el motor de búsqueda de la Biblioteca Virtual de Salud (BVS) y de la Biblioteca Científica Electrónica en Línea (SciELO) con el uso de descriptores indexados en el DeCS. La última búsqueda se realizó el 14 de junio de 2014.

Para cada artículo se extrajo la información en cuanto al primer autor, año de publicación, título de la revista, métodos, limitaciones y resultados. Luego se obtuvo una síntesis de las conclusiones más importantes y se clasificó en uno de los tres tópicos del objetivo de la revisión: 1) Características, 2) Mecanismos de producción y 3) Efectos positivos o negativos de la activación policlonal de linfocitos B en la leishmaniasis visceral. Los datos del primer autor y el título de la revista fueron empleados para extender la búsqueda y encontrar otras referencias.

RESULTADOS

Existen tres formas clínicas de la leishmaniasis [2,3]. En una de éstas, la leishmaniasis cutánea localizada, los parásitos tienen tropismo por la piel, causando lesiones predominantemente ulcerativas con poca probabilidad de invasión a tejidos profundos; es causada por gran variedad de especies de *Leishmania sp.*, tanto del subgénero *Leishmania*, como del subgénero *Viannia*. Otra forma clínica, la cutáneo-mucosa puede afectar tanto la piel como mucosas, predominando en la región facial con compromiso del aparato respiratorio superior. Ésta es causada por especies de *Leishmania sp.* del subgénero *Viannia*. En la tercera forma de enfermedad, la leishmaniasis visceral (LV), los parásitos tienen tropismo hacia órganos profundos del sistema fagocítico-mononuclear y es causada por *Leishmania (leishmania) infantum/chagasi* en América, África y Europa y por *Leishmania (leishmania) donovani* en África e India.

1.- Características de la activación policlonal de linfocitos B en la leishmaniasis visceral

1.1.- Hipergammaglobulinemia como un aspecto clínico de la leishmaniasis visceral.

En la LV se observa entre el 80-100% de los casos fiebre, hepatoesplenomegalia y palidez cutáneo-mucosa. Datos analíticos reflejan: pancitopenia entre el 70-90%, e hipergammaglobulinemia policlonal (IgG e IgM) en aproximadamente 67% de los casos [4-9]. Puede asociarse hipoalbuminemia con edema y malnutrición, función hepática normal o alterada y en etapas más avanzadas pueden disminuir los factores de la coagulación.

Las complicaciones aparecen a largo plazo, y cuando la enfermedad no es tratada cursa con caquexia severa, hemorragias graves

y predisposición a infecciones, que son la causa de mortalidad más frecuente en estos pacientes [9-11]. La hipergammaglobulinemia a expensas de IgG e IgM, es la consecuencia clínica de la activación policlonal de linfocitos B y se asocia a complicaciones a largo plazo como glomerulonefritis, amiloidosis secundaria, anemia hemolítica y recientemente se han reportado casos de hepatitis autoinmune [2,9-11]. Por otra parte, la hipergammaglobulinemia puede ser fácilmente comprobable, incluso en medios rurales o países con bajos recursos, por medio de la prueba Formol-gelificación de Napier; que a pesar de no ser específica, en combinación con la hepatoesplenomegalia y la pancitopenia aportan un valor predictivo para la leishmaniasis visceral [2,9].

1.2.- Respuesta inmune efectora y patológica en la Leishmaniasis Visceral

La infección por *Leishmania sp.* generalmente induce una respuesta inmune muy compleja que incluyen desde mecanismos de inmunidad inespecífica, como reacciones inflamatorias, hasta mecanismos de inmunidad específica mediados por células o por anticuerpos. La respuesta inmune varía de acuerdo a diferentes factores: la forma clínica de la enfermedad, la especie de *Leishmania sp.* implicada y la cronicidad de la enfermedad, sin embargo, los diferentes mecanismos implicados no siempre aparecen ni se desarrollan simultáneamente [7,12,13].

En términos generales se ha observado una fuerte respuesta mediada por células T para las formas cutánea localizada y cutáneo-mucosa de la enfermedad, y ausencia de ella en las formas cutánea difusa y visceral. La respuesta de células T se ha evidenciado por reacciones de hipersensibilidad retardada (reacción de Montenegro) y proliferación de linfocitos in vitro frente a antígenos de *Leishmania sp.* [7,12-15]. Pilar S et al. [7] encontraron que los títulos

de anticuerpos contra antígenos específicos de *Leishmania*, principalmente de tipo IgG, por lo general son bajos en el suero de pacientes con leishmaniasis cutánea y mucosa, mientras que son moderados o altos en pacientes con leishmaniasis cutánea difusa y visceral. Sin embargo, los individuos con lesiones cutáneas crónicas presentan mayores índices de respuesta inmune humoral o celular que mostrados por los pacientes con lesiones de corta duración.

