



# Inmunología

www.elsevier.es/inmunologia



## Panorama

### Informe de la 2.<sup>a</sup> Reunión de la Sociedad de Inmunología de la Comunidad Autónoma de Madrid (SICAM)

### Report on the 2nd Meeting of the Autonomous Community of Madrid Immunology Society (SICAM)

Julia Sequí<sup>a</sup>, Eduardo Fernández-Cruz<sup>b</sup>, Dolores Jaraquemada<sup>c</sup> y María Luisa Toribio<sup>d</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Inmunología, Hospital Carlos III, Madrid, España

<sup>b</sup>Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Departamento de Microbiología e Inmunología, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España

<sup>c</sup>Institut de Biotecnologia i Biomedicina, Universitat Autònoma, Cerdanyola del Vallès, Barcelona, España

<sup>d</sup>Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, España

## Introducción

El día 15 de octubre de 2010, la Sociedad de Inmunología de la Comunidad de Madrid (SICAM) celebró su 2.<sup>a</sup> Reunión Anual, organizada por el Prof. Eduardo Fernández Cruz, presidente de ésta, en el marco del Aula Magna del Hospital General Universitario Gregorio Marañón (HGUGM) de Madrid.

La SICAM se creó con el fin de promover el desarrollo de la Inmunología en sus facetas clínica y básica, abierta a los avances científicos, en beneficio de los pacientes con afecciones inmunes en la Comunidad de Madrid. La celebración de reuniones anuales contribuye a la formación y el perfeccionamiento, y facilita el contacto entre sus asociados (175 miembros) y de todas las personas interesadas en la Inmunología. Uno de sus objetivos fundacionales es dar a conocer la importancia de la Inmunología Clínica a las administraciones sanitarias centrales, autonómica y hospitalarias, junto con nuestra Sociedad *mater*, la Sociedad Española de Inmunología (SEI), y la Sociedad Catalana de Inmunología (SCI) y su aproximación a especialidades biomédicas afines.

En su afán de atender a la búsqueda de soluciones a los interrogantes relacionados con la especialidad de Inmunología en el Sistema Nacional de Salud, la SICAM inició la jornada con una mesa redonda, seguida de un debate apasionante acerca

del futuro de la especialidad de Inmunología y su ubicación dentro de la nueva legislación troncal. Troncalidad: el futuro de la Inmunología como una especialidad intertroncal o integrada en un tronco mixto clínico y laboratorio.

Todos los inmunólogos presentes propusieron incluir la especialidad de Inmunología dentro de un tronco mixto clínico y laboratorio, como una especialidad mixta, propuesta hasta el momento no aceptada por la Administración central. Nuestra proposición, consensuada por la mayoría de los especialistas en Inmunología, fue leída por la presidenta de la SEI, la profesora Dolores Jaraquemada (ver Anexo), avalada por los presidentes de la SCI, el Dr. Manel Juan, y de la SICAM, el Prof. Eduardo Fernández Cruz, a su vez presidente de la Comisión Nacional de la especialidad.

En el devenir de la mesa redonda, su moderador, el presidente del Consejo Nacional de Especialidades en Ciencias de la Salud, Dr. Alfonso Moreno, se comprometió a informar de nuestro objetivo al subdirector general de Ordenación y Recursos Humanos del Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad, y defender la propuesta con el fin de lograr una especialidad englobada dentro del deseado tronco mixto.

El debate fue apasionante y creemos que se deben mantener los objetivos que han jalonado la vida institucional de la especialidad. Nuestro encaje en un tronco mixto debe estar claro para la supervivencia de nuestra especialidad. Los inmunólogos



**Figura 1 - El Dr. Gomersindo Fontán recibe el premio Socio de Honor de la SICAM.**

nos hemos propuesto otros muchos objetivos y los hemos conseguido, como la creación de la especialidad, fomentar la creación de los servicios de Inmunología hospitalarios o la creación del Área de Conocimiento en Inmunología con la instauración de las cátedras universitarias y la consiguiente expansión de la investigación en Inmunología a las universidades y al Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).

