

Estudio de la respuesta inmunológica contra el virus de la hepatitis b (VHB), mediada por células NK y NKT en individuos inmunizados e infectados crónicos

RESUMEN

Las células NK (CD56+CD3-) han sido ampliamente estudiadas por su capacidad para eliminar virus, bacterias y parásitos intracelulares. Existen evidencias que sugieren que tanto la respuesta humoral como la celular son requeridas para la eliminación del virus de la hepatitis B (VHB) y que la respuesta inmunológica dependiente de las células NK está involucrada en la inmunopatogénesis de la enfermedad. Sin embargo los mecanismos de activación y las señales intracelulares generadas en estas células como consecuencia de la interacción con el VHB, no son del todo conocidas y su estudio se hace necesario para comprender las alteraciones previamente descritas en la respuesta inmunológica celular de pacientes con infección crónica por el VHB o en quienes no hay respuesta apropiada a la inmunización con la vacuna recombinante. En este estudio se abordaron las señales tempranas de activación y la producción de citoquinas en subpoblaciones de células NK de individuos inmunizados y no inmunizados con la vacuna recombinante anti-VHB, además de evaluar de manera preliminar señales mediadas por el receptor coestimulador CD28 a través del entrecruzamiento con anti-CD28, en infectados crónicos con el VHB. Se observó un incremento en la expresión de la molécula de adhesión CD56, del receptor de activación CD69 y en la producción de IL-2 e IFN γ en las células NK expuestas al antígeno de superficie recombinante (HBsAg), de individuos inmunizados respondedores a la vacuna ($p < 0.05$). De igual manera se observó un incremento en la expresión de CD69, CD25 y en la producción de IL-15, IL-2 e IFN γ en las células T con fenotipo NK (NKT) (CD56+CD3+), de los individuos inmunizados respondedores, tal incremento no fue observado en los individuos no respondedores ($p < 0.05$). En relación a los infectados crónicos con el VHB se observó una disminución en el porcentaje de células NK y un incremento en el porcentaje de células NKT en la sangre periférica de dichos pacientes. Con respecto a las señales mediadas por la vía de CD28 se observó una disminución en la producción de citoquinas como IL-2, IL-12 e IFN γ en células NK y NKT. Se propone un

mecanismo defectuoso de activación en estos grupos celulares que se traduce en disminución de la secreción de citoquinas moduladoras y citotóxicas que pudiera contribuir a la comprensión del papel crucial que juegan estas células, tanto en la respuesta inicial contra el VHB, como en la modulación de la respuesta inmunológica adaptativa durante la progresión de la enfermedad.

SUMMARY

NK cells (CD56⁺CD3⁻) have been widely investigated due to their ability to destroy virus, bacteria and particularly intracellular parasites. There are many reports suggesting that both cellular and humoral immune responses are required to effectively eliminate hepatitis B virus (HBV) and, some authors have suggested that NK cells are involved in the hepatitis B pathogenesis. However, the activation mechanisms and intracellular signaling pathways triggered upon NK-HBV interaction, are far to be understood. Since NK cells represent one of the most important elements of the innate immune system and because these cells have shown a regulatory role on adaptive immune response, a study to further understand whether these cells have a role in the impairment of cellular immune response, previously described during chronic HBV infection, or in the absence of antibody response to recombinant HBV vaccine, is required. We have explored early activation signals and cytokine production in NK cells subpopulations, from immunized and no immunized donors and performed a preliminary investigation of costimulatory signals triggered upon ligation of CD28 on NK cells surface, from HBV carriers. A specific increase of the adhesion molecule CD56, the activation receptor CD69 and cytokines intracellular expression such as IL-2 and INF- γ , was observed following incubation with recombinant HBsAg, in individuals responders to vaccination. The NKT (CD56⁺CD3⁺) cell population (T cells expressing NK phenotype), was also explored under the same conditions, showing an increment of CD69, CD25 and intracellular IL-15, IL-2 and INF- γ expression in responders donors. Strikingly, these parameters were statistically diminished in no responders individuals ($p < 0.05$) in both groups of cells. Carriers of HBV showed statistically significant less number of NK cells and, elevated number of NKT cells in peripheral blood. When the CD28 signal was explored in chronic HBV carriers by using crosslinking with anti-CD28 antibodies plus PMA as a secondary signal, we observed a diminished cytokine intracellular expression (IL-2, IL-12, IFN- γ) in NK cells and, decreased expression of INF- γ in NKT cells ($p < 0.05$). We suggest a defective activation mechanism of these cells which generate an unbalance of regulatory and cytotoxic cytokine production. Our results may contribute to understand the crucial role played by NK cells and NKT cells both in early Hepatitis B infection and during disease progression.