



Panorama

Inmunorregulación: un nuevo paradigma terapéutico

Immune regulation: a new treatment paradigm

Irene Pradas Barriga, María Luisa del Río González y José Ignacio Rodríguez Barbosa

Instituto de Biomedicina, Inmunobiología, Universidad de León, León, España

Introducción

En agosto de 2010 tuvo lugar en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla el curso titulado "Inmunorregulación: un nuevo paradigma terapéutico", organizado por la Universidad Internacional Menéndez Pelayo y dirigido por el Dr. Marcos López Hoyos y el Dr. Víctor Manuel Martínez Taboada. La temática del curso trasladó una actualización de los conocimientos más recientes que nos han permitido comprender mejor los mecanismos reguladores de la respuesta inmunitaria. El curso se centró en las enfermedades autoinmunitarias y el trasplante, puesto que probablemente sean, junto con el cáncer, los campos donde primero se aplican todos los conocimientos básicos desarrollados en inmunorregulación.

Interacción leucocito-endotelio

Las jornadas fueron inauguradas por el Prof. Francisco Sánchez-Madrid (Hospital Universitario de La Princesa, Madrid), que presentó los avances más recientes en las comunicaciones intercelulares que permiten el intercambio de señales entre leucocito y endotelio y entre el linfocito T y las células presentadoras de antígeno (APC) durante la respuesta inmunitaria inflamatoria.

El proceso de migración y extravasación leucocitaria desde la sangre a los tejidos está orquestado por la acción conjunta de receptores de adhesión celular y factores quimiotácticos, e implica cambios morfológicos drásticos tanto en los leucocitos como en las células endoteliales, lo que permite una rápida y eficiente llegada de los leucocitos a los focos

inflamatorios sin comprometer la integridad de la barrera endotelial.

Los leucocitos circulantes contactan y se adhieren firmemente al endotelio del tejido inflamado a través de una secuencia de eventos moleculares (*tethering, rolling, adhesión firme y transmigración*) dirigidos por la interacción de moléculas de adhesión con sus ligandos. Tras la parada de los leucocitos en el endotelio, la unión de VCAM-1 e ICAM-1 con sus ligandos desencadena la reorganización del citoesqueleto cortical endotelial de actina y genera una estructura tridimensional de anclaje que rodea el leucocito y previene la desunión de los leucocitos adheridos en condiciones de flujo fisiológico. Dicha estructura contiene gran acumulación de receptores de adhesión, así como las proteínas ezrina y moesina activadas. La estructura endotelial de anclaje se sostiene por el citoesqueleto de actina y proteínas entrecruzantes de actina. Además, ambos receptores, VCAM-1 e ICAM-1, se agrupan de manera conjunta en la estructura endotelial de anclaje, aunque uno de ellos no se encuentre unido a su correspondiente ligando. Los acontecimientos tempranos de señalización comprenden la agregación de balsas de lípidos, compuestas por subdominios de membrana enriquecidos en colesterol y glucoesfingolípidos y por microdominios ricos en tetraspaninas, que actúan como plataformas endoteliales de adhesión especializadas.

Las tetraspaninas son pequeñas proteínas que atraviesan cuatro veces la membrana y se asocian lateralmente a través de su segundo dominio extracelular con otras proteínas integrales de membrana, regulan su función y forman dominios multiproteínicos en la membrana plasmática. La relevancia funcional de la inclusión de ICAM-1 y VCAM-1 en microdominios de tetraspaninas en las células endoteliales se ha demostrado mediante el silenciamiento de las tetraspaninas CD9 y CD151 en células endoteliales humanas primarias, donde

el número de interacciones disminuye de forma significativa, sobre todo en la etapa de adhesión firme. Por lo tanto, podría postularse que los microdominios de tetraspaninas, aunque no intervienen directamente en la unión al leucocito, son necesarios porque actúan como plataformas especializadas que organizarían de manera constitutiva en la membrana los receptores de adhesión, lo que permite una cinética rápida y una consecución eficiente del proceso de extravasación leucocitaria.

Estos conocimientos acerca del proceso de migración celular y la cascada de extravasación han permitido en las últimas décadas el desarrollo de terapias aplicables en el tratamiento de la inflamación. Así, los anticuerpos monoclonales contra VLA-4 (natalizumab) y LFA-1 (efalizumab) han mostrado un claro efecto terapéutico en las recidivas de la esclerosis múltiple, la psoriasis y la enfermedad de Crohn.

