

Regulatory B cells (Bregs) role in allergic diseases

Participación de los linfocitos B reguladores (Breg) en las enfermedades alérgicas

Itze Cecilia Navarro-Hernández,¹ Rodrigo Cervantes-Díaz,¹ Sandra Romero-Ramírez,¹
Víctor Andrés Sosa-Hernández,¹ Ari Kleinberg,¹ David Eduardo Meza-Sánchez,¹ José L. Maravillas-Montero¹

Abstract

Immune tolerance, both to exogenous antigens and autoantigens, is essential for restraining undesired inflammatory responses that might result in severe damage to body tissues or cause chronic diseases. During the past few decades, different cell populations and molecules by them secreted have been associated with suppressing and regulatory mechanisms of immune responses. Although B cells typically acquire relevance as precursors of antibody-producing cells, they can also develop potent regulatory functions through the production of soluble molecules or by establishing direct cellular interactions mediated by different surface proteins implicated in signal transduction. While most studies of regulatory B cells define the role of these lymphocytes in autoimmune diseases, evidence of their importance and mechanisms of action in allergic diseases has accumulated in recent years. As a result, regulatory B cells appear to be relevant elements for the establishment or loss of allergen tolerance in different allergic diseases, although they still have been little explored.

Keywords: Regulatory B cells; Allergy; Interleukin-10; Immune tolerance; Immune response

Este artículo debe citarse como: Navarro-Hernández IC, Cervantes-Díaz R, Romero-Ramírez S, Sosa-Hernández VA, Kleinberg A, Meza-Sánchez DE, Maravillas-Montero JL. Participación de los linfocitos B reguladores (Breg) en las enfermedades alérgicas. Rev Alerg Mex. 2018;65(4):400-413

ORCID

Itze Cecilia Navarro-Hernández, 0000-0002-1715-575X; Rodrigo Cervantes-Díaz, 0000-0001-7245-7315
Sandra Romero-Ramírez, 0000-0002-9751-087X Víctor Andrés Sosa-Hernández, 0000-0003-4203-4228;
Ari Kleinberg, 0000-0002-7898-9213; David Eduardo Meza-Sánchez, 0000-0003-0392-296X;
José L. Maravillas-Montero, 0000-0003-3755-662X

¹Universidad Nacional Autónoma de México e Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, Red de Apoyo a la Investigación, Ciudad de México, México

Correspondencia: José L. Maravillas-Montero.
maravillas@cic.unam.mx

Recibido: 2018-07-29
Aceptado: 2018-10-19
DOI: 10.29262/ram.v65i4.529



Resumen

La tolerancia inmunológica, tanto a los antígenos exógenos como a los autoantígenos, es esencial para restringir las respuestas inflamatorias no deseadas que pudieran derivar en daño grave a los tejidos del organismo o provocar enfermedades crónicas. Durante las últimas décadas, diversas poblaciones celulares y moléculas secretadas por estas se han asociado con mecanismos supresores y reguladores de las respuestas inmunes. Aunque las células B adquieren relevancia típicamente como precursoras de células productoras de anticuerpos, también son capaces desarrollar potentes funciones reguladoras a través de la producción de moléculas solubles o mediante el establecimiento de interacciones celulares directas mediadas por diferentes proteínas de superficie implicadas en transducción de señales. Si bien la mayoría de los estudios de células B reguladoras definen el papel de estos linfocitos en enfermedades autoinmunes, en años recientes se ha acumulado evidencia de su importancia y mecanismos de acción en enfermedades alérgicas. Las células reguladoras B parecen ser elementos relevantes en el establecimiento o pérdida de la tolerancia a alérgenos en diferentes enfermedades alérgicas, si bien aún han sido poco explorados.

Palabras clave: Células B reguladoras; Interleucina-10; Tolerancia inmunológica; Respuesta inmune

Abreviaturas y siglas

Breg, B reguladores

DC, células dendríticas

EAE, encefalitis autoinmune experimental

FasL, ligando de Fas

GzmB, granzima B

IDO, indolamina 2,3-dioxigenasa

Ig, inmunoglobulina

IL, interleucina

LEG, lupus eritematoso generalizado

LPS, lipopolisacáridos

MHC-II, moléculas del complejo principal de histocompatibilidad clase II

PBMC, células mononucleares de sangre periférica

pDC, células dendríticas plasmacitoides

PD-L1, ligando de muerte celular programada 1

Tfh, T foliculares

TolBC, células B tolerogénicas

Treg, T reguladores

Antecedentes

Las enfermedades alérgicas representan un grupo amplio de patologías que presentan manifestaciones clínicas diversas. Estas entidades son generalmente el resultado de una respuesta inflamatoria exacerbada hacia ciertos antígenos, denominados genéricamente como alérgenos, que puede derivar en desórdenes tales como asma alérgica, rinoconjuntivitis alérgica, hipersensibilidad por contacto, alergias alimentarias, entre otros.

En condiciones homeostáticas, la inducción y mantenimiento de la tolerancia inmunológica a antígenos ambientales inocuos o antígenos propios, es clave en la prevención de respuestas inflamatorias crónicas. Un elemento esencial en el mantenimien-

to de esta homeostasis inmune y la tolerancia lo constituyen las poblaciones de células reguladoras. Durante años, diversos grupos de investigación se han enfocado en dilucidar el papel de las diferentes subpoblaciones de linfocitos T reguladores (Treg) en la patogénesis de enfermedades autoinmunes y alérgicas, así como su contribución en el establecimiento de la tolerancia hacia autoantígenos y alérgenos.^{1,2,3,4,5} En contraste, otros tipos celulares de origen hematopoyético con funciones supresoras en contextos inflamatorios no han recibido mayor atención y en la actualidad representan un campo de estudio bastante prometedor que incluye poblaciones tales como las células B reguladoras.

A pesar de que los linfocitos B fueron descubiertos hace más de 50 años,⁶ las primeras evidencias que sugieren la existencia de un papel regulador por parte de tales células datan de hace más de 40 años. Durante la década de 1970 se generaron algunos reportes en los que se observó que durante el desarrollo de algunos esquemas de inmunización en cobayos se generaba una población de células de identidad desconocida, capaces de suprimir reacciones de hipersensibilidad retardada, también llamada de tipo 4.^{7,8} Gracias a la implementación de métodos de separación de poblaciones linfocitarias mediante cromatografía de afinidad,⁷ así como al empleo de ciclofosfamida como inhibidor de la funcionalidad de los linfocitos B,⁹ se demostró que estos últimos eran los responsables de ejercer tales respuestas supresoras. Los mecanismos moleculares precisos de estos resultados no fueron identificados en dichos estudios tempranos, por lo que el estudio del potencial regulador de las células B no recibió mayor atención en años inmediatos posteriores.

En la actualidad se han descrito múltiples subpoblaciones reguladoras de linfocitos B, tanto en modelos animales como en humanos, que median sus funciones a través de diversos mecanismos y que contribuyen importantemente en el control de respuestas inflamatorias en enfermedades alérgicas.