Estos planteamientos concuerdan con el hecho de que en la forma cutánea localizada y cutánea-mucosa de la enfermedad predomina la respuesta inmune celular, mientras que en la cutánea difusa y visceral predomina la respuesta humoral. A diferencia de la respuesta inmune de tipo humoral, aquella que es mediada por células, cumple un papel protector contra las infecciones por *Leishmania sp.* porque se asocia con el control de la infección y la resolución de las lesiones [3,8,12,13]. Al parecer, las células que permanecen infectadas son las responsables de inducir la respuesta inmune específica puesto que ellas posiblemente se encarguen de la presentación antigénica. El linfocito T que interactúa con los antígenos presentes en la membrana de la célula infectada prolifera y produce IFN γ e IL-2. Estas citocinas, junto con las producidas por las células infectadas tales como TNF α y el Factor Estimulante de Colonias de Granulocitos/Macrófagos (GM-CSF) activan la célula fagocítica presentadora de antígenos, para que sea ésta la que destruya y elimine los amastigotes que tiene en su interior por medio de la producción de Óxido Nítrico (NO) [4,5,13,14]. Recientemente se ha descubierto que el subconjunto de células T tipo Th17, han reportado ser capaces de realizar diversas funciones en el curso de la leishmaniasis visceral, ya que la respuesta inmune innata, dependiente de este tipo de células, es esencial para la detección temprana del parásito y el posterior desarrollo de una respuesta eficaz por parte de células NK [15-

18].

La diferencia en subpoblaciones de células Th1 y Th2 determina si la respuesta inmunológica será o no efectora. Actualmente se desconocen los factores exactos que dirigen o determinan la expansión de una u otra subpoblación de células Th. Sin embargo, se ha observado que cuando existe una gran cantidad de antígenos solubles, o cuando el linfocito B se comporta como célula presentadora de antígeno, la respuesta será de tipo Th2. Por su parte, la respuesta será de tipo Th1 cuando hay presencia de poco antígeno soluble o la célula presentadora son los macrófagos o las células dendríticas [4]. Las citocinas de tipo Th1 (IL-2, IFN γ) participan en la regulación del granuloma y en la activación de macrófagos inflamatorios para aumentar su capacidad microbicida [4,5,13]. Una evidencia del papel protector de la respuesta Th1 ante la infección leishmánica es que la depleción de células T de los ratones naturalmente resistentes a la infección por *L. Tropica*, retrasa la resolución de su enfermedad. [7] Por su parte, las citocinas de tipo Th2 (IL-4-6, IL-9-10, e IL-13) regulan la producción de anticuerpos por los linfocitos B y el desarrollo de una respuesta inmune de tipo humoral [4,5,13]. Sin embargo ésta no es protectora debido a que el parásito emplea mecanismos de evasión como la vida intracelular y la “reorganización y capping” de anticuerpos [16].

Se han realizado varios estudios, tanto en humanos como en modelos murinos, para tratar de correlacionar los patrones de citocinas producidas por células T con las formas clínicas de la leishmaniasis. Castés M, et al. [13] encontraron que en los pacientes con leishmaniasis cutánea difusa y leishmaniasis visceral hay un predominio de citocinas tipo Th2, ya que no hay producción de IFN γ , ni IL-2; en la leishmaniasis cutánea, por su parte se caracteriza por un patrón de citoquinas tipo Th1 con producción de IL-2. Gama M. [19]

logró establecer en un estudio publicado en 2013, la relación entre los perfiles de citoquinas y la presencia de marcadores inmunológicos asociados con manifestaciones clínicas y en particular con signos de gravedad de la leishmaniasis visceral, demostrando que la gravedad de la enfermedad se asocia con niveles bajos de IFN- γ y elevados de IL-10. En los modelos murinos también se ha evidenciado este patrón, Campos-Neto et al. [17] demostraron en hámsteres, que la resistencia a la infección visceral por *L. donovani*, está asociada con la activación y proliferación de células T CD4 Th1 para generar IFN- γ y TNF- α . En cambio la progresión de la enfermedad en este modelo se correlacionó con la producción de IL-4, IL-5, e IL-10 por otro subconjunto de células T (Th2) con anergia clonal de las células T tipo Th1.

La supresión de la respuesta Th1, es característica y esencial para el desarrollo de la leishmaniasis visceral, y puede estar asociada a presentación inapropiada de antígenos y la comunicación entre las células presentadoras de antígenos y células T, así como la inhibición recíproca de la respuesta Th2 sobre la Th1 mediante la secreción de IL-10 e IL-4. [4] Gifawesen, C. y Farrell, P [14] aportan evidencia de esta anergia, porque demostraron que las respuestas de hipersensibilidad retardada (RHS-IV) están ausentes en pacientes con enfermedad visceral y que además, los linfocitos procedentes de estos pacientes no proliferan ni producen linfoquinas después de la estimulación in vitro con antígenos leishmánicos y, en algunos casos, a mitógenos de linfocitos T como el concaavalir A [7]. Sin embargo el deterioro de la respuesta es específica, y rápidamente reversible con la quimioterapia efectiva [12,18].