El grupo que dirige el Prof. Sánchez-Madrid ha estudiado igualmente las interacciones que tienen lugar entre los linfocitos T y las células presentadoras de antígeno (APC). Como ya sabemos, la activación de las células T requiere de dos señales: la presentación del antígeno en un contexto del complejo mayor de histocompatibilidad que sea reconocido por el receptor de la célula T (TCR) y las señales de coestimulación (unión de las moléculas B7 y CD28). Sin embargo, también tienen un papel muy importante las moléculas de adhesión como ICAM-1, 2, 3, VCAM-1 y LFA-1. Aunque por sí mismas no son moléculas coestimuladoras, aumentan el efecto de otras señales. En la interacción de la APC con la célula T, hay un cambio en la polaridad de esta, de forma que las moléculas de adhesión se concentran en el área de contacto. Además, para llevarse a cabo la sinapsis inmunológica y la posterior activación de las células T, es necesaria la participación del citoesqueleto, principalmente de moléculas de actina y proteínas entrecruzantes de actina como, por ejemplo, la debrina. Durante la unión de la APC y la célula T, el citoesqueleto de actina del linfocito se dispone formando un anillo que permite mantener el contacto intercelular gracias a una acumulación de mitocondrias que proporcionan la energía necesaria para la formación de dicha estructura. Además durante la primera fase de la activación ocurre una translocación del centro organizador de microtúbulos (MTOC) que modula la formación de la sinapsis inmunológica y controla sustancialmente la señalización en las células T, lo que afecta, por ejemplo, a la secreción de citocinas. La translocación de MTOC genera un acercamiento del aparato de Golgi al área de contacto entre ambas células, lo cual es importante para que se lleve a cabo una secreción polarizada. Entre las moléculas de señalización involucradas en la translocación de MTOC, se encuentran miembros de la familia de las proteincinasas src como Lck y Fyn, histona deacetilasa HD6, la cual regula la translocación de los microtúbulos y el complejo de proteínas Dynein-dynactina, cuya deficiencia o falta de funcionalidad impide el acercamiento de MTOC al área de sinapsis.

Una observación muy interesante es que la polarización de cuerpos multivesiculares (de origen endosomal y padres de los exosomas) hacia la zona de interacción podría actuar permitiendo la transmisión de información genética durante la sinapsis inmunológica, debido a los hallazgos de presencia de ARNm y micro-ARN típicos de linfocitos en las DC y viceversa.

De confirmarse, convertiría a la sinapsis inmunológica en un punto de intercambio de información genética.

Moduladores de la respuesta inmunitaria: adyuvantes

El Prof. Jesús Merino (Universidad de Cantabria) presentó datos experimentales relacionados con el uso de la enterotoxina termolábil (LT) de *Escherichia coli* como un nuevo adyuvante. Esta sustancia pertenece al grupo de las ADP ribosilasas y es altamente tóxica, ya que aumenta en gran medida la concentración de AMP cíclico citosólico y produce un cambio en la homeostasis y la liberación de una gran cantidad de líquidos. Su coadministración con un antígeno de interés incrementa el título de anticuerpos más eficientemente que cuando se hace con sales de aluminio. El problema es su elevada toxicidad, ya que el simple contacto con las mucosas a pequeñas dosis produce diarrea acuosa y, cuando se administra vía subcutánea, edema. La solución planteada por su grupo a este problema fue crear un mutante con actividad tóxica mínima o nula pero conservando el potente efecto inmunomodulador. Para ello, se generaron dos mutantes: el mutante LTK63 que carece totalmente de capacidad enzimática y, por lo tanto, no es tóxico, aunque ha perdido prácticamente toda la actividad inmunomoduladora, y el mutante LTR72, que mantiene ligeramente la actividad enzimática y presenta un mayor potencial de actividad adyuvante que el mutante LTK63. Parece que el poder inmunógeno de esta toxina modificada radicaría en parte en la capacidad de inducir una extensa apoptosis central y periférica de linfocitos, con la correspondiente liberación de señales intracelulares de peligro. Podría actuar igualmente regulando positivamente la expresión de GITR, y dicha sobreexpresión aumentaría la resistencia de las células T helper a ser inhibidas por las células Tregs.

