

## Aspectos básicos de la inmunoestimulación

### MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS INMUNOESTIMULANTES

Los mecanismos de defensa contra microorganismos invasores requieren una rápida detección e inicio de la respuesta antimicrobiana. Las células del sistema inmune reconocen patrones moleculares compartidos entre grupos de patógenos (PAMPs). Su reconocimiento se realiza por receptores llamados Toll Like Receptors (TLR) que pertenecen a la misma familia de receptores de la mosca de la fruta (*Drosophila*); no son clonales, no dependen de memoria inmunológica e inducen una respuesta rápida. Hay diez grupos de TLRs (TLR 1-10), que son proteínas de membrana ricas en leucina y cisteína, presentes en macrófagos, células dendríticas, neutrófilos, células epiteliales y endoteliales. Inducen la expresión de moléculas coestimuladoras y citocinas a través de la activación del factor de transcripción NF $\kappa$ B y la producción de citocinas pro inflamatorias (TNF $\alpha$ , IL1 e IL12)<sup>1,2</sup>

#### Mecanismo de acción en la inmunidad inespecífica

El mecanismo exacto de los inmunomoduladores sigue investigándose. Hasta el momento se ha documentado la participación de los TLRs que reconocen patrones moleculares derivados de los microorganismos en los extractos bacterianos (lipopolisacáridos), oligonucleótidos (bacterianos o sintéticos) y RNA virales. Después de la interacción entre TLR y su ligando (Cuadro 1), se genera una señalización intracelular cuya vía final común es la activación de NF $\kappa$ B que conlleva

a la expresión de citocinas pro inflamatorias como factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ), interleucinas (IL)-1, 6, 8, 10 y 12; moléculas de adhesión como E-selectina y óxido nítrico sintetasa. También se ha documentado la activación de la vía de MAP-kinasa que activa otro factor de transcripción: AP-1.<sup>2-4</sup>

Cuadro 1. Relación TLR- Ligando y efecto

Tipo TLR	Ligando	Efecto
TLR-2	Lipoproteína 19kd <i>M. tuberculosis</i> Espiroquetas	Aumenta IL12
TLR-4	Lipopolisacárido (LPS)	Activación de NF $\kappa$ B Citocinas proinflamatorias Aumento de óxido nítrico sintetasa
TLR-5	Flagelina (Factor virulencia bacteriano)	Desconocido
TLR-9	Dinucleótidos	Aumenta IL12 Aumenta Factor inhibidor de migración 1B

#### Evidencia de activación inmune innata por inmunoestimulantes

Los oligonucleótidos como ADN CpG incrementan la producción de TNF- $\alpha$ , IL-12, 6 y óxido nítrico y aumentan la expresión del MHC clase II, CD80, CD86, en macrófagos y células dendríticas. También mejoran la actividad de presentación de antígenos.

#### Mecanismos de acción en la inmunidad específica

La activación de macrófagos, neutrófilos y células dendríticas (inmunidad inespecífica) favorece la activación de la respuesta inmune específica (linfocitos T y B).

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: [www.revistasmedicasmexicanas.com.mx](http://www.revistasmedicasmexicanas.com.mx)

### **Evidencia de activación inmune específica por inmunoestimulantes**

Los oligonucleótidos (ADN CpG) en los linfocitos B incrementan la producción de IL-6, IL-10 e inmunoglobulinas y la expresión de MHC Clase II, CD80 y CD 86, además de estimular la proliferación de linfocitos B e incrementar la resistencia a la apoptosis.

El pidotimod inhibe la apoptosis de timocitos y mejora la respuesta a mitógenos.

Otros inmunoestimulantes como los lisados bacterianos y los lisados bacterianos + ribosomas estimulan la producción de IgA en mucosas.

### **Mecanismo de acción en contra de infecciones virales**

La respuesta inmunitaria a las infecciones virales depende de diversos mecanismos que incluyen inmunidad inespecífica y específica humoral y celular. Un mecanismo de defensa importante es la producción de interferones que tienen dos funciones principales: inhibir la replicación viral y activar los mecanismos de defensa del huésped. Una función importante de los interferones en la inmunidad antiviral es incrementar la expresión de los antígenos MHC-I y mostrar las células infectadas por virus a LT CD8+ citotóxicos.