En relación a este fenómeno, se postula actualmente que la IL-10 es una de la citocinas más importantes implicadas en la patogénesis de la enfermedad [15]. Los pacientes con LV activa tienen niveles elevados de IL-10 en

suero, así como de niveles incrementados de mRNA IL-10 en el bazo, los ganglios linfáticos y la médula ósea.

A pesar de esto, nuevas citocinas han surgido como coadyuvantes en la supresión de la respuesta celular. Rostan O. y colaboradores [20], señalan que la IL-33 podría ser un nuevo regulador perjudicial de la respuesta inmune hepática contra *Leishmania donovani*, a través de la represión de la respuesta Th1 Murray H. y colaboradores, [21] indican que la inhibición de la IL-13 por tratamiento con IgG anti receptor Fc-IL-13R α 2 inhibe a la *L. donovani* en ratones BALB/c, pero no permite la muerte completa del parásito, así como señalan que el exceso de IL-13 suprime la secreción de IFN- γ y promueve la infección por *L. donovani*.

Finalmente, recientemente se ha estudiado los factores genéticos que pueden intervenir en la supresión de la respuesta celular durante la enfermedad. Se ha encontrado que la mayoría de los individuos infectados con *L. donovani* o *L. infantum* nunca desarrollan la enfermedad, lo que sugiere que factores genéticos pueden estar implicados en la resistencia y susceptibilidad. El polimorfismo en el gen SLC11a, vinculado a la proteína de macrófagos asociada a resistencia natural (NRAMP por sus siglas en inglés), está relacionada a la resistencia de la enfermedad en murinos, sin embargo no está claramente relacionado con el desarrollo de la enfermedad en humanos [12].

1.3.- Papel de las células B en la leishmaniasis visceral

Las células B desempeñan una función de protección en las infecciones por algunos protozoos, como en el caso de los merozoítos de *Plasmodium* sp. entre las fases eritrocíticas; pero en otros como la *Leishmania* sp. la inmunidad humoral desempeña un papel mínimo en la protección contra la enfermedad

[22], demostrado por la presencia de bajos niveles de anticuerpos circulantes específicos y la falta de éxito de la mayoría de los experimentos de transferencia de suero [23]. Por el contrario, la inmunidad humoral se considera como un factor determinante para la progresión de la enfermedad, y entre los elementos patógenos que se les atribuyen a los linfocitos B en LV están: 1.- la masiva respuesta de células B con la activación policlonal y marcada hiperplasia linfoide que conduce a hipergammaglobulinemia, con presencia de anticuerpos séricos inespecíficos para el parásito y 2.- la presentación antigénica de las células B, ya que se ha demostrado que la presencia de éstas es necesaria para la generación de células T supresoras que pudieran contribuir a cambios inmunopatológicos, a través de un efecto supresor activo sobre la respuesta celular protectora y del reclutamiento de una subpoblación de macrófagos que promueven la supervivencia y el crecimiento intracelular del parásito [4,23,24]. Este segundo mecanismo no parece ser importante en la exacerbación de la enfermedad por infección con especies de *Leishmania* dermatotrópicas [24].

La activación policlonal no es un evento universal del género *Leishmania* sp., sino que depende de la especie y de la localización de la infección [3,17]: en pruebas experimentales en modelos de hámster, Campos A et al. [17] demostraron que los hámsteres infectados con la especie viscerotropa (*Leishmania donovani*) desarrollaron anticuerpos anti-*Leishmania* e hipergammaglobulinemia por la activación policlonal de linfocitos B sólo cuando había infección visceral, en contraste, los hámsteres con infección cutánea por *L. donovani*, y los infectados con las especies dermatotrópicas (*L. braziliensis* y *L. amazonensis*), incluyendo a un pequeño porcentaje de ellos que sufrieron visceralización, no mostraron incremento de la concentración de inmunoglobulinas ni en el número de células plasmáticas. Lo

que demuestra que tanto la especie como la localización parasitaria son determinantes en la respuesta policlonal de linfocitos B.

Finalmente, en la actualidad la activación policlonal de células B no sólo se ve como una característica intrínseca de la enfermedad, también se ve como posible blanco para la intervención terapéutica de los fenómenos autoinmunes que ocurren en ella [22-25]. Los tratamientos que inducen depleción de células B han demostrado ser eficaces para el tratamiento de las enfermedades autoinmunes asociadas a producción de autoanticuerpos y depósitos de inmunocomplejos, no sólo a través de la reducción de los niveles de autoanticuerpos, sino también con la supresión de células T [24]. Sin embargo, Smelt y colaboradores [25] observaron que los ratones BALB/c células B-deficientes son más susceptibles a desarrollar patología hepática destructiva, asociada a la presencia de un mayor número de neutrófilos, y con la formación acelerada de granulomas hepáticos, en comparación a ratones de tipo salvaje. Lo que demuestra que un exceso de inmunidad celular también puede ser perjudicial; y por otra parte Casabianca A. [27], describió un caso en el que el tratamiento inmunológico depresor de células B, puede enmascarar los síntomas de la LV, retrasar su diagnóstico y tratamiento, con resultados desfavorables en estos casos, por lo que las implicaciones de las intervenciones terapéuticas sobre las células B deben ser manejadas con sumo cuidado y estudiadas con mayor profundidad.