En relación con los contenidos de las conferencias científicas, resaltó con especial énfasis el relacionado con las inmunodeficiencias y sus tratamientos actuales. El profesor Dr. Bodo Grimbacher, del Department of Immunology and Molecular Pathology del Royal Free Hospital & University College de Londres (Reino Unido), inició las conferencias científicas. El Dr. Grimbacher, que trabaja en su laboratorio clínico en la investigación genética de las inmunodeficiencias primarias, en su conferencia acerca de “Una disección genética de las inmunodeficiencias humanas”, nos sorprendió con la novedosa descripción genética de dos nuevas inmunodeficiencias intestinales (Lancet. 2010;376:1272).

La segunda conferencia corrió a cargo de la profesora Helen Chapel, del Departamento de Clinical Immunology en el John Radcliffe Hospital de Oxford (Reino Unido). La profesora Helen Chapel es “maestra” de toda una generación de inmunólogos clínicos gracias a su libro de Inmunología Clínica, continuador de la saga de los textos didácticos anglosajones, como los del Prof. Ivan Roitt y de los profesores Gell y Coombs, en 1959. En su exposición revisó el “Fenotipaje clínico en las deficiencias de anticuerpos”, enfatizando su relevancia para el pronóstico y tratamiento.

La 2.ª Mesa Redonda aproximó la Inmunología a especialidades médicas afines y fue una ventana abierta al papel clínico y de laboratorio de nuestra especialidad (“Diagnóstico, monitorización e inmunomodulación en patologías autoinmunes, trasplantes, inmunodeficiencias y otras enfermedades de base inmunológica: diversidad de aproximaciones en el uso clínico de gammaglobulinas y terapia biológica”). Las ponencias clínicas incluyeron diversos aspectos de la inmunomodulación actual en el síndrome antifosfolípido catastrófico, en dermatopolimiositis, en uveítis recurrentes, en enfermedades neuromusculares, en la prevención de la infección postrasplante

cardíaco y en los fallos de implantación tras fertilización in vitro, asociada a expansión de células tipo *natural killer* (NK). Expertos en los temas mencionados presentaron los datos clínicos más recientes sobre patogenia y tratamiento (Ricard Cervera. Servicio de Enfermedades Autoinmunes, Hospital Clínic, Barcelona; Javier López Longo. Servicio de Reumatología HGUGM. Madrid; José María García Ruiz de Morales. Unidad de Inmunología Clínica. Hospital de León. León; José Luis Muñoz Blanco. Unidad ELA-Neuromuscular, Servicio de Neurología. HGUGM. Madrid; Javier Carbone, Juan Fernández-Yáñez, Jesús Palomo y Francisco Fernández-Avilés. Unidad de Inmunología Clínica y Servicio de Cardiología. HGUGM. Madrid; Silvia Sánchez Ramón y Ángel Aguarón. Unidad de Inmunología Clínica y Servicio de Obstetricia. HGUGM. Madrid).

La jornada científica de la mañana finalizó con la conferencia magistral de la Dra. Charlotte Cunningham-Rundles, profesora de Medicina, Pediatría y Bioquímica en el Hospital Mount Sinai de Nueva York (Estados Unidos). La profesora Cunningham-Rundles, que es graduada en Química, Medicina e Inmunología, habló de la inmunomodulación en pacientes con inmunodeficiencias, y presentó los nuevos conocimientos en los mecanismos inmunológicos efectores, en especial el papel de los linfocitos B.

Se está preparando para su publicación una monografía con las ponencias científicas completas de todos los autores mencionados.

A mitad de la mañana se realizó la entrega de los premios “Socio de Honor” por la Ilma. viceconsejera de Ordenación Sanitaria e Infraestructura, Dña. Belén Prado, representante del Gobierno autonómico. La viceconsejera, en su disertación histórica al papel de la Inmunología en el mundo sanitario en presencia del Sr. director gerente del Hospital anfitrión (HGUGM), don Antonio Barba Ruiz de Gauna, en la que constató el acercamiento de la SICAM a la Administración regional. Los premios fueron concedidos a los ponentes internacionales Prof.ª Charlotte Cunningham-Rundles, Prof.ª Helen Chapel y Prof. Bodo Grimbacher y a los ponentes nacionales Dr. Ricard Cervera y Dr. Gomersindo Fontán, nuestro querido Sindo, uno de los mejores inmunólogos de España, y un experto de reconocido prestigio internacional en el campo de las inmunodeficiencias. Los cinco premiados son claros representantes de una medicina transversal. Los inmunólogos debemos intentar imitar su andadura profesional.