Trasplante y tolerancia. Terapia celular en trasplante. Células T reguladoras y células mieloídes supresoras

El trasplante y la tolerancia frente al aloinjerto fueron objeto de una de las tres jornadas del curso, enfatizando la importancia de las nuevas terapias celulares mediante el empleo de células T reguladoras (Treg). La Dra. Kathryn Wood (Oxford University) ha contribuido enormemente al estudio de esta población celular y a su papel en el control de las respuestas alogénicas tanto en modelos murinos como en ensayos clínicos humanos. La vasculopatía crónica del injerto cursa con un estrechamiento de la luz arterial y la consecuente disminución de flujo sanguíneo al órgano injertado. El grupo de la Dra. K. Wood ha desarrollado un sistema experimental *in vivo* en ratones BALB/c Rag^{-/-} γ^{-/-} en el que trasplantaban pequeñas ramas de la arteria interna mamaria humana a la aorta murina, y posteriormente los ratones receptores se reconstituyan con leucocitos humanos del mismo haplotipo o alogénicos con respecto al injerto vascular. En dicho sistema experimental, se ha estudiado la capacidad de distintas poblaciones de células Treg expandidas *ex vivo* para inhibir

las células T alogénicas y así prevenir la proliferación de la íntima de la arteria trasplantada; las células Treg con baja expresión de CD127 son las que proporcionaban un mayor efecto protector. Precisamente, la baja expresión de CD127, junto con la elevada de CD25 y la presencia de Foxp3, se está consolidando como un marcador específico de células Treg.

El Dr. Jordi Ochando (Instituto de Salud Carlos III, Madrid) ha estudiado el reconocimiento directo e indirecto que tiene lugar tras un trasplante de corazón en modelos murinos, así como la distribución e interacciones de las células dendríticas (DC) durante el rechazo y la tolerancia. Sus resultados revelan que la presencia de DC del receptor que presentan aloantígenos de forma indirecta en los nódulos linfáticos (NL) está asociada a la tolerancia, lo que indica que los NL proporcionan un entorno único para la tolerancia periférica. Igualmente aportó datos interesantes relacionados con la importancia y el papel de las células mieloides supresoras (CMS) en tolerancia a trasplantes y en inmunología tumoral. Las CMS constituyen una población heterogénea compuesta de progenitores de células mieloides que pueden dar lugar a granulocitos, macrófagos y DC. Estas células migran a los órganos linfoides secundarios y tejidos inflamados, donde ejercen sus efectos en otras poblaciones celulares. Según revelan los datos recientes del Dr. Ochando, las CMS participarían sobre todo en la fase temprana durante el proceso de inducción de tolerancia a aloinjertos cardíacos protegidos con anti-CD40L y que las células Treg actuarían más tarde, ya que su formación requeriría de alrededor 3 semanas. En los órganos linfoides secundarios, la supresión mediada por CMS requiere la presentación directa de antígenos por estas células a las células T.

Por otro lado, estas células también participarían en la progresión de tumores, ya que las señales del entorno de crecimiento tumoral provocan una activación constitutiva del programa de inmunosupresión en las CMS, que afecta a las células T de las inmediaciones de una manera no específica de antígeno. Además facilitarían el crecimiento del tumor mediante la promoción directa de la angiogénesis y linfangiogénesis. Las CMS también pueden migrar a tejidos distantes y participar en la formación de un nicho premetastásico mediante la promoción de la angiogénesis local y la supervivencia de las células tumorales.

Inmunosupresión y terapia farmacológica: biomarcadores

La Dra. Mercé Brunet (Hospital Clínic de Barcelona) presentó sus resultados sobre la monitorización farmacológica de los inmunosupresores y la importancia de encontrar nuevos biomarcadores que ayuden a realizar una inmunosupresión más personalizada para cada paciente. De esta manera, se podría permitir la implementación de la retirada gradual de los inmunosupresores, y ello facilitaría la identificación de los pacientes que han adquirido tolerancia al trasplante. Se incluyen tanto biomarcadores de biodisponibilidad de los fármacos inmunosupresores que indican el grado de metabolización y distribución del fármaco, así como biomarcadores de inmunomodulación para medir el efecto de los inmunosupresores en la respuesta mediada por células T.

Asimismo, este grupo aplica técnicas de citometría de flujo para medir expresión de marcadores de la actividad funcional de las células T, como las citocinas intracelulares, y la monitorización de distintas poblaciones celulares de la sangre.

El Dr. José María Grinyó (Hospital Universitario de Bellvitge) presentó datos de un estudio piloto con 20 pacientes de trasplante renal aplicando un régimen libre de inhibidores de la calcineurina y esteroides, basado en dosis bajas de sirolimus, micofenolato mofetilo y globulina antitimocítica de conejo (rATG). Este grupo propone que una depleción transitoria de células T con rATG, seguida por una reconstitución del compartimento celular T, bajo la acción de sirolimus, podría ser la forma de promover un estado tolerogénico al favorecer el desarrollo de las células Treg en la fase temprana postrasplante. En este trabajo, se demostró que se puede lograr una hiporrespuesta específica de donante y que puede persistir incluso en pacientes que sufrieron rechazo agudo. En el caso del rechazo subclínico, las células Treg desempeñarían un papel protector y contribuirían al mantenimiento de la función del órgano.