2.- Mecanismos de producción de la activación policlonal de linfocitos B en la leishmaniasis visceral

En la leishmaniasis visceral, el ganglio linfático de drenaje (GLD) es el sitio inicial de la colonización después de la inoculación intradérmica de los promastigotes por el

vector [4,24,25], sin embargo, se conoce poco sobre la respuesta inmune desarrollada en este sitio. Deak E. y colaboradores, [24] usaron un modelo murino de infección intradérmica que permitió la diseminación del parásito a órganos profundos, con el cual demostraron que es en el GLD donde ocurre la primera expansión policlonal de células B, que persiste a lo largo de la infección. Además, se ha observado que el número de parásitos aumenta continuamente con el tiempo en el GLD, así como en el bazo. Por tanto, estos lugares son sitios de persistencia del parásito. En etapas más avanzadas de la enfermedad, la activación policlonal de linfocitos B predomina en el bazo, posiblemente como consecuencia de los cambios patológicos como la pérdida significativa de las células dendríticas foliculares, y la subsiguiente pérdida de los centros germinales [25].

Dos grandes hipótesis explican la activación policlonal de los linfocitos B en la LV. Una de ellas implica un mecanismo dependiente del parásito mientras que la segunda involucra a las células del hospedero como inductores directos de las células B.

2.1.- Activación policlonal de linfocitos B relacionada con componentes del parásito.

Se ha observado en el modelo hámster que en los animales infectados con *L. donovani* existe una relación cinética sorprendente entre el incremento en el número de células secretoras de anticuerpos y el aumento en el número de parásitos en el bazo de los animales estudiados [17, 28]. En otro estudio realizado por Bunn-Moreno, M. y colaboradores [28], con hámsteres infectados con *L. donovani*, se demostró que un extracto crudo de *L. donovani* contiene componentes que causan fuerte activación policlonal *in vitro* de células de bazo de hámster que conducen a la secreción de anticuerpos específicos o no contra el parásito. Estas observaciones sugieren

que la hipergammaglobulinemia puede ser el resultado de la activación policlonal de las células B inducida por componentes del parásito.

Un creciente número de antígenos de *Leishmania sp.* en este contexto han sido identificados. La relación entre la activación policlonal de linfocitos B y las moléculas glicoconjugadas de *Leishmania sp.* incluyendo fosfoglicanos (PGS) y lipofosfoglicano (GLP) está bien definida, pero no así su papel exacto en el proceso. En un estudio realizado por Dong Liu y colaboradores, [6] se investigó la interacción de *L. major*, que carece tanto de PG y el GLP, con las células dendríticas y la subsiguiente respuesta inmune temprana en ratones infectados, y se encontró que los fosfoglicanos modulan de manera continua la respuesta inmune temprana de las células dendríticas, inhibiendo la presentación de antígenos y promoviendo una respuesta con liberación de IL-4 e IL-10, mientras que su ausencia puede afectar el equilibrio entre las respuestas Th1 y Th2. Otras proteínas *Leishmania*-específicas juegan un papel importante en el desarrollo de la enfermedad, tales como la Proteasa de superficie gp63, la glicoproteína de superficie gp46, y la proteína asociada a KMP11 [7]. Hay una creciente evidencia de que proteínas ribosómicas del parásito son capaces de desempeñar funciones extracromosómicas y tomar un papel importante en la patogenia de la enfermedad. Entre éstas se encuentra la proteína ribosomal recombinante LmS3arp.

En un estudio realizado por Da-Silva, y colaboradores [7], con la inyección de la LmS3arp en ratones BALB/c ha demostrado que induce la activación preferencial de células B, gracias a que evidenciaron un incremento en el número de plasmocitos y niveles de anticuerpos IgM en el suero de los animales inyectados. La mayoría de estos anticuerpos IgM eran inespecíficos para los antígenos

de *Leishmania sp.*, y reconocían antígenos heterólogos, como la miosina, la tiroglobulina, y ADN del hospedero. Por otra parte, la fuerte expansión policlonal, se acompañó de una marcada inhibición de la proliferación de células T y una regulación a la baja de INF- γ e IL-2. En conjunto, estos datos sugieren que LmS3arp, a través de la acción directa o indirecta hacia las células B, podría participar en el equilibrio de la respuesta inmune Th1 y Th2.