La Jornada Científica Básico-Clínica de la tarde nos aproximó a un grupo seleccionado de investigadores que trabajan en esta tierra, con una mesa redonda coordinada por la Prof.ª María Luisa Toribio, excelente investigadora inmunóloga del Centro de Biología Molecular Severo Ochoa del CSIC y la Universidad Autónoma de Madrid (UAM). Participaron un surtido grupo de investigadores especialistas en diferentes áreas de la Inmunología, representativos de diferentes instituciones públicas de la Comunidad de Madrid. La sesión se abrió con el trabajo presentado por la Dra. María Luisa Gaspar del Centro Nacional de Microbiología del Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), realizado en colaboración con el grupo dirigido por el Dr. Miguel Ángel Rodríguez Marcos del Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CSIC-UAM). La presentación resumió los estudios del grupo sobre la generación de la linfopoyesis B

en la vida embrionaria y la emergencia de las poblaciones linfoides innatas. Se sabe que los linfocitos del sistema inmunitario (SI) adaptativo se caracterizan porque presentan receptores clonotípicos, mediante los que responden de forma altamente específica frente a los componentes del SI innato, que producen fuertes y resolutivas respuestas no específicas/polirreactivas. Algunas subpoblaciones linfoides comparten ciertas características que las aproximan al SI innato, por lo que se denominan *seudoinnatas*. Entre ellas, además de su patrón restrictivo de respuestas debido a la utilización de genes conservados en sus receptores clonotípicos, destaca su aparición temprana y, de hecho, frecuentemente son de origen fetal. Utilizando como modelo de estudio el ratón, este trabajo define las primeras poblaciones linfoides que aparecen durante la vida embrionaria. Así, el grupo ha identificado células de tipo NK/NK T cells (NKT), localizadas preferentemente en el saco vitelino a día 10 de la gestación, que se pueden establecer fácilmente como líneas de tipo NK en cultivo. Se ha caracterizado el papel que diferentes ADN polimerasas tienen en la reparación de uniones de ADN, ocasionados por los reordenamientos de los genes de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas durante la vida embrionaria. Por otro lado, el grupo había identificado previamente una población de células B CD19<sup>+</sup>B220/CD45R<sup>-</sup>, que aparece a día 10.5-11.5 de la gestación en el hígado fetal. En este trabajo, se describe la existencia de linfocitos de igual fenotipo y de origen embrionario en la médula ósea adulta, donde han sido caracterizados como progenitores de células B1, así como en el bazo. Estos últimos linfocitos no se corresponden por su fenotipo ni localización topográfica con otras subpoblaciones B esplénicas: células foliculares, marginales (MZ), o transicionales, ni con linfocitos B1. Además, estas células se diferencian espontáneamente dando un elevado número de células secretoras de inmunoglobulinas de isotipos IgG e IgA, desde los 15 días de vida. Con el objetivo de evaluar la homeostasis de esta población linfoide en el bazo adulto, se ha analizado su proliferación y el mantenimiento in vivo mediante la incorporación de bromodeoxi-uridina (BrdU) y su transferencia adoptiva a animales inmunodeficientes RAG2/γKO. Los resultados de proliferación y supervivencia muestran que hasta un 50% de los linfocitos esplénicos CD19<sup>+</sup>B220/CD45R<sup>-</sup> incorporan BrdU, y que aproximadamente un 20% de estas células tiene una vida media de hasta 40 días (experimentos de pulso y caza de BrdU). Al inyectar los linfocitos esplénicos CD19<sup>+</sup>B220/CD45R<sup>-</sup> en huéspedes inmunodeficientes RAG2/γKO, se observó que las células se expanden en el bazo de estos animales, alcanzando su máximo en 2 meses, momento a partir del cual decaen progresivamente, hasta desaparecer prácticamente a los 3,5 meses. Las células transferidas mantienen su fenotipo y su capacidad de secretar inmunoglobulinas (Ig G e IgA) espontáneamente. El repertorio basal de reordenamientos VDJ de secuencias de la cadena pesada de las inmunoglobulinas obtenidas a partir de cADN de linfocitos esplénicos CD19<sup>+</sup>B220/CD45R<sup>-</sup> muestra que, no sólo se produce el mecanismo de cambio de isotipo, sino que además estas secuencias también presentan mutaciones somáticas en su repertorio. En conclusión, el trabajo muestra la identificación de una nueva subpoblación pseudoinnata de linfocitos B esplénicos CD19<sup>+</sup>B220/CD45R<sup>-</sup> con características diferenciales de otras subpoblaciones B previamente descritas, como son las células MZ, las transicionales y las B1.