Los inmunoestimulantes participan en la defensa contra virus a través de varios mecanismos: Mediante los TLRs (TLR3) reconocen RNA viral, dando como resultado la producción de citocinas pro inflamatorias; mediante la producción de interferones tipo I (alfa y beta) por macrófagos y otros como el factor de transferencia y extractos bacterianos + ribosomas, estimulan la producción de INF $\gamma$  por LT.

### **PRESENTACIONES DISPONIBLES EN MÉXICO**

En el ámbito de la terapia inmune, la inmunoestimulación forma parte de los pilares conocidos en la medicina como parte de ella: protección, eliminación, sustitución e inmunomodulación;

se considera esta última en dos vertientes: inmunoestimulación e inmunosupresión<sup>5</sup>

En la actualidad, existen en nuestro medio una gama de presentaciones comerciales consideradas como inmunoestimulantes, que han evolucionado y en la práctica diaria de los especialistas en pediatría y de los médicos que atienden niños permite elegir con buenos fundamentos esta estrategia terapéutica (Cuadro 2).

#### **RU41740**

Excepto por RU41740, el mecanismo de acción de los productos bacterianos, así como su estructura química no están totalmente dilucidadas. RU41740 se obtiene a partir de *Klebsiella pneumoniae* por extracción con solventes orgánicos; éste consiste de dos subunidades de glicoproteínas repetitivas, la fracción P1 de la cápsula bacteriana y la fracción F1 de la membrana bacteriana externa<sup>6,7</sup>. Como RU41740 contiene los liposacáridos de la klebsiella (fracción F1), es posible que parte de su acción se debe a su efecto en los receptores de LPS, TLR4-MD2-CD14<sup>8,9</sup>. Estudios in vitro y ex vivo indican que RU41740 induce la activación de los macrófagos, así como la activación policlonal de los linfocitos B<sup>7,8</sup>.

#### **OM-85 BV**

Su efecto se ha estudiado in vitro y ex vivo en macrófagos y células monocíticas; en estas últimas OM-85 produce incremento en las concentraciones de calcio intracelular e induce la producción de la proteína regulada por glucosa (GRP 7815) y de la proteína de respuesta *fos/serum*<sup>10</sup> Estos segundos mensajeros a su vez inducen la expresión de citocinas proinflamatorias como IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-8, y TNF- $\alpha$ <sup>10-11</sup>. Además, OM-85 induce a las células fagocíticas a producir óxido nítrico y radicales libres de oxígeno<sup>11,12</sup> y a expresar moléculas de adhesión<sup>13,14</sup>. En los pacientes que reciben OM-85 se ha demostrado aumento de las respuestas inmunitarias celulares,<sup>15,16</sup> incremento en la IgA secretora<sup>12,17</sup> y en