2.2.- Activación policlonal de linfocitos B relacionada con linfocitos T.

Está descrito en estudios realizados por Campos-Neto y Bunn-Moreno [17,28], que posiblemente la hipergammaglobulinemia en la LV está relacionada con una segunda teoría en la que participan los linfocitos T reguladores. Esto coincide con las publicaciones de Lohoff, M y colaboradores [29] donde se presentó una clara evidencia experimental con un extracto purificado de células TL3T4 (linfocitos TCD4+) obtenido a partir de los ganglios linfáticos que drenan las lesiones de ratones infectados con *L. major*. Este extracto estimula in vitro la proliferación y diferenciación policlonal de las células B en plasmocitos.

No se ha dilucidado aún el mecanismo por el cual linfocitos T activan a estas células, pero se piensa que es por medio de un factor soluble de corto alcance, por contacto directo célula-célula o por ambos mecanismos [28,29]. Otros de los hallazgos importantes en este estudio sustentan la activación policlonal de linfocitos B, mediante la inducción por células T, cuyos resultados demostraron que una proliferación medible de 2×10^5 células B se indujo con tan sólo 5×10^2 células T clonadas. Lo que significa que una célula T CD4 es suficiente para desencadenar una proliferación medible en 4×10^2 células B [29].

Recientemente, se ha estudiado otra población

linfocitos T implicados en la activación policlonal de linfocitos B, son aquellos que tienen receptores TCR gamma-delta. Un estudio realizado por Raziuddin S. y colaboradores [30], demostró que los linfocitos T- $\gamma\delta$ incrementan en pacientes con LV, actúan por medio de la secreción de IL-2, y la presencia de éstos se asocia con incremento plasmático de factor de crecimiento de las células B (BCGF) y factor de diferenciación células B (BCDF), lo que podría explicar la hipergammaglobulinemia. Los linfocitos T- $\gamma\delta$ también se han asociado al mantenimiento de la expansión policlonal de células B en las fases crónicas de las infecciones por *Plasmodium falciparum* y *Toxoplasma gondii*.

Por último, otras células accesorias, tales como macrófagos o células dendríticas pueden modular la respuesta de activación policlonal [31]. Por ejemplo, células dendríticas y macrófagos pueden ser estimuladas a través de los Toll-like receptor (TLR) por diversos microorganismos para secretar citocinas estimuladoras de células B, tales como IL-1 e IL-6.

Esta segunda hipótesis no excluye a la primera, y habla más bien a favor de que la relación de ambas es lo que desencadena la activación policlonal de los linfocitos B, dando especial importancia al papel que tiene la interacción de antígenos del parásito con las células del hospedero en el desarrollo de la respuesta. De hecho se ha evidenciado que en ausencia de linfocitos T, ni los antígenos específicos de *L. major* ni los promastigotes vivos indujeron la proliferación de células B [29].

3.- Efectos de la activación policlonal de linfocitos B en la leishmaniasis visceral.

La hipergammaglobulinemia en la LV se ha asociado a la presencia de grandes cantidades de autoanticuerpos contra diversas proteínas y

haptenos del hospedero (ADN, músculo liso, miosina, tiroglobulina) [2,4,22,24,25,31].

Se proponen distintos papeles para la activación policlonal de células B en LV [22,31], pero ésta posee un papel fundamentalmente negativo. En primer lugar puede ser considerada como una estrategia del parásito para evadir la respuesta inmune específica del hospedero, gracias a la génesis de un desbalance Th1/Th2 que perjudica la respuesta inmune protectora, y a la producción de los llamados “anticuerpos con especificidades irrelevantes” [16, 31]; en segundo lugar la activación policlonal de linfocitos B tiene un papel fisiopatológico en las secuelas autoinmunes de la enfermedad desencadenadas por autoanticuerpos o reacciones de hipersensibilidad de tipo III [2, 22, 31].

Recientemente se ha demostrado una gran diferencia entre las subclases de anticuerpos específicos en las distintas formas clínicas de la leishmaniasis [4,32]. Es así como en la leishmaniasis cutánea simple predominan las subclases de inmunoglobulinas IgG1 e IgG3, en la leishmaniasis cutáneo-mucosa la subclase IgG3, en la leishmaniasis cutánea difusa la subclase IgG4 y en la leishmaniasis visceral los anticuerpos predominantes son IgG1. Esta producción selectiva de subclases de anticuerpos parece estar relacionada con las citoquinas secretadas por cada tipo de células [4]: las Th1 son inductoras de la producción de IgG2a, mientras que las Th2 inducen la producción de IgE y IgG1, además de la diferencia en la cantidad de producción de anticuerpos entre las distintas formas de leishmaniasis, las subclases de anticuerpos producidos en la leishmaniasis visceral puede ser determinante en la génesis de las secuelas autoinmunes, ya que está bien establecido que la mayoría de los autoanticuerpos humanos son del tipo IgG1 [33].