También en el área de desarrollo hematopoyético, la Prof.<sup>a</sup> María Luisa Toribio del Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CSIC-UAM) presentó los estudios de su grupo sobre la función de las células dendríticas plasmacitoides (pDC) residentes en el timo humano en la generación de células T reguladoras naturales (nTregs). Es un hecho conocido que las nTregs son esenciales para el establecimiento de la tolerancia inmunológica y la prevención de autoinmunidad. Sin embargo, el origen de las nTregs y los mecanismos implicados en su diferenciación en el timo son desconocidos, especialmente en humanos. Recientemente, se ha descrito la función de las células dendríticas convencionales (cDC) residentes en el timo humano en la generación de Tregs alogénicas, pero la función tolerogénica del otro subtipo mayoritario de DC intratímicas, las DC plasmacitoides (pDC), no ha sido analizada. El trabajo presentado demuestra la capacidad tolerogénica de las pDC humanas intratímicas e indica que las pDC generan eficientemente CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> nTregs a partir de timocitos autólogos cuando se activan en respuesta al ligando de CD40 (CD40L) e interleucina (IL) 3 (IL-3). El estudio muestra, además, que los progenitores de las nTregs se incluyen selectivamente en una población de timocitos CD4<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> doble positivos (DP) caracterizados por la elevada expresión del antígeno de activación CD69 y del TCR (CD69hi TCRhi), lo que indica que estas células acaban de experimentar el proceso de selección positiva. Estudios funcionales del grupo han permitido establecer la implicación de vía de señalización CD40-CD40L en la generación de nTregs mediada por las pDC, ya que los progenitores DP CD69hi TCRhi transcriben CD40L in vivo y expresan la proteína en la membrana tras su activación a través del TCR, induciendo a su vez la activación de las pDC. La relevancia fisiológica de estos datos queda avalada por estudios in situ que muestran la colocalización de pDC y nTregs en la región medular del timo humano. Finalmente, se señala que las nTregs inducidas por pDC o cDC representan dos subtipos con patrones recíprocos de producción de IL-10 y TGFβ, lo que corrobora la diversidad funcional de las nTregs humanas y establece una función tolerogénica no redundante de las pDC y cDC residentes en el timo humano (Martín-Gayo et al. Blood. 2010).

El Dr. Juan José Rodríguez Molina del Servicio de Inmunología Clínica, dirigido por el Dr. Eduardo Fernández-Cruz del HGUGM, presentó un estudio sobre el diagnóstico, el pronóstico y el seguimiento de gammopatías monoclonales. La cuantificación in vitro del componente monoclonal (CM) en muestras séricas con presencia de paraproteínas es una de las herramientas más importantes y valiosas para el diagnóstico, la estadificación, la estratificación del riesgo y el seguimiento de la respuesta terapéutica en mieloma múltiple y otras gammopatías monoclonales. El CM constituye un "marcador tumoral" cuya cuantificación es de gran relevancia en estas afecciones. El Grupo Internacional de Trabajo en Mieloma ha establecido que el CM debe cuantificarse preferentemente mediante densitometría en los espectros electroforéticos (SPE) de las proteínas séricas, empleando métodos homogéneos en cada paciente en las distintas fases de la enfermedad (Durie et al. Leukemia. 2006). Los procedimientos para la cuantificación de CM pueden presentar limitaciones técnicas debido a diversos fac-