El Dr. Manuel Arias (Hospital Universitario Marqués de Valdecilla) expuso la importancia del efecto de la inmunosupresión farmacológica en las células Treg. El grupo de investigación del Dr. Arias examinó el impacto de diferentes agentes inmunosupresores en la concentración en sangre de células Treg de pacientes trasplantados renales. Los datos del grupo indican un efecto deletéreo de los inhibidores de calcineurina (ciclosporina, tacrolimus) en las células Treg, en comparación con los inhibidores de mTOR. Además, este efecto parece ser dependiente de la dosis, según los resultados obtenidos en la concentración sanguínea del fármaco. Además, datos recientes del grupo procedentes de un estudio prospectivo en trasplantados renales muestran que las células Treg en sangre disminuyen a los 6 meses del trasplante, para ir recuperándose posteriormente. Este efecto es secundario a la elevada inmunosupresión que recibe el trasplantado durante los primeros meses del trasplante, pero también a los eventos inflamatorios peritransplante que influyen en la concentración sanguínea de células Treg. Por otro lado, este grupo también investiga si los anticuerpos anti-CD25 (IL-2R α) podrían favorecer la terapia con Treg, para lo que han realizado el seguimiento de recuento de Treg en 33 pacientes con trasplante renal tratados con tacrolimus, micofenolato mofetilo y prednisolona.

El Dr. Grinyó de nuevo mostró los fármacos más novedosos en trasplante renal, desde los inhibidores de la calcineurina (CNI) hasta los más recientes inhibidores de las cinasas (PKC, JAK) y de la coestimulación. Entre los inhibidores de las cinasas, se encuentra la sotrestaurina (STN), que inhibe la activación de las células T mediante la inhibición de la proteincinasa C (PKC). La STN se utiliza en un régimen libre de CNI, aunque con tasas de rechazo más altas, pero con un mejor mantenimiento de la función renal. Las JAK tienen un dominio cinasa y otro seudocinasa y su función es propagar la señal de los receptores de citocinas. Los inhibidores de las JAK tienen que ser muy específicos, ya que hay varios tipos; el más usado es el inhibidor de la JAK3 (CP690.550), pero un fallo en la especificidad del inmunosupresor puede causar la inhibición de la JAK2 que comunica las señales del receptor de EPO y causa anemias. Si se consigue mejorar la especificidad de estos inmunosupresores, combinados con inhibidores de

la coestimulación se podrían mejorar sustancialmente los resultados actuales. Por último, mostró los avances recientes con los inmunosupresores inhibidores de la coestimulación como, por ejemplo, belatacept, una proteína de fusión que consta del fragmento Fc de la inmunoglobulina humana IgG1 unido al dominio extracelular de CTLA4, capaz de competir con CD28 por unirse a B7 en la DC y así bloquear selectivamente la activación de las células T. La combinación de belatacept con sirolimus ha proporcionado buenos resultados clínicos, pero se han observado úlceras bucales frecuentes. Con los nuevos inmunosupresores, la prevalencia de la nefropatía crónica tiene un porcentaje bajo siempre y cuando el injerto sea de buena calidad. Hoy por hoy se sigue investigando en el uso de nuevos fármacos inmunosupresores que mejoren las tasas de supervivencia y no afecten a la funcionalidad del injerto, como son el FK778 (inhibidor de las pirimidinas), anticuerpos contra proteínas del complemento, bortezomib (inhibidor del proteosoma), alefacept (LFA3-Ig) y anticuerpos monoclonales antagonistas dirigidos contra CD40.