Se ha demostrado una alta incidencia de inmunocomplejos en pacientes con LV [2,22,31]. Algunas hipótesis se han planteado para explicar los mecanismos implicados en la generación de complejos inmunocirculantes [2]:

En primer lugar, la reacción de antígenos circulantes del parásito, luego de la ruptura celular con sus correspondientes anticuerpos, sin embargo, se ha evidenciado que los inmunocomplejos purificados a partir del suero de pacientes con leishmaniasis visceral contienen pocos antígenos del parásito [2].

En segundo lugar, los inmunocomplejos también se forman por una reacción entre autoanticuerpos y sus autoantígenos correspondientes o como consecuencia de interacción entre inmunoglobulinas [2,34,35]. La persistencia de los inmunocomplejos en pacientes con leishmaniasis visceral se ve favorecida por la infección. La *Leishmania sp.* induce a una proliferación difusa de las células del sistema fagocítico mononuclear, especialmente en la médula ósea, ganglios linfáticos, bazo e hígado, es posible que el parásito interfiera con la capacidad de estos órganos para depurar los inmunocomplejos, asegurando así su persistencia [2].

Por otra parte, la presencia de autoanticuerpos podría explicarse por mecanismos como: 1) liberación de antígenos reclusos por la lisis celular inducida por el parásito, 2) reactividad cruzada entre el parásito y antígenos del tejido o 3) activación policlonal de linfocitos B. Es posible que el efecto combinado de estos fenómenos podría romper la tolerancia inmunológica y generar la producción de autoanticuerpos [2].

Es interesante destacar que en la última década, durante la expansión de la epidemia del VIH/SIDA en áreas endémicas de leishmaniasis,

ha incrementado el número de pacientes coinfectados, y un creciente número de estudios han demostrado la relación entre el Virus de Inmunodeficiencia Humana y la *Leishmania sp.* Ambos agentes, comparten mecanismos inmunes que afectan el control del parásito en pacientes coinfectados. En consecuencia, estos individuos presentan una enfermedad más grave con mayor carga parasitaria, resistencia a los medicamentos, y recaídas frecuentes, en comparación con los pacientes que sólo tienen LV; por otro lado, la LV puede contribuir a la progresión más rápida hacia SIDA, que influye tanto en la depleción de linfocitos TCD4 como en la activación inmune crónica. Los posibles efectos de la *Leishmania sp.* que favorecen la replicación del VIH parecen ser la transactivación del VIH en los monocitos con infección latente y el aumento de la actividad de las células Th2, que produce la disminución de linfocitos T CD8+ VIH-específicos [36].

Finalmente, a pesar de la creciente evidencia del papel negativo de la activación policlonal de linfocitos B, recientemente se han encontrado efectos beneficiosos: puede tener un papel importante en la defensa temprana contra las infecciones por la mejora de la producción de anticuerpos naturales, así como el mejoramiento y mantenimiento de las células B de memoria, gracias a la estimulación repetitiva y sin restricciones, lo que podría mejorar la respuesta a las inmunizaciones. Sin embargo, es necesario que se realicen estudios más profundos y que se considere la relación riesgo/beneficio para que realmente, los beneficios de la activación policlonal de linfocitos B tengan implicaciones futuras [22,31].

CONCLUSIONES

En la respuesta inmune desarrollada durante la infección por *Leishmania sp.* se ha descrito

que la mediada por células T, es la que se asocia al control de la enfermedad por medio de citocinas Th1 (IFN γ e IL-2) que al activar macrófagos promueven la lisis del parásito. Por otro lado, la respuesta inmune de tipo humoral, desarrollada por medio de citocinas Th2 (IL-4, IL-10 e IL-13) con activación de linfocitos B y síntesis de anticuerpos, no es efectiva en el control de la enfermedad, ya que el parásito emplea mecanismos como la vida intracelular y la “reorganización y capping” de anticuerpos, para evadirla.

La respuesta inmunopatogénica en la leishmaniasis visceral está asociada a un desbalance Th1/Th2, desviado al polo humoral Th2 con anergia clonal específica Th1, por medio del acondicionamiento de macrófagos. Esto desencadena activación policlonal de linfocitos B, constituyendo una característica intrínseca y temprana de la enfermedad, que representa un eje central de su patogenia y una posible diana terapéutica de las secuelas inmunológicas que genera.

Actualmente se manejan dos grandes hipótesis que explican la activación policlonal de los linfocitos B en la LV. Una de estas hipótesis, implica un mecanismo dependiente del parásito, cuyos antígenos: PGS, GLP y la LmS3arp promueven una respuesta Th2 con activación policlonal de linfocitos B.

La segunda hipótesis establece que los linfocitos T reguladores, linfocitos T gamma-delta son inductores directos de las células B.