tores: a) sensibilidad de los procedimientos electroforéticos habituales; b) solapamiento en el SPE de los CM y policlonal de las inmunoglobulinas séricas; c) disparidad de criterios para delimitación del CM en el SPE, y d) dificultades de estandarización de la cuantificación de las proteínas totales en suero, parámetro frecuentemente utilizado como referencia para la expresión de la cuantificación del CM en unidades básicas. En el área de inmunoquímica de este centro se ha desarrollado una metodología para la cuantificación de CM con migración en la región gamma del SPE que incluye los siguientes aspectos: a) separación electroforética de las proteínas séricas en un equipo V8, un nuevo sistema automatizado de electroforesis capilar clínica desarrollado por Helena Biosciences Europe; b) seguimiento de la migración de las proteínas séricas por absorción directa de luz ultravioleta a 214 nm; c) delimitación en el SPE del porcentaje de CM mediante el software Platinum 4V, con aplicación del procedimiento "Skimmed" que facilita la diferenciación de los CM y policlonal de las inmunoglobulinas, y d) expresión de la cuantificación del CM en unidades básicas por referencia al porcentaje de albúmina en el SPE y de la cuantificación de albúmina por nefelometría, que es un parámetro estandarizado por la Federación Internacional de Química Clínica para la cuantificación en el laboratorio clínico. En la estandarización de este procedimiento, se ha seguido la metodología previamente descrita para la cuantificación de CM en un equipo de electroforesis capilar Paragón CZE-2000 (Tejera-Alhambra et al. Proceedings 2<sup>nd</sup> European Congress of Immunology. 2009). La validación del método de cuantificación de CM ha incluido evaluación de la sensibilidad mediante cuantificación de CM en diluciones seriadas de una paraproteína IgG- $\lambda$ , con actividad crioglobulina, con una mezcla de sueros humanos normales, lo que permite alcanzar un límite de detección de 0,2 g/l. También se ha evaluado la linealidad y el rango analítico, mediante ensayos de cuantificación de CM en diluciones seriadas de dos paraproteínas, IgG- $\kappa$  e IgG- $\lambda$ , con una mezcla de sueros normales. Los resultados obtenidos en este estudio muestran una alta linealidad ( $R^2 > 0,99$ ), en un rango analítico de 0,22-80,00 g/l, con coeficiente de variación  $< 5\%$ . Finalmente, se mostraron los datos de un estudio de correlación de la cuantificación de CM mediante los procedimientos basados en las plataformas V8 y Paragón CZE-2000, en los que se analizaban en paralelo muestras de 105 pacientes con paraproteína con resultados muy concordantes. El estudio concluye que la cuantificación de CM mediante electroforesis capilar clínica, usando un equipo V8 y con referencia a los niveles séricos de albúmina, es un método sensible, reproducible, con buena linealidad y con un amplio rango analítico, que permite el seguimiento de pacientes con mieloma múltiple y otras afecciones asociadas, en las distintas fases de la enfermedad.

El Dr. Rubén Martínez-Barricarte, del grupo dirigido por el Prof. Santiago Rodríguez de Córdoba del Centro de Investigaciones Biológicas del CSIC, Centro de Investigación Biomédica en Enfermedades Raras e Instituto Reina Sofía de Investigaciones Nefrológicas, presentó un estudio que demuestra que las mutaciones en C3 asociadas con enfermedad renal ayudan a profundizar en el conocimiento de la activación y la regulación de la vía alternativa del complemento. La enfer-