Establecimiento del papel supresor de los linfocitos B

En 1996 se presentó nuevamente evidencia importante de la contribución de estas células en la modulación de fenómenos inflamatorios. Dichos datos provienen del uso de uno de los modelos animales de enfermedad autoinmune más comúnmente empleados en inmunología: la encefalitis autoinmune experimental (EAE), donde ratones (u otros animales) son inmunizados con mielina para inducir el desarrollo de una respuesta mediada principalmente por células T, que genera síntomas semejantes a los de la esclerosis múltiple en humanos. Dichas manifestaciones se observan a manera de debilidad o parálisis, particularmente en extremidades posteriores, de la cual los individuos afectados suelen recuperarse espontáneamente al paso de algunos días. De forma interesante, cuando se empleó este modelo de enfermedad en la cepa de ratones μ MT, deficientes en la cadena pesada de IgM y, por lo tanto, carentes de células B, se observó que estos

animales son incapaces de recuperarse de la EAE, lo que demostró el papel esencial de los linfocitos B en la protección contra la inflamación producida en esta patología.¹¹

Años más tarde, entre 2002 y 2003 se demostró, a través del uso de modelos animales, la existencia de células B productoras de IL-10 capaces de suprimir la progresión de inflamación intestinal crónica,¹² la EAE¹³ y la artritis inducida por colágeno.¹⁴ Debido a ello, se generó el concepto de la existencia de una o varias poblaciones de linfocitos B reguladores (Breg) capaces de ejercer funciones supresoras a través de la secreción de IL-10 y con repercusiones importantes en enfermedades autoinmunes y alérgicas. A partir de entonces, se han desarrollado múltiples esfuerzos para caracterizar a las células Breg tanto funcional como fenotípicamente, lo cual ha derivado en la identificación de distintas subpoblaciones de dichas células, tanto en ratones (cuadro 1) como en humanos (cuadro 2).

Mecanismos reguladores de las células Breg

Las células Breg ejercen su efecto principalmente a través de la secreción de citocinas.¹⁵ Múltiples estudios refieren a IL-10 como la citocina clave para ejercer efectos inmunomoduladores por parte de esta y de otras poblaciones de células hematopoyéticas.^{12,13,14} Esta molécula desarrolla múltiples efectos supresores sobre distintos tipos celulares y se le reconoce como un importante factor inductor de tolerancia inmunológica en pacientes que sufren enfermedades inflamatorias crónicas.¹⁶ TGF- β también se ha identificado como un factor supresor secretado por las células Breg; esta citocina se halla involucrada en múltiples procesos que incluyen la modulación de respuestas inflamatorias y la remodelación de tejidos.

Uno de sus papeles más relevantes respecto a la generación y mantenimiento de tolerancia inmunológica está dado por su capacidad para promover la diferenciación de células *naive* T CD4⁺ a células Treg.¹⁶ Finalmente, para el caso específico de las células B productoras de IL-35 se ha detectado que esta población juega un papel importante en el control de las respuestas inflamatorias en algunas enfermedades autoinmunes o infecciosas.¹⁶ Finalmente, también se reconoce que los linfocitos B son capaces de secretar la citocina reguladora IL-35.¹⁷ Se ha

Cuadro 1. Subpoblaciones de células Breg (CD19 ⁺) de ratón		
Nombre	Fenotipo	Moléculas reguladoras
Fenotipo similar a B1a (CD5 ⁺)		
B1a	CD5 ⁺	IL-10
B10	CD1d ^{hi} CD5 ⁺	IL-10
KB1a (killer B)	IgM ^{hi} CD1d ^{hi} CD5 ⁺ FasL ⁺	FasL
ToIBC (tolerogenic B)	CD5 ⁺ CX3CR1 ⁺	TGF-β
Fenotipo inmaduro/transicional		
Transicionales 2	CD21 ^{hi} CD23 ^{hi} CD24 ^{hi}	IL-10
Fenotipo similar a zona marginal (ZM)		
Precusores ZM	CD21 ^{hi} CD23 ⁻	IL-10
ZM	CD24 ⁺ IgM ⁺ IgD ^{hi} CD1d ^{hi}	IL-10
GIFT-15	B220 ⁺ CD21 ⁺ CD22 ⁺ CD23 ⁺ CD24 ⁺ CD1d ⁺ CD138 ⁺ IgD ⁺ IgM ⁺	IL-10
Fenotipo plasmablasto/célula plasmática		
Células plasmáticas	IgM ^{hi} CD138 ^{hi} TACI ⁺ CXCR4 ⁺ CD1d ^{int} TIM1 ^{int}	IL-10, IL-35
Células plasmáticas	CD138 ^{hi} PD-L1 ⁺ B220 ⁺ IgA ⁺	IL-10, PD-L1
Plasmablastos	CD138 ⁺ CD44 ^{hi}	IL-10

detectado que la población de células B que produce dicho factor desempeña un papel importante en el control de las respuestas inflamatorias en algunas enfermedades autoinmunes o infecciosas.¹⁶ En este sentido, se reconoce que IL-35 es capaz de generar tolerancia a través de la inducción de la proliferación de células Treg, capaces de suprimir respuestas Th17.¹⁸

Más allá de las citocinas, las células Breg son capaces de ejercer su función supresora a través de

otros mediadores, entre los que se incluyen moléculas transmembranales como el ligando de Fas (FasL), el ligando de muerte celular programada 1 (PD-L1) y las moléculas coestimuladoras CD80/CD86,^{19,20,21,22,23,24} así como componentes solubles que pueden ser secretados al medio extracelular como la indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO), la granzima B (GzmB) o la adenosina;²⁵ todos elementos implicados en mecanismos reguladores resumidos en la figura 1.

Cuadro 2. Subpoblaciones de células Breg (CD19 ⁺) humanas		
Nombre	Fenotipo	Moléculas reguladoras
B inmaduras	CD24 ^{hi} CD38 ^{hi}	IL-10, PD-L1, CD80, CD86
B10	CD24 ^{hi} CD27 ⁺	IL-10
iBregs	No definido	TGF-β, IDO
Células B GzmB ⁺	CD38 ⁺ CD1d ⁺ IgM ⁺ CD147 ⁺	GzmB ⁺ , IL-10, IDO
Br1	CD25 ^{hi} CD71 ^{hi} CD73 ^{lo}	IL-10, IgG4
Br3	CD5 ⁺	TGF-β
Plasmablastos	CD27 ^{int} CD38 ⁺	IL-10
No definido	CD39 ⁺ CD73 ⁺	Adenosina
No definido	TIM1 ⁺	IL-10

Mención especial merece la producción de anticuerpos IgG4 por parte de las células Breg, particularmente en el contexto de la inducción de tolerancia a alérgenos en el humano. Se trata de un subtipo de IgG con características muy significativas: posee una capacidad de unión al complejo C1q bastante

limitada, por lo que no es capaz de activar eficientemente la vía clásica del complemento.²⁶ Al igual que el resto de subtipos de inmunoglobulinas, esta molécula posee dos cadenas pesadas y dos ligeras, pero los puentes disulfuro que unen las dos cadenas pesadas son inestables, permitiendo su disociación y