**Cuadro 2.** Presentaciones comerciales disponibles en México

Principio Activo	Presentación	Posología	Administración	N. Comercial
Lisado de antígeno multibacteriano 1 X 10 <sup>9</sup> bacterias	comprimidos	un comp. diario/28 días. Reposo/28 días 2°. Ciclo de 28 días	VIA ORAL	Luivac (ALTANA)
Lisados bacterianos 6 X 10 <sup>8</sup> bacterias	ampolletas con solución ingerible	una amp. diaria/10 días y repetir al mes	VO	Pulmonarom (RUDEFSA)
Lisados bacterianos 1.6 X 10 <sup>9</sup> bacterias	comprimidos	un comp./día/10 días y repetir al mes	VO	Pulmotabs (RUDEFSA)
Liofilizado estandarizado de lisados bacterianos 3.5 mg	cápsula infantil	una cap. diaria/10/días cada mes/3 meses	VO	Broncho-Vaxon infantil (GRÜNENTHAL)
Pidotimod 400 mg	tabletas y solución ingerible	400 mg dos veces al día/15 días un frasco monodosis dos veces al día por 15 días	VO	Adimod (ARMSTRONG)
Lisados liofilizados y cuerpos bacterianos ( <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Streptococcus pyogenes</i> )	tabletas de 50 mg y 25 mg	25 mg diarios por 30 días	VO	Numostin (ATLANTIS)
Antígenos bacterianos liofilizados	amps. 5 y 10 mg en 0.2 mL	una amp cada 8 días (10 dosis)	ID	Paspal (ALTANA)
Glucoproteína de <i>K. pneumoniae</i>	comp. 1 mg caps. 1 mg	1er mes: dos cap./día/8 días 2° y 3er mes una cap./día/8 días	VO	Biostim (AVENTIS)
Pelargonium sidoides	elíxir 80.8 mg/mL	20 a 30 gotas 3 veces /día, sólo mayores de 12 años	VO	UMCKALOABO (FARMASA)
Alfadornasa	amp 2.5 mg	2.5 mg/día por tiempo indefinido	VO	Pulmozyme (ROCHE)
Lisado bacteriano Ribosomas + proteoglicanos de membrana	tabletas y sobres solubles de 0.5 g	Primer mes: una tableta diaria/4 días /3 semanas posteriormente una tab. 4 días por mes/ 2 a 5 meses	VO	RiboVac (PIERRE FABRE FARMA)
Glicofosfopeptical	caps. 500 mg	una cápsula 3 veces al día	VO	Inmunol (ANDRÓMACO)
Levamisol	tabletas 50 mg	1 a 2 mg/kg/día dos veces por semana por 8 semanas	VO	Decaris (JANSSEN-CILAG)
Factor de Transferencia (Extracto dializable de leucocitos)	líquido o liofilizado	Variable según patología	VO, IV y SC	Transferón ENCB del IPN **

\*\* Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional

la IgA sérica<sup>18</sup>, así como en IgG e IgM séricas<sup>19</sup> y la activación de las células fagocíticas<sup>12,17</sup>.

### D53

El D53 contiene proteoglicanos de *Klebsiella pneumoniae* y los ribosomas de cuatro diferentes especies bacterianas. El D53 estimula a los polimorfonucleares y macrófagos al inducir la fagocitosis

y la producción de citocinas proinflamatorias. Las fracciones ribosomales inducen la formación de linfocitos B específicos; en cambio, la respuesta de los linfocitos T no ha sido detectable<sup>20,21</sup>.

### Pidotimod

Fórmula: Ácido 3-L-pirolglutamilo-L-tiazolidin-4-carboxílico.

Es un péptido del ácido timodólico entre cuyos efectos estimulantes de la inmunidad, está el incremento en la producción de IL-2 y de la proliferación de linfocitos T formadores de rosetas. Aumenta la producción de aniones superóxido en los macrófagos. El pidotimod potencia la actividad de las células NK. Otra evidencia, es el incremento de las células CD25+<sup>22-25</sup>

En estudios *ex vivo* se ha demostrado que pidotimod incrementa la respuesta de los linfocitos T a los mitógenos y a la estimulación alogénica, al tiempo que aumenta la actividad de los macrófagos y granulocitos. Los pacientes tratados con pidotimod incrementaron en 12% sus cuentas de linfocitos CD3<sup>26,27</sup>. La dosis recomendada es de 400 mg dos veces al día por 15 días, seguido de 400 mg una vez al día por 60 días.

### **Factor de transferencia (FT)**

Es el extracto dializable que se obtiene del lisado de células linfoides humanas, seguido de diálisis o ultrafiltración. El resultado es un compuesto de polipéptidos hidrofílicos altamente polares de bajo peso molecular, de alrededor de 5 kD, conocido como extracto dializable de leucocitos (EDL) del cual el FT es la fracción responsable de la propiedad de transferir la respuesta inmune celular. El FT contiene altos niveles de tirosina y glicina, que le confiere similitud con algunos neuropéptidos como la encefalina. El tamaño molecular (5Kd) asegura que es un producto seguro, sin paso de microorganismos.<sup>28-31</sup>

Tiene dos formas de acción: en la primera incrementa, como adyuvante, la actividad del sistema inmunológico en forma inespecífica; la segunda es específica contra un antígeno determinado y es la responsable de transferir la inmunidad de un sujeto sano a otro enfermo. Además actúa sobre los canales del calcio, activando el transporte de este ión en las células, probablemente activando la respuesta en células del sistema inmune.<sup>28-29</sup>