medad por depósitos densos (DDD) es una enfermedad renal muy grave, caracterizada por hiper celularidad mesangial y presencia de depósitos electro densos en la membrana basal glomerular. Anteriormente, esta afección se había asociado con deficiencias en factor H (fH), un regulador plasmático de la vía alternativa (AP) del complemento. Estudios animales han demostrado que la falta de fH produce un exceso de activación del complemento que consume por completo el factor 3 de complemento (C3) circulante produciendo DDD. En el estudio presentado se describe una familia de DDD única, en la que la afección segrega con una delección de 2 aminoácidos en C3 (C3<sub>923ADG</sub>). Este C3 mutante es el predominante en el plasma de los pacientes debido a que no es activado a C3b por la convertasa de C3 de la vía alternativa del complemento. Sin embargo, cuando C3<sub>923ADG</sub> se activa espontáneamente, es capaz de formar una convertasa activa que consume el C3 salvaje. La convertasa mutante es eficazmente disociada por el regulador de superficie DAF (factor acelerador del consumo) mientras que es resistente a la disociación por fH. Igualmente, las formas activas de C3<sub>923ADG</sub> son eficientemente inactivadas por proteólisis con factor I con el regulador de membrana MCP (proteína cofactora de membrana) como cofactor, pero son resistentes a esta proteólisis en presencia de fH. Estos resultados ponen al descubierto datos muy importantes respecto a la patogénesis de DDD y la regulación del complemento. En primer lugar, demuestran que DDD en esta familia se da por una desregulación de la AP del complemento únicamente en fase fluida, que se ve continuamente activado consumiendo el C3 salvaje de los pacientes. Por otra parte, nos muestra que los reguladores de superficie (MCP y DAF) tienen distintos requerimientos estructurales para su acción con respecto a fH, haciendo este dato de especial interés para el posible desarrollo de fármacos. Por último, esta mutación profundiza en el conocimiento que se tiene de la activación de la vía alternativa del complemento.

El Dr. Ignacio Moneo, jefe del Servicio de Inmunología del Hospital Carlos III, presentó los resultados de su grupo sobre la respuesta inmunológica frente al parásito *Anisakis simples*. El parásito de mamíferos marinos *A. simples* utiliza como hospedador intermediario pescado o cefalópodos. El ser humano puede entrar accidentalmente en el ciclo al ingerir larvas en estadio 3 (L3) por consumo de pescado crudo o insuficientemente calentado. Esta parasitación accidental no permite a la larva continuar su ciclo, pero supone la puesta en marcha de una respuesta inmune dirigida contra antígenos del parásito. Aunque pueda pensarse que es de reciente conocimiento, la realidad es que en 1950 Ishikura ya describió el primer caso de un paciente que presentaba una ileítis terminal aguda con extenso infiltrado inflamatorio. La respuesta inmunológica más conocida consiste en la producción de anticuerpos específicos de la clase IgE, con la elevación del título tanto del valor de IgE total como específica en suero, y la aparición de manifestaciones alérgicas de gravedad variable en las posteriores exposiciones a antígenos del parásito, especialmente tras nuevas reparasitaciones. En el estudio de posibles alérgenos de *Anisakis* se ha producido un rápido avance, y hasta el momento se conocen 10 proteínas con capacidad de producir respuesta IgE (<http://www.allergen.org>). Por ello, hoy es posible trasladar estos resultados de investigación a la práctica