La principal consecuencia de la activación policlonal de linfocitos B son los fenómenos de autoinmunidad: la hipergammaglobulinemia en la LV se caracteriza por un aumento de autoanticuerpos, lo cual podría explicarse por la combinación de la liberación de antígenos reclusos por lisis celular, la reactividad cruzada entre el parásito y los antígenos

del hospedero y la activación policlonal de linfocitos B. De igual forma, el aumento en la producción de anticuerpos, y la disminución de su depuración condicionan a la formación de inmunocomplejos con RHS-III. Entre las consecuencias clínicas de esto se encuentran la glomerulonefritis, amiloidosis secundaria, anemia hemolítica y hepatitis autoinmune.

Se considera entonces, que las células B y la respuesta humoral con activación policlonal constituyen un factor determinante de la fisiopatología y progresión de la enfermedad visceral.

Sin embargo, recientemente el papel de los linfocitos B policlonales ha sido motivo de controversia, gracias a que se han encontrado efectos beneficiosos: puede tener un papel importante en la defensa temprana contra las infecciones y respuesta a inmunizaciones por la mejora de la producción de anticuerpos naturales y mantenimiento de las células B de memoria. Sin embargo, deben realizarse estudios experimentales que demuestren estos hallazgos.

Referencias bibliográficas

1. Urrútia G, Bonfill X. Declaración PRISMA: una propuesta para mejorar la publicación de revisiones sistemáticas y metaanálisis. *Med Clin (Barc)*.2010; 135(11):507-511.
2. Galvao B, Ferreira JA, Marzochi KF, Marzochi MC, Coutinho G, Lambert P. Polyclonal B cell activation, circulating immune complexes and autoimmunity in human american visceral leishmaniasis. *Clin Exp Immunol*.1984; 56(1): 58-66.
3. Melby PC, Yang YZ, Cheng J, Zhao W. Regional Differences in the Cellular Immune Response to Experimental Cutaneous or Visceral Infection with *Leishmania donovani*. *Infect Immun*. 1998; 66(1): 18-27.
4. Malla N, Mahajan RC. Pathophysiology of visceral leishmaniasis: some recent concepts. *Indian J Med Res*. 2006; 123(3):267-74.
5. Costa PH, Souza S, Eulálio KD, Mendonc IL, Simone S, Barbiéri CL. Recombinant Cysteine Proteinase from *Leishmania (Leishmania) chagasi* Implicated in Human and Dog T-Cell Responses. *Infect Immun*. 2005; 73(6): 3787-3789.
6. Liu D, Kebaier C, Pakpour N, Capul A, Beverley SM, Scott P, et al. *Leishmania* major Phosphoglycans Influence the Host Early Immune Response by Modulating Dendritic Cell Functions. *Infect Immun*. 2009; 77(8):3272-3283.
7. Da-Silva C, Coutinho M, Guilvard E, Ouaisi A. Dual Role of the *Leishmania* major Ribosomal Protein S3a Homologue in Regulation of T- and B-Cell Activation. *Infect Immun*. 2001; 69(11): 6588-6596.
8. Pilar S, Robledo SM. Respuesta inmune en infecciones humanas por *Leishmania* spp. *Iatreia (Colombia)*. 2000; 13(3): 167-178.
9. Badaró R, Jones TC, Lorenço R, Cerf BJ, Sampaio D, Carvalho EM, et al. A prospective study of visceral leishmaniasis in an endemic area of Brazil. *J Infect Dis*. 1986;154(4):639-49.
10. Vásquez LC, Vásquez LR, Oviedo M, Sandoval C, Méndez Y, Bastidas G et al. Perfil clínico y epidemiológico de la leishmaniasis visceral americana en el estado Trujillo, Venezuela (1975-2007). *Bol Mal Salud Amb*. 2010; 50(2): 233-242.
11. Makaritsis KP, Gatselis NK, Ioannou M, Petinaki E, Dalekos GN. Polyclonal hypergammaglobulinemia and high smooth-muscle autoantibody titers with specificity against filamentous actin: consider visceral leishmaniasis, not just autoimmune hepatitis. 2009. *Int J Infect*;13(4):157-160.
12. Kumar R, Nylén S. Immunobiology of visceral leishmaniasis. *Front. Immunol*. 2012; 3:251.
13. Castés M, Trujillo D, Calcagno M, Cacrera M, Convit J. Response Th1/Th2 in human American cutaneous leishmaniasis: it's possible relevance for the design of a vaccine. 1993; 88: 42-43.
14. Gifawesen C, Farrell P. Comparison of T-Cell Responses in Self-Limiting versus Progressive Visceral *Leishmania donovani* Infections in Golden Hamsters. *Infect Immun*. 1989; 57(10): 3091-3096.
15. Bhattacharya P, Ali N. Involvement and interactions of different immune cells and their cytokines in human visceral leishmaniasis. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2013; 46(2):128-34.
16. Lambertz U, Silverman JM, Nandan D, McMaster WR, Clos J, Foster LJ, et al. Secreted virulence factors and immune evasion in visceral leishmaniasis. 201291(6):887-899.
17. Campos A, Bunn MM. Polyclonal B Cell Activation in Hamsters Infected with Parasites of the Genus *Leishmania*. *Infect Immun*.1982; 38(3): 871-876.
18. Carvalho E, Teixeira R, Johnson W. Cell-Mediated Immunity in American Visceral Leishmaniasis: Reversible Immunosuppression During Acute Infection. *Infect Immun*. 1981; 33(2): 498-502.
19. Gama M, Gomes C, Silveira F, Laurenti M, Gonçalves E, Silva A, et al. Severe visceral leishmaniasis in children: the relationship between cytokine patterns and clinical features. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2013; 46(6):741-5.
20. Rostan O, Gangneux J, Piquet-Pellorce C, Manuel C, McKenzie AN, Guiguen C, et al. The IL-33/ST2 axis is associated with human visceral leishmaniasis and suppresses Th1 responses in the livers of BALB/c mice infected with *Leishmania donovani*. *MBio*. 2013; 4(5): 383-13.
21. Murray H, Tsai C, Ma X. Visceral *Leishmania donovani* Infection in Interleukin-13-/- Mice. *Infect Immun*. 2006; 74(4): 2487-2490.
22. Amezcua MC, Bermejo DA, Montes