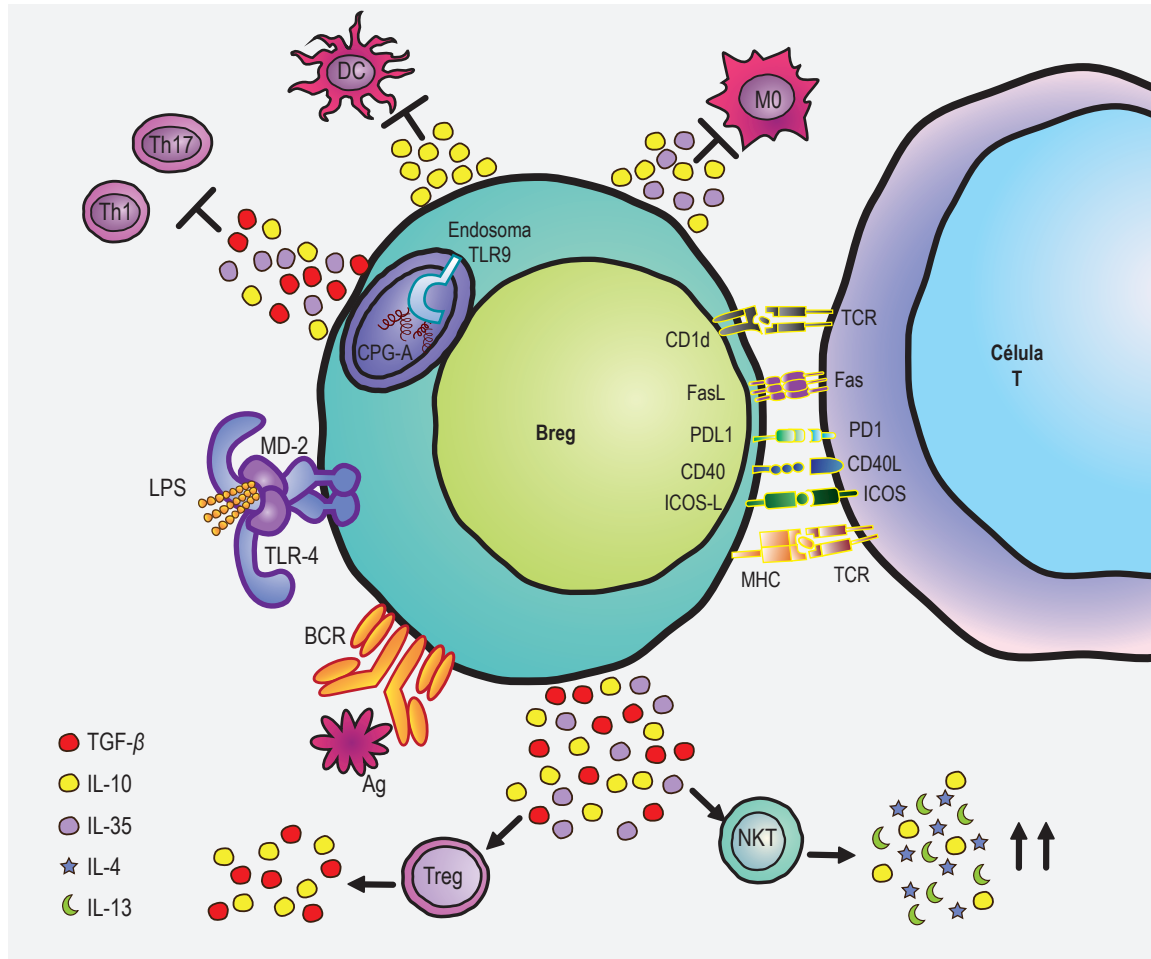


Figura 1. Mecanismos supresores de las células B reguladoras. Las células Breg poseen una variedad de receptores que permiten la activación de estas, la expresión y subsecuente secreción de moléculas reguladoras. Los receptores son TLR-4/MD-2 (reconoce LPS), TLR-9 presente en endosomas (reconoce CpG), BCR (reconoce Ag), y la señalización de CD40 (reconocimiento de otra célula). Las moléculas secretadas pueden ejercer una función inhibitoria sobre las células Th1 y Th17 (TGF-β, IL-10, IL-35); hacia las células dendríticas (IL-10) y en los macrófagos (IL-35, IL-10). Estas moléculas pueden hacer que las células Treg y las *natural killer T* (NKT) proliferen y a su vez estas secreten diversas moléculas. Cabe mencionar que existen diferentes subpoblaciones de células Breg que pueden expresar diversas moléculas que ayudarán a la activación o inhibición de células, por ejemplo, CD1d interacciona con NKT. Otras moléculas que presentan las Breg son FasL, PD-L1, CD40, ICOS-L y MHC que interaccionan respectivamente con Fas, PD-1, CD40L, ICOS y TCR, presentes en las células T.

mezcla con otros fragmentos similares de inmunoglobulina (Ig) G4, generando así anticuerpos divalentes detectados *in vivo*,²⁷ que poseen en consecuencia una pobre capacidad para formar inmunocomplejos. Además, se considera que IgG4 compite usualmente por la unión a alérgenos con la IgE, por lo cual puede desempeñar una función de bloqueo de las respuestas inflamatorias mediadas por este isotipo, particularmente implicado en las alergias a través de la unión a receptores de alta afinidad presentes en mastocitos y basófilos.^{16,28}

Origen de las células Breg

La diversidad fenotípica y funcional, tanto de las células Breg de ratón como las humanas, deja en claro que la función inmunosupresora de los linfocitos B no está restringida a una subpoblación específica de este linaje hematopoyético. En este sentido, y a diferencia de lo que ocurre con los fenotipos efectoros de linfocitos T CD4⁺ (Th1, Th2, Th17, Treg, etcétera), ningún factor de transcripción que defina la función reguladora de las células B ha sido identificado; además, los fenotipos de las distintas clases de Breg son diversos, compartiendo solamente algunas de las moléculas con las que se caracterizan. Ejemplo de ello son algunas de las subpoblaciones de Breg en ratón: las células B10 del bazo comparten características con las células B1 CD5⁺^{29,30} de la cavidad peritoneal, con las células B de zona marginal (CD1d^{hi}CD21⁺CD23⁻)³¹ y con las células inmaduras en estadio transicional 2 (CD21^{hi}CD23^{hi}CD24^{hi}).³²

A pesar de dicha variabilidad, se reconoce que las señales generadas vía BCR son esenciales tanto para el desarrollo como para el desarrollo de propiedades reguladoras en las células Breg;^{30,33} adicional a ello se sabe que las llamadas células pro-B10 (células Breg precursoras), requieren mayor estimulación dada por citocinas y sus receptores, diversas moléculas transmembranales además de señalización vía TLR, para facilitar la inducción de una conformación transcripcionalmente activa del gen de IL-10.³⁴ Por ejemplo, se ha observado que distintos agonistas de TLR4, TLR7 y TLR9 inducen la secreción de IL-10 por parte de células B10.^{35,36}

Asimismo, se reconoce la participación de moléculas tales como el receptor de IL-21, moléculas del complejo principal de histocompatibilidad clase II (MHC-II) y CD40, en el desarrollo de funciones efectoras de células Breg.¹⁵ Finalmente, se reconoce

que algunas vías de señalización son esenciales para la generación de células B productoras de IL-10, siendo este el caso de la vía PI3K/Akt.³⁷