Su acción en el proceso de estimulación de la inmunidad radica en la liberación de citocinas,

de éstas la más importante es la producción de INFg, lo que aumenta la actividad de los macrófagos.<sup>30,31</sup>

En nuestro país, se produce en la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN, con el nombre de Transferón.<sup>29,30</sup>

### **Timomodulina**

En el caso de los extractos de timo, no se ha precisado su naturaleza química o biológica, pero su efecto principal es en la respuesta inmunitaria celular<sup>32</sup>. El uso de los extractos tímicos está restringido debido al riesgo de encefalopatía espongiiforme (enfermedad de las vacas locas)<sup>33</sup>.

### **Levamisol**

Es un agente utilizado inicialmente como antihelmíntico, derivado del tetramizol pero con menos efectos indeseables que el compuesto original.

Su fórmula es: levo-isómero de tetramizol (2,3,5,6-tetrahydro-6-phenylimidazol (2,1-b) thiazole hydrochloride), con peso molecular de 240.71 Da.<sup>34</sup>

Su mecanismo de acción como inmunomodulador no se ha identificado plenamente, aunque se sabe que actúa como inhibidor de la fosfatasa alcalina y en el mantenimiento de la integridad de los microtúbulos, esencial para el adecuado funcionamiento de los macrófagos y linfocitos.<sup>34 35</sup>

La acción farmacológica de Levamisol se centra en el incremento de la respuesta fagocítica, la mejoría de la quimiotaxis, mediante la disminución en las concentraciones de AMPc e incremento de CMPc; además, sin ser una hormona tímica, puede inducir la liberación de sustancias endógenas que promueven maduración de células T.<sup>36,37</sup>

Los efectos indeseables de Levamisol son: agranulocitosis irreversible, linfomas; a dosis altas (20 mg/kg) y por tiempo prolongado se han descrito convulsiones en animales de experimentación.<sup>38</sup>

Otros inmunoestimulantes con mecanismo de acción conocido.