asistencial. En el Servicio de Inmunología del Hospital Carlos III, el estudio de pacientes sensibilizados se realiza mediante la detección por Western blot de IgE específica contra fracciones nativas purificadas, así como contra 5 alérgenos recombinantes producidos en el laboratorio del Dr. Moneo, correspondientes a los alérgenos de mayor interés clínico. Mediante este tipo de aproximación diagnóstica, se eliminan muchos falsos positivos debidos a reacciones cruzadas, parcialmente conocidas en este momento. La respuesta IgE parece tan predominante en humanos que, en una simplificación exagerada, se ha llegado a considerar como la única respuesta inmune contra este parásito. Sin embargo, recientemente Matsuo et al (World J Gastroenterol. 2006;12:4106-8) describen las lesiones necróticas que se encuentran en intestino delgado de pacientes, algo que excede la clásica respuesta de hipersensibilidad tipo I. Posteriormente, Ventura et al comunican que, en un porcentaje elevado de pacientes, es posible obtener una respuesta cutánea retardada (J Investig Allergol Clin Immunol. 2008;18:253-9), lo que también ha observado el grupo del Dr. Moneo, que ha encontrado una serie de pacientes con afectación intestinal que son grandes productores de interferón gamma in vitro (González-Muñoz M et al. Parasite Immunol. 2010;32:67-73), al contrario del resto de pacientes estudiados cuyo perfil correspondía al clásico de una respuesta Th2. Estos datos son apoyados por un reciente trabajo que demuestra que los pacientes con sensibilización a *Anisakis* tienen una alteración de la permeabilidad intestinal tanto mayor cuanto más grave es la sintomatología y que mejora tras dieta (Polimeno et al. Foodborne Pathog Dis. 2010;7:809-14). Las conclusiones del estudio son: a) la relevancia clínica de la sensibilización debe estudiarse mediante el uso de alérgenos recombinantes y fracciones purificadas para descartar los falsos positivos, no resultando suficiente en muchos casos la medida del título de anticuerpos, y b) la existencia de enfermedad inducida por otros mecanismos inmunes independientes de la respuesta mediada por IgE puede tener mayor importancia de la sospechada inicialmente.

La presentación de la Dra. Paloma Sánchez-Mateos, del Laboratorio de Inmuno-Oncología del HGUGM, trató sobre la diferenciación de los macrófagos en el microambiente tumoral. En su revisión "The Hallmarks of Cancer", Hanahan y Weinberg (Cell. 2000) describieron las 6 características de la transformación neoplásica: a) el potencial replicativo ilimitado; b) la autosuficiencia de los factores de crecimiento; c) la insensibilidad a las señales inhibitorias; d) la angiogénesis; e) la evasión de los mecanismos de muerte programada, y f) la capacidad de invadir y metastatizar otros tejidos. En esta revisión se puso de manifiesto una visión integral del cáncer que contempla que los tumores son tejidos complejos, en los cuales las células tumorales mutadas subvierten la función de las células normales y se sirven de ellas como colaboradores activos de la progresión neoplásica. El microambiente tumoral se define como las células no tumorales, los componentes de la matriz extracelular, los factores de crecimiento, las proteasas, e incluso el oxígeno y los metabolitos tisulares. Los tumores sólidos contienen varios tipos celulares diferentes, además de las células tumorales, incluidos fibroblastos, linfocitos, células dendríticas, macrófagos y otras células mieloides. El micro-

ambiente inflamatorio se considera actualmente la séptima característica del cáncer. Los macrófagos asociados a tumor son elementos claves en la conexión del cáncer con la inflamación, participan en varias funciones (p. ej., promueven el crecimiento tumoral y la angiogénesis, remodelan la matriz extracelular, reprimen la inmunidad adaptativa) y producen un gran impacto en la progresión de la enfermedad. Los macrófagos muestran una gran plasticidad funcional y se adaptan a las condiciones del microambiente, polarizándose hacia macrófagos M1 en respuesta a estímulos proinflamatorios o M2 en respuesta a factores antiinflamatorios. Los macrófagos asociados a tumor están habitualmente polarizados en la dirección M2. El grupo de la Dra. Sánchez-Mateos ha estudiado la diferenciación de monocitos humanos a macrófagos en presencia de la quimiocina CXCL12, que se expresa en grandes cantidades en el microambiente tumoral. La primera aproximación fue estudiar la expresión de los receptores de esta quimiocina, CXCR4 y CXCR7, en monocitos humanos. La expresión y la función de CXCR4 ya se conocían, pero la función de CXCR7 en leucocitos ha sido muy discutida. Los datos presentados demuestran que ambos receptores se expresan en monocitos de sangre periférica, aunque CXCR7 es fundamentalmente intracelular. Inhibidores específicos de ambos receptores, CXCR4 y CXCR7, tienen un efecto bloqueador parcial de la migración de monocitos. Usando CXCL12 y los bloqueadores de ambos receptores CXCR4 y CXCR7, se analizó la expresión de un grupo de genes relacionados con la polarización M1/M2 de los macrófagos. Entre los genes regulados por CXCL12 se encuentran M-CSF, VEGF y CCL1. Además, el estudio demuestra que la diferenciación de monocitos hacia macrófagos en presencia de CXCL12 aumenta la secreción de factores proangiogénicos, como VEGF y la quimiocina CCL1. Por otra parte, las células dendríticas diferenciadas en presencia de CXCL12 presentan un fenotipo comparable al de las células control, pero una menor capacidad de estimular las respuestas específicas del antígeno de los linfocitos T. Finalmente, el estudio indica que CXCL12 inhibe la expresión del factor de transcripción RUNX3 y demuestra que este factor de transcripción regula la expresión de CD4 y CD14 en los macrófagos humanos (Sanchez-Martín et al. Blood. 2010).