La contribución de otras poblaciones celulares en el desarrollo de las células Breg también es relevante. Un ejemplo claro de esto lo representan las células dendríticas plasmacitoides (pDC) humanas que al producir IFN- α , promueven la estimulación de células B inmaduras CD24^{hi}CD38^{hi} que comienzan a secretar IL-10, para a su vez suprimir la producción de IFN- α por parte de las pDC, completando un circuito de regulación que se ve alterado en algunas patologías como el lupus eritematoso generalizado (LEG). En esta enfermedad, el número de células Breg se encuentra alterado posiblemente por la hiperactivación patológica de las pDC, que además de secretar IFN- α generan otras citocinas proinflamatorias como IL-6 o IL-12.³⁸

De forma interesante, existen reportes de que la microbiota intestinal puede desempeñar también un papel importante en el desarrollo de células Breg. Gracias al empleo de modelos murinos de generación de artritis, inducida por la administración de albúmina sérica bovina metilada, se ha observado la producción elevada de IL-1 β e IL-6 que, a su vez, inducen la diferenciación de linfocitos Breg productores de IL-10. Cuando dichos experimentos se reproducen en animales tratados con una mezcla de antibióticos (vancomicina, neomicina y metronidazol) para eliminar a la mayoría de las bacterias comensales intestinales,³⁹ se detecta una reducción tanto en la función secretora de IL-10 como en el número de células Breg en los bazos de dichos animales.⁴⁰

De acuerdo con lo mencionado y a los datos publicados por distintos grupos interesados en este tipo de células, aún permanece la interrogante de si existe algún progenitor común que pueda dar origen a un compartimento especializado de linfocitos B con propiedades reguladoras; sin embargo, la idea de la existencia de cierta plasticidad intrínseca de las distintas subpoblaciones de células B, que les permite adquirir propiedades supresoras de acuerdo con el contexto donde se ubiquen, parece ser más viable en la actualidad.

Células Breg en la inducción de tolerancia contra alérgenos

La mayoría de los estudios relacionados con la función de los linfocitos Breg se han enfocado en es-

tablecer su papel durante el desarrollo de enfermedades autoinmunes; sin embargo, existe también un número creciente de evidencia que relaciona estas subpoblaciones celulares con el mantenimiento y restauración de la tolerancia contra alérgenos. De forma general, los mecanismos a través de los cuales las células Breg ejercen su función incluyen la inducción de células Treg, la supresión directa de células T efectoras, la supresión indirecta de estas mismas células T efectoras mediante la inhibición de la maduración o polarización de células dendríticas (DC) y la producción de anticuerpos como IgG4. Para el caso de los procesos alérgicos, dichos mecanismos son también observables, lo que implica diferentes subpoblaciones de células Breg de acuerdo con el contexto patogénico específico del que se trate.

Alergias alimentarias

Las alergias alimentarias afectan aproximadamente a 8 % de los niños y hasta 3 % de los adultos. Este tipo de afecciones tiene un fuerte componente genético ya que hasta 70 % de los pacientes posee antecedentes familiares positivos para la enfermedad. Entre los alimentos que más frecuentemente se asocian con alergias están los cacahuates, diversas nueces, pescados y mariscos, leche de vaca, huevos, soya y trigo.

El síntoma más común de alergia a un alimento es la urticaria eritematosa principalmente en el tronco del cuerpo, aunque también suele presentarse angioedema en las mucosas, que se manifiesta generalmente con hinchazón de los labios. Cuando el angioedema es severo puede ocurrir hinchazón de la lengua y de las mucosas de la garganta, causando la obstrucción del flujo de aire a los pulmones, una complicación grave que puede causar afecciones en la respiración. Otros síntomas de alergia incluyen rinitis, conjuntivitis, diarrea, dolor abdominal, vómitos y en casos severos puede sobrevenir un choque anafiláctico.

Respecto a su origen, las alergias alimentarias se pueden dividir de forma general en las mediadas por anticuerpos de clase IgE y las independientes a la participación de esta inmunoglobulina.^{41,42} Las reacciones mediadas por IgE presentan un inicio rápido tras ingerir el alimento involucrado, frecuentemente en cuestión de algunos minutos; además, las células habitualmente implicadas en estas reacciones son los mastocitos y los basófilos, debido principalmente a que presentan altos niveles del receptor

de alta afinidad para IgE (FcεRI).⁴³ En contraparte, las reacciones de hipersensibilidad alimentarias no mediadas por IgE presentan un inicio subagudo o crónico, promovidas principalmente por células T.⁴²

Aparte de la implicación de los granulocitos y los linfocitos T, existen pocas evidencias de la contribución de otros linajes leucocitarios en las alergias alimentarias; sin embargo, se han desarrollado algunos estudios enfocados a la participación de las células Breg en este contexto patológico, en los que se ha encontrado diversos mecanismos y subpoblaciones implicadas. Una de estas últimas son las células Breg productoras de TGF-β, que se ha detectado en pacientes alérgicos desempeñando un papel clave en la inducción de tolerancia para el caso de alergias alimentarias independientes de la presencia de IgE.^{44,45} Estas células, también nombradas Br3 con fenotipo CD24^{hi}CD27⁺ han sido caracterizadas en casos de pacientes con alergia a la leche de vaca. En ensayos donde se estimulan *in vitro* células de individuos sanos y de pacientes con alergia a la leche de vaca con caseína (principal componente proteico y alérgeno de la leche), se observó la proliferación de células con fenotipo Br3 en los individuos tolerantes a la leche, no así los alérgicos, por lo que se deduce que dicha población de linfocitos está involucrada en la generación de tolerancia a la caseína a través de la secreción de TGF-β.⁴⁴

En cuanto a las células Breg humanas productoras de IL-10 se han generado observaciones muy similares a las obtenidas con el estudio de las células Br3. Empleando el mismo tipo de ensayos de estimulación de células mononucleares de sangre periférica (PBMC), se ha observado un decremento en los números de linfocitos B productores de IL-10 en individuos alérgicos a la leche de vaca. En contraparte, los que exhiben tolerancia al mismo alimento muestran un incremento en los números de esta población celular que es conocida como linfocitos Br1 y que se caracteriza por un fenotipo CD25^{hi}CD71^{hi}CD73^{lo}.⁴⁶

A pesar de que se conoce poco acerca de los estímulos que favorecen la aparición de estas poblaciones reguladoras, se conocen algunos ejemplos al respecto gracias a algunos estudios llevados a cabo con pacientes alérgicos. En diversos protocolos de inmunoterapia oral con alérgenos aunada a la administración de IFN-γ, se reconoce la participación de esta última citocina en la inducción de tolerancia a

diversos alimentos, tanto en alergias mediadas por IgE como en otras independientes de dicha inmunoglobulina.^{47,48,49} Algunos de estos procedimientos reportan que tras la administración combinada de IFN- γ y leche en pacientes alérgicos se presenta una proporción incrementada de células Br1 y Br3 al estimular sus PBMC con caseína en ensayos *in vitro*.^{44,49,50}