Uno de los principales obstáculos para el desarrollo de los inmunoestimulantes es el escaso conocimiento del mecanismo de acción de los productos de esta clase que se emplean para prevenir infecciones respiratorias. Es importante señalar que en otros campos existen ejemplos de inmunoestimulantes cuyo mecanismo de acción es conocido. En el caso del tucaresol, forma bases de Schiff en la superficie de los linfocitos T, probablemente en la molécula CD2, lo que proporciona una señal coestimuladora a los linfocitos T; esto a su vez incrementa la síntesis de IL2 e interferón gama<sup>39</sup>. Otro ejemplo de mecanismo de inmunoestimulación ocurre con los compuesto imidazólicos imiquimod y resiquimod (inmunoestimulantes empleados en el tratamiento de verrugas y condilomas) que actúan a través de TLR 7 y TLR 8<sup>40-42</sup>. La loxoribina, un inmunomodulador, usado como terapia auxiliar de cáncer también se une a TLR 7<sup>43</sup>.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abbas AK, Lichtman AH. Cellular and Molecular Immunology. W.B. Saunders Company 5th edition, 2003
2. Modlin RL. Mammalian toll-like receptors. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2002; 88: 543-7
3. Espinosa-Rosales F, Orozco-Martínez S, Berrón-Pérez R. Moduladores de la respuesta inmune. *Alergia e Inmunol Pediatr* 1996;5:89-94.
4. Eder W, Klimecki W, Yu L, von Mutius E, Riedler J, Braun-Fahrlander C, Nowak D, Martinez FD. ALEX Study Team. Toll-like receptor 2 as a major gene for asthma in children of European farmers. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:482-8.
5. Amaro-Hernández L, Huerta-Romano JF. Inmunomodulación en la práctica pediátrica. *Revista Mexicana de Puericultura y Pediatría* 1999;7:38-49.
6. Chaumet B, Boissier MC. Structure and distribution of RU 41740. *Presse Med* 1988;17:1423-5.
7. Boissier MC. Experimental immunopharmacology of RU 41740. *Presse Med* 1988;17:1426-9.
8. Vacheron F, Perin S, Kodari E, Smets P, Zalisz R, Guenounou M. Immunological activities of RU-41740, a glycoprotein extract from *Klebsiella pneumoniae*. III. Role of LPS-like and LPS-non-related molecules. *Res Immunol* 1989;140:159-72.
9. Miller SI, Ernst RK, Bader MW. LPS, TLR4 and infectious disease diversity. *Nat Rev Microbiol* 2005;3:36-46.
10. Keul R, Roth M, Papakonstantinou E, Nauck M, Perruchoud AP, Block LH. Induction of interleukin 6 and interleukin 8 expression by Broncho-Vaxom (OM-85 BV) via C-Fos/serum responsive element. *Thorax* 1996;51:150-4.
11. Broug-Holub E, Persoons JH, Schornagel K, Kraal G. Changes in cytokine and nitric oxide secretion by rat alveolar macrophages after oral administration of bacterial extracts. *Clin Exp Immunol* 1995;101:302-7.
12. Lusuardi M, Capelli A, Carli S, Spada EL, Spinazzi A, Donner CF. Local airways immune modifications induced by oral bacterial extracts in chronic bronchitis. *Chest* 1993;103:1783-91.
13. Marchant A, Goldman M. OM-85 BV upregulates the expression of adhesion molecules on phagocytes through a CD14-independent pathway. *Int J Immunopharmacol* 1996;18:259-62.
14. Jacquier-Sarlin MR, Dreher D, Polla BS. Selective induction of the glucose-regulated protein grp78 in human monocytes by bacterial extract (OM-85): a role for calcium as second messenger. *Biochem Biophys Res Comm* 1996;226:166-71.
15. Girard JP, Fleury S. Analyse comparative du levamisole et d'un lysat bacterien sur la reponse lymphocytaire *in vitro*. *Med Hyg* 1979;37:2519-26
16. Maestroni GJ, Losa GA. Clinical and immunobiological effects of an orally administered bacterial extract. *Int J Immunopharmacol* 1984;6:111-7
17. Emmerich B, Emslander HP, Pachmann K, Hallek M, Milatovic D, Busch R. Local immunity in patients with chronic bronchitis and the effects of a bacterial extract, Broncho-Vaxom, on T lymphocytes, macrophages, gamma-interferon and secretory immunoglobulin A in bronchoalveolar lavage fluid and other variables. *Respiration* 1990;57:90-9.
18. Cvoriscec B, Ustar M, Pardon R, Palecek I, Stipic-Markovic A, Zimic B. Oral immunotherapy of chronic bronchitis: a double-blind placebo-controlled multicentre study. *Respiration* 1989;55:129-35.
19. Puigdollers JM, Serna GR, Hernandez del Rey I, Barruffet MT, Torroella JJ. Immunoglobulin production in man stimulated by an orally administered bacterial lysate. *Respiration* 1980;40:142-9.
20. Bene MC, Faure GC. From Peyer's patches to tonsils. Specific stimulation with ribosomal immunotherapy. *Drugs*. 1997;54(Suppl 1):24-8.
21. Clot J. Pharmacology of ribosomal immunotherapy. *Drugs* 1997;54(Suppl 1):33-6.
22. Vargas-Correa JB, Espinosa-Morales S, Bolaños-Ancona JC, Farfán-Ale JA. Pidotimod en infección respiratoria recurrente en el niño con rinitis alérgica, asma o ambos padecimientos. *Rev Alergia Mex* 2002;49:27-32
23. Caramia G, Clemente E, Solli R, Mei V, Cera R, Carnelli V, Venturoli V, Corsini A. Efficacy and safety of pidotimod