Siguiendo con los avances en inmunsupresión, el Dr. José Ignacio Rodríguez-Barbosa (Unidad de Inmunobiología, Universidad de León) presentó datos sobre cómo podemos modular la respuesta inmunitaria alogénica actuando sobre las rutas coestimuladoras y coinhibidoras para el control de la respuesta inmunitaria en trasplante. El objetivo de esta terapia es prescindir de los inmunsupresores clásicos o, por lo menos, reducirlos al mínimo. Este grupo investiga sobre la base de tres hipótesis de trabajo encaminadas a prevenir el rechazo y facilitar la inducción de tolerancia: a) el bloqueo de la migración, bien de las DC al ganglio linfático o de las células T efectoras al injerto; b) la depleción selectiva de las células T alorreactivas dirigiendo anticuerpos monoclonales contra moléculas blanco expresadas únicamente en dichas células T tras la activación, y por último, c) la inducción de anergia mediante el bloqueo de la coestimulación. En este sentido, el Dr. Rodríguez-Barbosa ha centrado su trabajo en el bloqueo de la interacción ligando-receptor de coestimulación entre la DC y la célula T, ya sea mediante anticuerpos monoclonales o receptores solubles recombinantes que actúan como señuelos y previenen dicha interacción. La respuesta inmunitaria alogénica puede igualmente modularse a través de los receptores inhibidores, bien sea con un anticuerpo agonista dirigido contra el receptor inhibidor, o bien utilizando el ligando soluble recombinante. Una de esas vías de intercambio de información entre la célula dendrítica y la célula T es la interacción HVEM/LIGHT/BTLA/CD160. Tanto el bloqueo de la interacción entre moléculas coestimuladoras HVEM/LIGHT como la señalización agonista a través de los receptores inhibidores BTLA/CD160 podrían representar dianas mediante las que podría modular la respuesta inmunitaria alogénica.

Dichas dianas terapéuticas potenciales en un futuro cercano podrían abrirse paso entre los inmunsupresores farmacológicos debido a su mayor especificidad de acción.

Enfermedades autoinmunitarias

Las enfermedades autoinmunitarias constituyen un conjunto de enfermedades que podrían beneficiarse de las

terapias inmunomoduladoras, y varios ponentes del curso centraron sus presentaciones sobre este tema. La Dra. Ana Izcue (Max Planck Institute of Immunobiology, Friburgo, Alemania) expuso el papel de las células T reguladoras en la enfermedad inflamatoria intestinal. Desde el punto de vista inmunológico, el intestino se enfrenta a grandes retos, al ser punto de entrada y de contacto con una carga antigenica constante de microorganismos comensales y patógenos. La mayoría de los antígenos provienen de la comida y de la flora comensal, por lo que es esencial el establecimiento de tolerancia en la mucosa intestinal. Ratones inmunodeficientes infectados con *Helicobacter hepaticus* que reciben la administración conjunta de células Treg no desarrollan un proceso inflamatorio. Estas células desempeñan un papel clave en la tolerancia y en enfermedades inflamatorias intestinales como la enfermedad de Crohn o la colitis ulcerosa. La IL-23 es un miembro de la familia de la citocina IL-12, y modelos murinos deficientes en ella son resistentes a desarrollar colitis debido a un aumento de las células Treg en este compartimento. El intestino puede inducir la generación de células Treg por un mecanismo dependiente de TGF-β y ácido retinoico y esta frecuencia de Treg aumenta en ausencia de IL-23. Todos estos datos muestran una nueva función de la IL-23 dentro del sistema inmunitario demostrando que no influye sólo en la actividad de las células Th17, sino también en otro tipo de respuestas, como las mediadas por células Treg, y por ello representa una posible diana terapéutica en el tratamiento de enfermedades inflamatorias.

En la misma línea, la Dra. María Eugenia Miranda Carús (Hospital Universitario La Paz) expuso los objetivos de su grupo de investigación: evaluar el efecto de los fibroblastos sinoviales aislados de pacientes con artritis reumatoide (AR) en el equilibrio entre células Treg y T efectoras, así como el estudio de la frecuencia y la capacidad funcional de las Treg en sangre y en el líquido sinovial en esos mismos pacientes. Primero observaron que los fibroblastos sinoviales de pacientes con AR (RASFib) expresan constitutivamente en su superficie IL-15, lo cual no ocurre en fibroblastos sinoviales de pacientes con osteoartritis o en fibroblastos de la dermis.

Para valorar la acción de los RASFib en el equilibrio entre las células T, se cocultivaron células T tanto efectoras como reguladoras con RASFib. Estos investigadores observaron que RASFib ejercen una acción doble en el equilibrio entre Treg y T efectoras, y aunque se potencia el efecto supresor de las Treg, también se aumentaba la acción proinflamatoria de las T efectoras; el resultado es un cambio en el balance Treg/T efectoras hacia un estado proinflamatorio. Sin embargo, esta alteración del equilibrio entre las células T no se observa en cocultivos con fibroblastos sinoviales de pacientes con osteoartritis ni con fibroblastos de la dermis, que no expresan constitutivamente IL-15. Las células T efectoras secretan grandes cantidades de citocinas patogénicas cuando se cocultan con RASFib, a pesar del aumento de la proliferación de células Treg con un mayor potencial supresor.