Curiosamente, los modelos animales parecen reproducir lo que se ha observado en humanos. De forma interesante y en analogía con lo descrito en pacientes para el caso de las células Br1, algunos estudios en ratones reportan la importancia de las células B CD5⁺ productoras de IL-10 en la supresión de las respuestas alérgicas inducidas por caseína mediante la inducción de células T reguladoras Foxp3⁺.⁵¹ Además, en concordancia con lo que sucede con las células Br3 humanas, hallazgos en modelos murinos posicionan a las llamadas células B tolerogénicas (TolBC) productoras de TGF- β , como una población capaz de inducir la generación de células Treg intestinales para suprimir la inflamación en alergias alimentarias caracterizadas por una respuesta Th2.⁵²

Asma alérgica

El término asma se emplea para denominar una serie de enfermedades que se caracterizan por una obstrucción de las vías respiratorias, fundamentalmente los bronquios, inducida por aspiración de alérgenos. La obstrucción bronquial se caracteriza porque es reversible, ya sea total o parcialmente, cuando se aplican broncodilatadores o en ocasiones de forma espontánea. Dicha obstrucción se da por una disminución en el diámetro luminal de los bronquios que se genera tanto por contracción del músculo liso, como por la inflamación de la pared bronquial que suele generar una gran cantidad de moco.⁵³

Muchos de los modelos murinos para el estudio de la enfermedad alérgica a nivel de vías aéreas inferiores han arrojado múltiples datos acerca de la participación de células Breg y su papel supresor ejercido a través de la secreción de IL-10, modulando la generación de células Treg Foxp3⁺; dichos linfocitos de ratón se han designado como células B10 y son típicamente definidas por marcadores superficiales como CD1d (en altos niveles) y CD5.^{54,55,56}

Debido al interés reciente en estudiar este tipo de linfocitos reguladores, muchos de los esfuerzos de investigación se han dado en torno al estableci-

miento de nuevos marcadores para su identificación. El análisis del fenotipo de las células B10 de ratón muestra que la molécula CD9 representa un marcador importante y novedoso para ciertas poblaciones de células B reguladoras.⁵⁷ CD9 es una molécula perteneciente a la familia de las tetraspaninas, moléculas transmembranales reguladoras de asociaciones laterales con múltiples elementos también presentes en la membrana plasmática (y otros compartimentos membranosos celulares) determinando su localización y función.⁵⁸ Recientemente, se demostró que estas células CD9⁺ son capaces de inhibir la inflamación en vías aéreas inducidas por componentes de ácaros.

Además, en ensayos de transferencia adoptiva de dichas células B CD9⁺ se observó la supresión de inflamación de vías aéreas en modelos murinos de alergia a través de la secreción de IL-10.⁵⁷ Debido a que no se ha caracterizado la presencia de dicha tetraspanina en las subpoblaciones murinas ya definidas, queda por determinar si dicho marcador es capaz de definir una nueva clase de células Breg o modula funciones importantes en aquellas células supresoras reportadas previamente.

Además de la IL-10, el TGF- β producido por células B también contribuye al establecimiento de tolerancia contra alérgenos en el tracto respiratorio. En modelos murinos donde se administra ovoalbúmina en aerosol por vía respiratoria, se ha establecido que la exposición aguda, en un esquema de administración no mayor a retos diarios durante una semana, induce sensibilización al alérgeno; sin embargo, el esquema de exposición crónica a la misma proteína durante seis semanas resulta en el establecimiento de tolerancia.

Al realizar ensayos de transferencia adoptiva de linfocitos B aislados de los ganglios hiliares de ratones expuestos crónicamente a ovoalbúmina a ratones sensibilizados se observó la supresión de la inflamación alérgica de vías aéreas. Curiosamente, a través del empleo de ratones deficientes de IL-10, se demostró que dicho efecto protector no depende de esta última citocina.⁵⁹ Posteriormente se demostró que la población de células B productoras de TGF- β que se expande selectivamente en los ratones tolerantes a ovoalbúmina es la responsable de dicho efecto supresor mediado por la inducción de células T CD4⁺ Foxp3⁺. A diferencia de las células esplénicas Breg productoras de IL-10, estos

linfocitos B reguladores productores de TGF- β se hallan principalmente localizados en ganglios regionales, mediando una respuesta supresora muy localizada.⁶⁰

En humanos, las respuestas de hipersensibilidad en vías aéreas también han demostrado tener relación con las células Breg. En este sentido, la población humana equivalente a las células B10 de ratón poseen un fenotipo CD24^{hi} CD27⁺ y se halla significativamente reducida numéricamente en pacientes con asma alérgica. Estos linfocitos B10 humanos exhiben también una capacidad mínima para producir IL-10 en respuesta a la estimulación *in vitro* con lipopolisacárido (LPS) o productos de ácaros.⁶¹

Rinoconjuntivitis alérgica

La rinitis consiste en una inflamación de la mucosa nasal y se caracteriza por síntomas como secreción excesiva de mucosidad nasal (rinorrea), estornudos, congestión o escozor nasal. La rinitis alérgica inducida por alérgenos es la forma más frecuente de rinitis no infecciosa y está asociada con una respuesta mediada por IgE. La conjuntivitis alérgica es una enfermedad asociada habitualmente a la rinitis alérgica, por lo que se le denomina rinoconjuntivitis alérgica, con síntomas que incluyen lagrimeo y escozor ocular, así como congestión y enrojecimiento.⁶²

Recientemente se reportó que las personas que sufren de rinitis alérgica poseen niveles reducidos de linfocitos Breg CD25^{hi} (Br1) en circulación cuando son comparadas con controles no alérgicos. Además de dicha reducción en los números de Breg, se reporta que estos mismos pacientes presentan también una proporción reducida de linfocitos T con fenotipo CD4⁺ PD-1⁺ CXCR5⁺ similar a linfocitos T foliculares (Tfh) y niveles bajos de IL-21 circulante.⁶³

Las células Tfh son una población especializada de células T cooperadoras que favorecen las respuestas de linfocitos B en los órganos linfoides secundarios cuando se exponen a antígenos específicos. En dicha ubicación, estas células son capaces de secretar diversas citocinas entre las que destaca IL-21. Debido a que se sabe que la diferenciación de células Breg es influida por la función de las células Tfh, es posible que la disminución en esta última subpoblación en pacientes con rinitis alérgica sea responsable de los números reducidos de Breg en estas personas y, por tanto, de la patología alérgica que presentan.