- in the treatment of recurrent respiratory infections in children. *Arzneimittelforschung* 1994;44:1480-4.
24. Careddu P, Mei V, Venturoli V, Corsini A. Pidotimod in the treatment of recurrent respiratory infections in paediatric patients. *Arzneimittelforschung* 1994;44:1485-9.
  25. Burgio GR, Marseglia GL, Severi F, De Benedetti F, Masarone M, Ottolenghi A, Pagliano L, Serra U, Nespoli L. Immunoactivation by pidotimod in children with recurrent respiratory infections. *Arzneimittelforschung* 1994;44:1525-9.
  26. Benetti GP, Illeni MT, Passera A, Bombelli G, Lavecchia G, Uslenghi C. Ex vivo evaluation of pidotimod activity in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Arzneimittelforschung* 1994;44:1503-5.
  27. Benetti GP, Fugazza L, Stramba Badiale M, Montalto F, Bombelli G, La Vecchia G, Illeni MT, Uslenghi C. Ex vivo evaluation of pidotimod activity on cell-mediated immunity. *Arzneimittelforschung* 1994;44:1476-9.
  28. Huerta-López JG. Factor de transferencia. Una alternativa en el tratamiento de las enfermedades alérgicas. *Alergia e Inmunol Pediatr* 2002;11:4.
  29. García-Martín MC, Cuza-Cáceres M, Sánchez-Rodríguez A, Abdo-Rodríguez A. *Alergia e Inmunol Pediatr* 1998;7:124-7.
  30. Estrada-Parra S, Chávez-Sánchez R, Ondarza-Aguilera R, Correa-Meza B, Serrano-Miranda E, Monges-Nicolau A, Calva-Pellicer C. Immunotherapy with transfer factor of recurrent herpes simplex type I. *Arch Med Res* 1995;26(Spec No):S87-92.
  31. Fabre RA, Perez TM, Aguilar LD, Rangel MJ, Estrada-García I, Hernandez-Pando R, Estrada-Parra S. Transfer factors as immunotherapy and supplement of chemotherapy in experimental pulmonary tuberculosis. *Clin Exp Immunol*. 2004;136:215-23.
  32. Cazzola P, Mazzanti P, Kouttab NM. Update and future perspectives of a thymic biological response modifier (Thymomodulin). *Immunopharmacol Immunotoxicol* 1987;9(2-3):195-216.
  33. World Health Organization. Fact Sheet 113. Bovine spongiform encephalopathy. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs113/en/print.html> revisado el 20 de julio de 2005.
  34. Amery WK, Bruynseels JP. Levamisole, the story and the lessons. *Int J Immunopharmacol*. 1992;14:481-6.
  35. Almeida-Arvizu VM, Matta-Campos JJ, Hernández-Colín DD, Campos MG. Efecto inmunomodulador de una glicoproteína de *Klebsiella* versus levamisol en pacientes asmáticos con deficiencia fagocítica. *Alergia e Inmunol Pediatr* 1999;8:85-9.
  36. Dávila-Velázquez JR, Santos-Preciado JI, Martínez-Cairo-Cueto S. Efecto del levamisol en la actividad microbicida y quimiotaxis en células polimorfonucleares. *Rev Alergia Mex* 1998;45:43-8.
  37. Van Wauwe J, Janssen PA. On the biochemical mode of action of levamisole: an update. *Int J Immunopharmacol* 1991;13:3-9.
  38. Renoux G. The general immunopharmacology of levamisole. *Drugs* 1980;20:89-99.
  39. Rhodes J. Covalent chemical events in immune induction: fundamental and therapeutic aspects. *Immunol Today* 1996;17:436-41.
  40. Spaner DE, Miller RL, Mena J, Grossman L, Sorrenti V, Shi Y. Regression of lymphomatous skin deposits in a chronic lymphocytic leukemia patient treated with the Toll-like receptor-7/8 agonist, imiquimod. *Leuk Lymphoma* 2005;46:935-9.
  41. Weeratna RD, Makinen SR, McCluskie MJ, Davis HL. TLR agonists as vaccine adjuvants: comparison of CpG ODN and Resiquimod (R-848). *Vaccine*. 2005 Aug 1; [Epub ahead of print]
  42. Nagase H, Okugawa S, Ota Y, Yamaguchi M, Tomizawa H, Matsushima K, Ohta K, Yamamoto K, Hirai K. Expression and function of Toll-like receptors in eosinophils: activation by Toll-like receptor 7 ligand. *J Immunol* 2003;171:3977-82.
  43. Akira S, Hemmi H. Recognition of pathogen-associated molecular patterns by TLR family. *Immunol Lett* 2003;85:85-95.