El Dr. José Luis de Pablos Álvarez (Hospital 12 de Octubre) expuso los avances recientes en la biología de los fibroblastos en la inflamación crónica, la cual se da en enfermedades autoinmunitarias como la artritis reumatoide (AR). En la membrana sinovial, se produce una infiltración intensa

de células inflamatorias, vasos sanguíneos y fibroblastos estableciéndose estructuras organizadas similares a las de un órgano linfoide secundario que sostienen el proceso inflamatorio que lleva a la degradación del cartílago e incluso del propio hueso. La AR se desarrolla por fases pero, una vez se han establecido los cambios en la estroma, la cronicidad de la enfermedad se perpetúa. En condiciones de inflamación crónica, los fibroblastos se transforman y, pasado un tiempo, pueden producir mediadores en ausencia de estímulos. Se puede establecer una relación entre la expansión autónoma del estroma con la destrucción tisular y la inflamación crónica. Esto se ha conseguido con marcadores para miofibroblastos y para la chaperona hsp47, cuya presencia era detectable y se encontraba aumentada en casos de AR tanto en la zona de la membrana sinovial (*lining*) como cerca de las células inflamadas (*sublining*). Con el tiempo se puede observar un aumento progresivo de los fibroblastos en el *lining* y tras un tratamiento con anti-TNF α se produce una disminución, mientras que en el *sublining* no hay cambios aparentes. El grupo ha comparado el transcriptoma de individuos sanos con el de sujetos que sufren AR o osteoartritis (OA). En los resultados se observan diferencias entre sujetos sanos y con AR, pero los sujetos con OA muestran diferencias más significativas. Como en la inflamación hay condiciones de hipoxia, decidieron estudiar el transcriptoma en los mismos casos anteriores pero en estas condiciones. Los resultados de todos los sujetos en condiciones normales y de hipoxia muestran cambios importantes, pero sobre todo los sujetos con OA muestran cambios en genes del metabolismo y en genes implicados en inflamación e inmunorregulación, como los genes de CXCL3 o IL-10.

En resumen, podemos decir que los cambios en el estroma son importantes para que tenga lugar la inflamación crónica; el estroma es un componente dinámico y sus cambios son parcialmente reversibles con una terapia anti-TNF α . Los sujetos con AR y OA presentan un fenotipo anormal pero estable, con cambios en la transcripción, y la hipoxia es un factor local muy importante.

El Dr. Ramón Merino (CSIC, Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria) mostró los nuevos avances sobre las interacciones entre reguladores de proliferación y de apoptosis en el control de la tolerancia inmunológica. Este grupo ha estudiado cómo los procesos de alteración de la proliferación y muerte celular afectan a las enfermedades autoinmunitarias. Así, comprobaron que la inhibición de los fenómenos de apoptosis linfocitaria modulan la aparición de autoinmunidad usando el modelo de la artritis inducida tras inmunización con colágeno de tipo II (CIA). Para ello, disponen de dos líneas de ratones B6 transgénicos (Tg) que hiperexpresan hBcl-2; la línea 1 expresa el transgén únicamente en linfocitos B, mientras que la línea 2 también expresa el transgén en un porcentaje variable de células T CD8+ y CD4+.

El desarrollo de CIA se analizó tras inmunización de animales F1, obtenidos mediante el cruce de las diferentes líneas de ratones Tg con una cepa de ratones susceptible a CIA (cepa DBA/1). Mientras los animales F1 no Tg y F1 de la línea 1 desarrollaron una artritis muy severa, no se apreciaron lesiones articulares importantes en los animales F1 de la línea 2. Por lo tanto, la línea 2 presentó un fenotipo protector y la ausencia de CIA severa en esos animales se correlacionó con

la sobreexpresión de hBcl-2 en subpoblaciones CD4+ y con la expansión de células T con fenotipo regulador (CD4+CD25+). En este sentido, el efecto protector contra el desarrollo de CIA se observó también en ratones F1 Tg obtenidos del cruce de ratones DBA/1 con una tercera línea de ratones Tg que sobreexpresaba hBcl-2 exclusivamente en linfocitos T. Cuando se eliminaba selectivamente la población de células Treg CD4+CD25+ en estos ratones F1, se inducía artritis severa. En conclusión, estos estudios indican que la sobreexpresión de hBcl-2 en linfocitos T CD4+ incrementa la generación y/o actividad de células T reguladoras capaces de inhibir el desarrollo CIA. De la misma manera, pudieron poner de manifiesto que los ratones con fenotipo protector tienen niveles más elevados de TGF β e IL-10. Al eliminar las células Treg, el patrón de citocinas muestra niveles más parecidos a los de los sujetos que desarrollan CIA, con niveles elevados de IL-1 β , IL-6 y TNF α .