Hipersensibilidad por contacto

La dermatitis por contacto es una condición inflamatoria de la piel inducida por la exposición frente a algún agente ambiental. Usualmente se asocia con una respuesta alérgica solo en aproximadamente 20 a 30 % de los casos. La dermatitis alérgica o hipersensibilidad por contacto se asocia con una reacción inflamatoria de hipersensibilidad celular tipo IV (clasificación de Gell y Coombs) mediada por linfocitos T, que desarrollan los individuos sensibilizados al alérgeno determinado al que son expuestos.⁶⁴

Como puede esperarse, se han señalado que las células Breg, particularmente la población B10 murina (CD1d^{hi} CD5⁺), constituyen un elemento regulador de la inflamación que se genera en la piel de ratones en modelos de hipersensibilidad por contacto^{65,66} que además, se aprecia exacerbada tanto en duración como en intensidad en animales deficientes en CD19, lo que sugiere un papel inhibitor de la enfermedad para esta molécula.⁶⁷ En este sentido se ha descrito que esta población B10 es capaz de suprimir los efectos inflamatorios de la exposición a alérgenos en un modelo murino experimental de hipersensibilidad por contacto a través de la secreción de IL-10.^{33,68} Igual que en otros casos, la transferencia adoptiva de esta población proveniente de animales sensibilizados ha probado su eficacia al momento de reducir la inflamación en individuos alérgicos sensibilizados con el mismo alérgeno.^{33,68}

Alergia a venenos de himenópteros

Las picaduras de himenópteros (abejas, avispas y hormigas, entre otros) comúnmente originan reacciones cutáneas caracterizadas por eritema, picazón o dolor, que se resuelven en poco tiempo usualmente sin requerir algún tipo de tratamiento. Los pacientes alérgicos al veneno de himenópteros pueden en cambio presentar una gran variedad de síntomas tras la picadura, que van desde reacciones localizadas de severidad moderada hasta choque anafiláctico.⁶⁹

Para el estudio de este tipo de alergias se han obtenido evidencias interesantes de la participación de las células Breg a través del aislamiento de linfocitos B con reconocimiento específico de la fosfolipasa A2 del veneno de abeja (el principal alérgeno presente en este compuesto) a partir de apicultores no alérgicos; dichas células demostraron poseer una capacidad incrementada de producir IL-10 y de secreción de anticuerpos IgG4. La caracterización del

fenotipo de estos linfocitos indica que se trata de linfocitos Br1 (CD25^{hi} CD71^{hi} CD73^{lo}), previamente identificados por su elevada capacidad de producción de dicha citocina y de anticuerpos IgG4 con propiedades antiinflamatorias.²⁴ Debido a que esta población de linfocitos Breg se incrementa en pacientes alérgicos sometidos a inmunoterapia específica con la fosfolipasa A2, se reconoce su importancia en mediar la supresión del fenómeno de hipersensibilidad en estos individuos.^{24,70}

Conclusiones

En las últimas décadas se ha reconocido la importancia de diversas poblaciones leucocitarias en los procesos de regulación de las respuestas inflamatorias. Tradicionalmente el papel clave en dichos procesos se les ha asignado a los linfocitos T, sin embargo, además de esta estirpe celular, destacan las funciones de las células B reguladoras. Además de su contribución en diversas enfermedades autoinmunes, existe fuerte evidencia a favor de un papel prominente de

estos linfocitos en la inflamación alérgica. A través del estudio de enfermedades y modelos de alergia tanto en ratones como en humanos, se ha logrado la identificación de múltiples fenotipos de células Breg que ejercen su función moduladora a través de distintos mecanismos que actualmente continúan explorándose con interés creciente para su potencial aplicación inmunoterapéutica. A pesar de ello, aún existen múltiples preguntas por responder respecto al origen y contribuciones de los linfocitos Breg en cualquier padecimiento inflamatorio, pero especialmente, en el contexto de las patologías alérgicas.

Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo brindado por los donativos 240314 de CONACyT, IA204316 y IA202318 de PAPIIT-DGAPA-UNAM. Itze Cecilia Navarro Hernández, Rodrigo Cervantes Díaz, Sandra Romero Ramírez y Víctor Andrés Sosa Hernández son beneficiarios de las becas 587790, 621797, 619451 y 632393 de CONACyT, respectivamente.

Referencias

1. Akdis CA, Akdis M. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127(1):18-27. DOI: 10.1016/j.jaci.2010.11.030
2. Goodman WA, Cooper KD, McCormick TS. Regulation generation: the suppressive functions of human regulatory T cells. *Crit Rev Immunol.* 2012;32(1):65-79.
3. Harrison OJ, Powrie FM. Regulatory T cells and immune tolerance in the intestine. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2013;5(7). DOI: 10.1101/cshperspect.a018341
4. Milojevic D, Nguyen KD, Wara D, Mellins ED. Regulatory T cells and their role in rheumatic diseases: a potential target for novel therapeutic development. *Pediatr Rheumatol Online J.* 2008;6:20. DOI: 10.1186/1546-0096-6-20
5. Noval Rivas M, Chatila TA. Regulatory T cells in allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol.* 2016;138(3):639-652. DOI: 10.1016/j.jaci.2016.06.003
6. Santos-Argumedo L. Phenotypic and functional diversity of B lymphocytes. *Rev Alerg Mex.* 2015;62(4):302-311.
7. Katz SI, Parker D, Turk JL. B-cell suppression of delayed hypersensitivity reactions. *Nature.* 1974;251(5475):550-551.
8. Neta R, Salvin SB. Specific suppression of delayed hypersensitivity: the possible presence of a suppressor B cell in the regulation of delayed hypersensitivity. *J Immunol.* 1974;113(6):1716-1725.
9. Sabbe NR, Van-Oudenaren A, Benner R. The effect of cyclophosphamide on B cells and 'background' immunoglobulin-secreting cells in mice. *Immunopharmacology.* 1988;15(1):21-30.
10. O'Garra A, Stapleton G, Dhar V, Pearce M, Schumacher J, Rugo H, et al. Production of cytokines by mouse B cells: B lymphomas and normal B cells produce interleukin 10. *Int Immunol.* 1990;2(9):821-832.
11. Wolf SD, Dittel BN, Hardardottir F, Janeway CA. Experimental autoimmune encephalomyelitis induction in genetically B cell-deficient mice. *J Exp Med.* 1996;184(6):2271-2278. DOI: 10.1084/jem.184.6.2271