- CL, Acosta EV, Gruppi, A. B-Cell Response during Protozoan Parasite Infections. *J Parasitol Res* 2012; 2012: 362131.
23. Sacks D. B cell dependent T lymphocyte responses in leishmaniasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1988; 83 Suppl 1:506-513.
24. Deak E, Jayakumar A, Wing Cho K, Goldsmith K, Dondji B, Lambris J, et al. Murine Visceral Leishmaniasis: IgM and Polyclonal B-Cell Activation Lead to Disease Exacerbation. *Eur J Immunol*. 2010; 40(5): 1355–1368.
25. Smelt S, Cotterell C, Engwerda C, Kaye P. B Cell-Deficient Mice Are Highly Resistant to *Leishmania donovani* Infection, but Develop Neutrophil Mediated Tissue Pathology. *J Immunol*. 2000; 164(7):3681-3688.
26. Blank M, Shoenfeld Y. B cell targeted therapy in autoimmunity. *J Autoimmun*. 2007; 28(2-3):62-8.
27. Casabianca A, Marchetti M, Zallio F, Feyles E, Concialdi E, Ferroglio E, et al. Seronegative visceral leishmaniasis with relapsing and fatal course following rituximab treatment. *Infection*. 2011; 39(4):375-8.
28. Bunn M, Madeira E, Miller K, Menezes J, Campos A. Hypergammaglobulinaemia in *Leishmania donovani* infected hamsters: possible association with a polyclonal activator of B cells and with suppression of T cell function. *Clin. Exp. Immunol*. 1985; 59(2): 427-434.
29. Lohoff M, Matzner, C, Rollinghoff M. Polyclonal B-Cell Stimulation by L3T4+ T cells in Experimental Leishmaniasis. *Infect Immun*. 1998; 56(8): 2120-2124.
30. Raziuddin S, Telmasani AW, el-Hag el-Awad M, al-Amari O, al-Janadi M. Gamma delta T cells and the immune response in visceral leishmaniasis. *Eur J Immunol*. 1992; 22(5):1143-1148
31. Acosta EV, Merino MC, Bermejo DA, Gruppi A. Polyclonal B cell activation in infections: infectious agents' devilry or defense mechanism of the host? 2007 *J Leukoc Biol*. 2007; 82(5):1027-1032.
32. Shiddo SA, Hultdt G, Nilsson LA, Ouchterlony O, Thorstensson R. Visceral leishmaniasis in Somalia. Significance of IgG subclasses and of IgE response. *Immunol Lett*. 1996; 50(1-2):87-93.
33. Yount WJ, Cohen P, Eisenberg RA. Distribution of IgG subclasses among human autoantibodies to Sm, RNP, dsDNA and IgG rheumatoid factor. *Mongr Allergy* 1988; 23:41-3.
34. Ramos F, Fournié G, Lambert PH. Induction of circulating immune complexes and their renal localization after acute or chronic polyclonal B-cell activation in mice. *Kidney Int Suppl*. 1982; 11:S29–S38
35. Mathias R, Costa FA, Goto H. Detection of immunoglobulin G in the lung and liver of hamsters with visceral leishmaniasis. 2001. *Braz J Med Biol Res*. 2001; 34(4): 539-543.
36. Santos-Oliveira J, Da-Cruz A. Lipopolysaccharide-Induced Cellular Activation May Participate in the Immunopathogenesis of Visceral Leishmaniasis Alone or in HIV Coinfection. *Int J Microbiol*. 2012: 364534.