El Dr. Manuel Santamaría Osorio (Hospital Reina Sofía, Córdoba) presentó datos clínicos recogidos de pacientes diagnosticados de psoriasis y enfermedad celíaca. En la psoriasis aparecen placas escamosas bien definidas y de tamaño variable. Se estima que la padece un 2-3 % de la población mundial y no existe prevención primaria. Su forma más frecuente es la psoriasis vulgaris, y respecto a su etiología, aún hay bastantes interrogantes (predisposición genética, estrés, infección o causas inmunológicas). Actualmente las células Th17 son consideradas las participantes más relevantes en la patogenia de las lesiones cutáneas de esta enfermedad. Se sabe que están presentes en la placa psoriásica y producen IL-17, IL-21 e IL-22 en mayor cantidad que en pacientes sanos. Siendo la IL-23 la gran directora de la diferenciación de las células CD4+ a células Th17, el bloqueo de la subunidad p40 de la IL-23 con anticuerpos monoclonales da como resultado una mejora significativa en la enfermedad, lo que pone de manifiesto la importancia de las células Th17 en la psoriasis. Sin embargo, poco se sabe sobre el papel potencial de las células CD8+ productoras de IL-17. Estas células, también presentes en la placa psoriásica, producen citocinas de tipo Th1 (TNF α e INF γ), así como de tipo Th17 (IL-17, IL-21 e IL-22). Por lo tanto, las células CD8+ productoras de IL-17 comparten ciertas características con las Th17.

En cuanto a la enfermedad celíaca, sabemos que se trata de una enfermedad con predisposición genética, que en la mayoría de los casos cursa de forma asintomática, aunque puede llegar a producir lesiones en el intestino, incluso en los casos silentes. Las infiltraciones de las lesiones contienen Th17, al igual que en la psoriasis cursan con una gran frecuencia de células productoras de IL-17.

Terapia en enfermedades autoinmunitarias

El último grupo de presentaciones trató diferentes facetas de la terapia en la enfermedad autoinmunitaria. La Dra. Elena González-Rey (Instituto de Parasitología y Biomedicina López Neyra, CSIC-Granada) nos proporcionó un nuevo enfoque del uso terapéutico de los neuropéptidos (NP). El hecho de que el sistema inmunitario y el neuroendocrino interactúan entre sí es bien conocido. El sistema nervioso central, a través del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal, responde frente a los

estados de inflamación y estrés mediante la estimulación de la secreción de glucocorticoides por las glándulas suprarrenales. Este grupo ha investigado el efecto terapéutico de DC reguladoras inducidas por péptido vasoactivo intestinal (DCVIP) en un modelo murino de colitis. La inyección de DCVIP mejoró significativamente el curso clínico e histopatológico de la colitis, y se observó menos disminución de la pérdida de peso, diarrea e inflamación. El efecto terapéutico se asoció con la inhibición de la inflamación y la respuesta inmunitaria Th1 por la regulación de una amplia gama de mediadores de la inflamación y por la generación de células Treg secretoras de IL-10 con capacidad supresora de las células T autorreactivas.

Centrándose en el neuropéptido VIP, este grupo de investigadores estudió sus efectos tras su administración a un modelo murino con encefalomieltis autoinmunitaria experimental (EAE). Los resultados mostraban la capacidad de VIP de expandir células Treg en la periferia, las cuales aparentemente son capaces de cruzar la barrera hematoencefálica y permanecer en el sistema nervioso, donde inhiben la respuesta patogénica. VIP no sólo provoca la expansión de células Treg, sino que estas células son más eficientes tanto en la secreción de citocinas como en la actividad supresora. Todos estos efectos previenen la progresión de la EAE, enfermedad que tiene muchas similitudes con la enfermedad autoinmunitaria que afecta a la especie humana llamada esclerosis múltiple.