12. Mizoguchi A, Mizoguchi E, Takedatsu H, Blumberg RS, Bhan AK. Chronic intestinal inflammatory condition generates IL-10-producing regulatory B cell subset characterized by CD1d upregulation. *Immunity*. 2002;16(2):219-230. DOI: 10.1016/S1074-7613(02)00274-1
13. Fillatreau S, Sweenie CH, McGeachy MJ, Gray D, Anderton SM. B cells regulate autoimmunity by provision of IL-10. *Nat Immunol*. 2002;3(10):944-950.
14. Mauri C, Gray D, Mushtaq N, Londei M. Prevention of arthritis by interleukin 10-producing B cells. *J Exp Med*. 2003;197(4):489-501.
15. Van-De-Veen W, Stanic B, Wirz OF, Jansen K, Globinska A, Akdis M. Role of regulatory B cells in immune tolerance to allergens and beyond. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;138(3):654-665. DOI: 10.1016/j.jaci.2016.07.006
16. Van-De-Veen W, Akdis M. Role of IgG4 in IgE-mediated allergic responses. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;138(5):1434-1435. DOI: 10.1016/j.jaci.2016.07.022
17. Egwuagu CE, Yu CR. Interleukin 35-producing B cells (i35-Breg): a new mediator of regulatory B-cell functions in CNS autoimmune diseases. *Crit Rev Immunol*. 2015;35(1):49-57.
18. Shen P, Roch T, Lampropoulou V, O'Connor RA, Stervbo U, Hilgenberg E, et al. IL-35-producing B cells are critical regulators of immunity during autoimmune and infectious diseases. *Nature*. 2014;507(7492):366-370. DOI: 10.1038/nature12979
19. Blair PA, Noreña LY, Flores-Borja F, Rawlings DJ, Isenberg DA, Ehrenstein MR, et al. CD19(+) CD24(hi)CD38(hi) B cells exhibit regulatory capacity in healthy individuals but are functionally impaired in systemic Lupus Erythematosus patients. *Immunity*. 2010 Jan 29;32(1):129-140. DOI: 10.1016/j.immuni.2009.11.009
20. Iwata Y, Matsushita T, Horikawa M, Dilillo DJ, Yanaba K, Venturi GM, et al. Characterization of a rare IL-10-competent B-cell subset in humans that parallels mouse regulatory B10 cells. *Blood*. 2011;117(2):530-541. DOI: 10.1182/blood-2010-07-294249
21. Khan AR, Amu S, Saunders SP, Fallon PG. The generation of regulatory B cells by helminth parasites. *Methods Mol Biol*. 2014;1190:143-162. DOI: 10.1007/978-1-4939-1161-5_11
22. Klinker MW, Reed TJ, Fox DA, Lundy SK. Interleukin-5 supports the expansion of fas ligand-expressing killer B cells that induce antigen-specific apoptosis of CD4(+) T cells and secrete interleukin-10. *PLoS One*. 2013;8(8):e70131. DOI: 10.1371/journal.pone.0070131
23. Shalpour S, Font-Burgada J, Di-Caro G, Zhong Z, Sánchez-López E, Dhar D, et al. Immunosuppressive plasma cells impede T-cell-dependent immunogenic chemotherapy. *Nature*. 2015;521(7550):94-98. DOI: 10.1038/nature14395
24. Van-De-Veen W, Stanic B, Yaman G, Wawrzyniak M, Söllner S, Akdis DG, et al. IgG4 production is confined to human IL-10-producing regulatory B cells that suppress antigen-specific immune responses. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;131(4):1204-1212. DOI: 10.1016/j.jaci.2013.01.014
25. Maravillas-Montero JL, Acevedo-Ochoa E. Human B regulatory cells: the new players in autoimmune disease. *Rev Invest Clin*. 2017;69(5):243-246. DOI: 10.24875/RIC.17002266
26. Vidarsson G, Dekkers G, Rispens T. IgG subclasses and allotypes: from structure to effector functions. *Front Immunol*. 2014;5:520. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00520
27. Van Der Neut Kofschoten M, Schuurman J, Losen M, Bleeker WK, Martínez-Martínez P, Vermeulen E, et al. Anti-inflammatory activity of human IgG4 antibodies by dynamic Fab arm exchange. *Science*. 2007;317(5844):1554-1557. DOI: 10.1126/science.1144603
28. Aalberse RC, Platts-Mills TA, Rispens T. The developmental history of IgE and IgG4 antibodies in relation to atopy, eosinophilic esophagitis, and the modified TH2 response. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2016;16(6):45. DOI: 10.1007/s11882-016-0621-x
29. O'Garra A, Chang R, Go N, Hastings R, Haughton G, Howard M. Ly-1 B (B-1) cells are the main source of B cell-derived interleukin 10. *Eur J Immunol*. 1992;22(3):711-717. DOI: 10.1002/eji.1830220314
30. Yanaba K, Bouaziz JD, Haas KM, Poe JC, Fujimoto M, Tedder TF. A regulatory B cell subset with a unique CD1dhiCD5+ phenotype controls T cell-dependent inflammatory responses. *Immunity*. 2008;28(5):639-650.

31. Gray M, Miles K, Salter D, Savill J. Apoptotic cells protect mice from autoimmune inflammation by the induction of regulatory B cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007;104(35):14080-14085. DOI: 10.1073/pnas.0700326104
32. Evans JG, Chavez-Rueda KA, Eddaoudi A, Meyer-Bahlburg A, Rawlings DJ, Ehrenstein MR, et al. Novel suppressive function of transitional 2 B cells in experimental arthritis. *J Immunol.* 2007;178(12):7868-7878. DOI: 10.4049/jimmunol.178.12.7868
33. Yanaba K, Bouaziz JD, Matsushita T, Tsubata T, Tedder TF. The development and function of regulatory B cells expressing IL-10 (B10 cells) requires antigen receptor diversity and TLR signals. *J Immunol.* 2009;182(12):7459-7472. DOI: 10.4049/jimmunol.0900270
34. Yoshizaki A, Miyagaki T, DiLillo DJ, Matsushita T, Horikawa M, Kountikov EI, et al. Regulatory B cells control T-cell autoimmunity through IL-21-dependent cognate interactions. *Nature.* 2012;491(7423):264-268. DOI: 10.1038/nature11501
35. Kalampokis I, Yoshizaki A, Tedder TF. IL-10-producing regulatory B cells (B10 cells) in autoimmune disease. *Arthritis Res Ther.* 2013;15(Suppl 1):S1. DOI: 10.1186/ar3907
36. Khan AR, Amu S, Saunders SP, Hams E, Blackshields G, Leonard MO, et al. Ligation of TLR7 on CD19(+) CD1d(hi) B cells suppresses allergic lung inflammation via regulatory T cells. *Eur J Immunol.* 2015;45(6):1842-1854. DOI: 10.1002/eji.201445211
37. Matsushita T, Le Huu D, Kobayashi T, Hamaguchi Y, Hasegawa M, Naka K, et al. A novel splenic B1 regulatory cell subset suppresses allergic disease through phosphatidylinositol 3-kinase-Akt pathway activation. *J Allergy Clin Immunol.* 2016;138(4):1170-1182. DOI: 10.1016/j.jaci.2015.12.1319
38. Menon M, Blair PA, Isenberg DA, Mauri C. A regulatory feedback between plasmacytoid dendritic cells and regulatory B cells is aberrant in systemic lupus erythematosus. *Immunity.* 2016;44(3):683-697. DOI: 10.1016/j.immuni.2016.02.012
39. Rakoff-Nahoum S, Paglino J, Eslami-Varzaneh F, Edberg S, Medzhitov R. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell.* 2004;118(2):229-241. DOI: 10.1016/j.cell.2004.07.002
40. Rosser EC, Oleinika K, Tonon S, Doyle R, Bosma A, Carter NA, et al. Regulatory B cells are induced by gut microbiota-driven interleukin-1beta and interleukin-1β production. *Nat Med.* 2014;20(11):1334-1339. DOI: 10.1038/nm.3680
41. Ho MH, Wong WH, Chang C. Clinical spectrum of food allergies: a comprehensive review. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2014;46(3):225-240. DOI: 10.1007/s12016-012-8339-6
42. Manuyakorn W, Tanpowpong P. Cow milk protein allergy and other common food allergies and intolerances. *Paediatr Int Child Health.* 2018;17:1-9. DOI: 10.1080/20469047.2018.1490099
43. Sihra BS, Kon OM, Grant JA, Kay AB. Expression of high-affinity IgE receptors (Fc epsilon RI) on peripheral blood basophils, monocytes, and eosinophils in atopic and nonatopic subjects: relationship to total serum IgE concentrations. *J Allergy Clin Immunol.* 1997;99(5):699-706.
44. Lee JH, Noh J, Noh G, Choi WS, Cho S, Lee SS. Allergen-specific transforming growth factor-beta-producing CD19+CD5+ regulatory B-cell (Br3) responses in human late eczematous allergic reactions to cow's milk. *J Interferon Cytokine Res.* 2011;31(5):441-449. DOI: 10.1089/jir.2010.0020
45. Noh G, Lee JH. Regulatory B cells and allergic diseases. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2011;3(3):168-177. DOI: 10.4168/aaair.2011.3.3.168
46. Noh J, Lee JH, Noh G, Bang SY, Kim HS, Choi WS, et al. Characterisation of allergen-specific responses of IL-10-producing regulatory B cells (Br1) in cow milk allergy. *Cell Immunol.* 2010;264(2):143-149. DOI: 10.1016/j.cellimm.2010.05.013
47. Lee JH, Noh G, Noh J, Lee S, Choi WS, Kim HS, et al. Clinical characteristics of oral tolerance induction of IgE-mediated and non-IgE-mediated food allergy using interferon gamma. *Allergy Asthma Proc.* 2010;31(4):e39-e47. DOI: 10.2500/aap.2010.31.3345
48. Noh G, Lee SS. A pilot study of interferon-gamma-induced specific oral tolerance induction (ISOTI) for immunoglobulin E-mediated anaphylactic food allergy. *J Interferon Cytokine Res.* 2009;29(10):667-675. DOI: 10.1089/jir.2009.0001