A continuación, el Dr. Mario Delgado Mora (Instituto de Parasitología y Biomedicina López Neyra, CSIC-Granada) nos expuso las perspectivas terapéuticas de las células madre adultas como estrategia experimental para la inducción de tolerancia en enfermedades autoinmunitarias. En estas enfermedades se ha perdido el equilibrio entre tolerancia e inmunidad, y las células Treg —tanto las naturales como las inducibles— tienen un papel importante, ya que en los casos de autoinmunidad el número de estas células disminuye o su potencial regulador se ve disminuido. Por lo tanto, el objetivo es recuperar el estado de homeostasis potenciando los mecanismos reguladores mediante las células madre mesenquimales (MSC). Las MSC pueden definirse como células multipotentes pertenecientes al estroma y generalmente se aíslan de la médula ósea, aunque se encuentran en casi todos los tipos de tejido conectivo y poseen la capacidad de diferenciarse a células pertenecientes al linaje mesodermal, como adipocitos, osteocitos y condrocitos. Las MSC interactúan con células tanto de la inmunidad innata como de la adaptativa para llevar a cabo sus funciones efectoras de modulación. Las MSC son capaces de inhibir la proliferación de linfocitos alogénicos y la liberación de citocinas proinflamatorias; por ello pueden investigarse estos efectos como mecanismos potencialmente atractivos para tratamientos de enfermedades autoinmunitarias inflamatorias.

El grupo de investigación del Dr. Mario Delgado se ha centrado en el estudio de las células madre mesenquimales humanas aisladas de tejido adiposo (hASC). Seleccionaron este tipo celular porque el tejido adiposo es abundante y de fácil obtención. Las hASC presentan también efectos inmunomoduladores, como han demostrado al tratar con estas células a ratones a los que se había inducido colitis crónica y aguda con sulfato de dextrano sódico. La infusión sistémica

de hASC mejoró significativamente la severidad clínica e histopatológica de la colitis, disminuyendo síntomas como la pérdida de peso, diarrea e inflamación y aumentando la supervivencia. El efecto terapéutico se asoció con la inhibición de la inflamación y la respuesta inmunitaria Th1. Las hASC disminuyeron los niveles de gran número de citocinas inflamatorias y quimiocinas, y provocaron la inducción de secreción de IL-10. En un modelo experimental de sepsis grave se demostró que la administración de hASC reducía la infiltración de células inflamatorias en órganos diana diferentes y disminuía la producción de diversos mediadores de la inflamación. Además las hASC limitaron la expansión de células Th1 mediante la inducción/activación de células Treg con capacidad supresora de respuestas Th1 efectoras *in vitro* e *in vivo*. Con estos resultados, podemos decir que las hASC emergen como reguladores clave de la tolerancia inmunitaria y como candidatos atractivos para una terapia celular contra la enfermedad de Crohn, la enfermedad inflamatoria del intestino o la sepsis. El tratamiento con este tipo de células madre se estudió también para enfermedades autoinmunitarias como la AR.

El ciclo de conferencias se clausuró con la intervención del Dr. Yehuda Shoenfeld (Sheba Medical Center, Tel Aviv University, Israel) sobre la vitamina D y las enfermedades autoinmunitarias. Además, en esta charla se planteó el tema de la predicción y la prevención de dichas enfermedades. Ya se había expuesto en algunos trabajos la función de los anticuerpos como predictores de enfermedades como AR, lupus eritematoso sistémico, DM1, etc. Para la predicción, hay que considerar que la genética tiene un papel muy importante en la autoinmunidad, hecho avalado por un gran número de estudios que relacionan ciertos genes con la predisposición a contraer ciertas enfermedades autoinmunitarias. Por ello, la pregunta que hay que plantearse es si la predicción de la autoinmunidad es real o no y si puede resultar práctica y eficaz. En caso de poder predecir una enfermedad autoinmunitaria, ¿cómo se puede prevenir su desarrollo?

Finalmente, en los últimos años se ha descubierto que la vitamina D es un agente muy relacionado con la autoinmunidad, pues presenta múltiples propiedades inmunorreguladoras. Se ha demostrado que suplementos de vitamina D son efectivos como terapia en varios modelos animales de enfermedades autoinmunitarias como encefalomieltis, artritis inducida por colágeno, DM1, enfermedad inflamatoria intestinal, tiroiditis autoinmunitaria y lupus eritematoso sistémico. Además, otro estudio ha demostrado que altos niveles de vitamina D están asociados con un menor riesgo de esclerosis múltiple. La vitamina D interviene en la regulación y la diferenciación de las células del sistema inmunitario directa e indirectamente. Existe una asociación entre la prevalencia relativamente alta de la esclerosis múltiple y la enfermedad inflamatoria intestinal en las regiones del norte del hemisferio y la menor exposición a la luz solar en estas zonas geográficas. La vitamina D interviene en la regulación genética de la producción de citocinas, de tal forma que es capaz de modular la función de las DC. Como conclusión, la vitamina D confiere un efecto inmunosupresor y se ha demostrado que produce efectos clínicamente beneficiosos en modelos animales.