49. Noh J, Noh G, Lee SJ, Lee JH, Kim A, Kim HS, et al. Tolerogenic effects of interferon-gamma with induction of allergen-specific interleukin-10-producing regulatory B cell (Br1) changes in non-IgE-mediated food allergy. *Cell Immunol.* 2012;273(2):140-149. DOI: 10.1016/j.cellimm.2011.12.006
50. Lee SJ, Noh G, Lee JH. In vitro induction of allergen-specific interleukin-10-producing regulatory B cell responses by interferon-gamma in non-immunoglobulin E-mediated milk allergy. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2013;5(1):48-54. DOI: 10.4168/aaair.2013.5.1.48
51. Kim AR, Kim HS, Kim DK, Nam ST, Kim HW, Park YH, et al. Mesenteric IL-10-producing CD5⁺ regulatory B cells suppress cow's milk casein-induced allergic responses in mice. *Sci Rep.* 2016;6:19685. DOI: 10.1038/srep19685
52. Liu ZQ, Wu Y, Song JP, Liu X, Liu Z, Zheng PY, et al. Tolerogenic CX3CR1⁺ B cells suppress food allergy-induced intestinal inflammation in mice. *Allergy.* 2013;68(10):1241-1248. DOI: 10.1111/all.12218
53. McCracken JL, Veeranki SP, Ameredes BT, Calhoun WJ. Diagnosis and management of asthma in adults: a review. *JAMA.* 2017;318(3):279-290. DOI: 10.1001/jama.2017.8372
54. Husaarts L, Van-Der-Vlugt LE, Yazdanbakhsh M, Smits HH. Regulatory B-cell induction by helminths: implications for allergic disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;128(4):733-739. DOI: 10.1016/j.jaci.2011.05.012
55. Mauri C, Bosma A. Immune regulatory function of B cells. *Annu Rev Immunol.* 2012;30:221-241. DOI: 10.1146/annurev-immunol-020711-074934
56. Smits HH, Everts B, Hartgers FC, Yazdanbakhsh. Chronic helminth infections protect against allergic diseases by active regulatory processes. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2010;10(1):3-12. DOI: 10.1007/s11882-009-0085-3
57. Braza F, Chesne J, Durand M, Dirou S, Mahay G, Magnan A, et al. A regulatory CD9(+) B-cell subset inhibits HDM-induced allergic airway inflammation. *Allergy.* 2015;70(11):1421-1431. DOI: 10.1111/all.12697
58. Reyes R, Cardeñes B, Machado-Pineda Y, Cabañas C. Tetraspanin CD9: a key regulator of cell adhesion in the immune system. *Front Immunol.* 2018;9:863. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00863
59. Singh A, Carson WF, Secor ER, Guernsey LA, Flavell RA, Clark RB, et al. Regulatory role of B cells in a murine model of allergic airway disease. *J Immunol.* 2008;180(11):7318-7326.
60. Natarajan P, Singh A, McNamara JT, Secor ER, Guernsey LA, Thrall RS, et al. Regulatory B cells from hilar lymph nodes of tolerant mice in a murine model of allergic airway disease are CD5⁺, express TGF-beta, and co-localize with CD4⁺Foxp3⁺ T cells. *Mucosal Immunol.* 2012;5(6):691-701. DOI: 10.1038/mi.2012.42
61. Van Der Vlugt LE, Mlejnek E, Ozir-Fazalalikhani A, Janssen Bonas M, Dijkstra TR, Labuda LA, et al. CD24(hi)CD27(+) B cells from patients with allergic asthma have impaired regulatory activity in response to lipopolysaccharide. *Clin Exp Allergy.* 2014;44(4):517-528. DOI: 10.1111/cea.12238
62. Blaiss MS, Hammerby E, Robinson S, Kennedy-Martin T, Buchs S. The burden of allergic rhinitis and allergic rhinoconjunctivitis on adolescents: a literature review. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2018;121(1):43-52. DOI: 10.1016/j.anai.2018.03.028
63. Kim AS, Doherty TA, Karta MR, Das S, Baum R, Beppu A, et al. Regulatory B cells and T follicular helper cells are reduced in allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2016;138(4):1192-1195. DOI: 10.1016/j.jaci.2016.03.017
64. Fonacier LS, Dreskin SC, Leung DY. Allergic skin diseases. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;125(2 Suppl 2):S138-S149. DOI: 10.1016/j.jaci.2009.05.039
65. Jin G, Hamaguchi Y, Matsushita T, Hasegawa M, Le Huu D, Ishiura N, et al. B-cell linker protein expression contributes to controlling allergic and autoimmune diseases by mediating IL-10 production in regulatory B cells. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;131(6):1674-1682. DOI: 10.1016/j.jaci.2013.01.044
66. Mazer B. Is there a place for B cells as regulators of immune tolerance in allergic diseases? *Clin Exp Allergy.* 2014;44(4):469-471. DOI: 10.1111/cea.12274

67. Watanabe R, Fujimoto M, Ishiura N, Kuwano Y, Nakashima H, Yazawa N, et al. CD19 expression in B cells is important for suppression of contact hypersensitivity. *Am J Pathol.* 2007;171(2):560-570. DOI: 10.2353/ajpath.2007.061279
68. Vitale G, Mion F, Pucillo C. Regulatory B cells: evidence, developmental origin and population diversity. *Mol Immunol.* 2010;48(1-3):1-8. DOI: 10.1016/j.molimm.2010.09.010
69. Falcó SN, Ferré Ybarz L. Hipersensibilidad a veneno de himenópteros. España: Asociación Española de Pediatría. 2013;1:135-144.
70. Boonpiyathad T, Meyer N, Moniuszko M, Sokolowska M, Eljaszewicz A, Wirz OF, et al. High-dose bee venom exposure induces similar tolerogenic B-cell responses in allergic patients and healthy beekeepers. *Allergy.* 2017;72(3):407-415. DOI: 10.1111/all.12966