El Dr. José Manuel Martín Villa, del Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid, presentó un estudio sobre el análisis del gen CARD15 y autoanticuerpos anticristalina en uveítis idiopática. El gen CARD15 (*Caspase Recruitment Domain 15*) está localizado en el cromosoma 16 (16q12), y codifica para una proteína citosólica denominada Nod2 (*Nucleotide oligomerization domain 2*). Esta proteína está implicada en la detección intracelular de componentes bacterianos, fundamentalmente muramildipéptido (MDP) y, funcionalmente, consta de varios dominios: dos dominios CARD en el extremo aminoterminal, un dominio central NOD (*nucleotide oligomerization domain*) y 10 dominios ricos en repeticiones de leucina (LRR, del inglés *leucine rich repeats*) en el extremo carboxiterminal. Los dominios LRR están implicados en la interacción con el patógeno, mientras que los dominios CARD se encargan de señalización intracelular, activando al factor NF- $\kappa$ B y mecanismos de apoptosis. Se han descrito diferentes mutaciones en el gen como facto-

res de susceptibilidad a presentar afecciones inflamatorias. Así, tres mutaciones en el dominio LRR (R702W, G908R y un codón de stop en la posición 1007; 1007fs) están implicados en la enfermedad de Crohn, mientras que otras tres mutaciones en el dominio NOD (R334W, R334Q y L469F) están implicadas en la aparición del síndrome de Blau. Ambos tipos de afección inflamatoria tienen en común la posibilidad de experimentar, en un grado u otro, uveítis. Con estos antecedentes, el grupo se propuso analizar estas mutaciones en una serie de pacientes con uveítis idiopática, una enfermedad ocular inflamatoria. Se obtuvieron muestras de 111 pacientes con uveítis idiopática, clasificados en anterior, intermedia o posterior, en función de la localización anatómica de la inflamación, y 105 individuos sanos, usados como población control. Se aisló ADN de estas muestras y se procedió a analizar las mutaciones antes descritas mediante PCR-RFLP (R334W; R334Q), ensayos TaqMan (L469F; R702W; G908R) o secuenciación (1007fs). Además, se secuenció también el exón 11 y los intrones 5' y 3' adyacentes. Por último, se obtuvo suero de 11 pacientes y 11 individuos controles adicionales para la puesta a punto de una técnica de detección de anticuerpos anticristalino. Las frecuencias obtenidas para los diferentes polimorfismos estudiados no revelaron ninguna diferencia significativa al comparar al grupo de pacientes con el grupo control ( $p > 0,05$  en todos los casos), ya fuera al realizar el estudio en el conjunto total de pacientes o en los grupos de pacientes con uveítis anterior, intermedia o posterior. Además, el estudio describe por primera vez dos polimorfismos intrónicos que aparecen de manera simultánea en las regiones 5' (posición 128723) y 3' (posición 128493) adyacentes al exón 11. Estos resultados muestran que ninguna de las mutaciones ligadas a enfermedad de Crohn o síndrome de Blau está implicada en la patogénesis de las uveítis idiopáticas, lo que indica una diferente etiología genética en esta afección. Además, los resultados del grupo (Rodríguez Pérez. Dis Markers. 2008 y Dis Markers. 2009), junto con otros publicados en la bibliografía, permiten sugerir que las mutaciones de CARD15 descritas hasta ahora puedan estar implicadas en la formación de granulomas, más que en la susceptibilidad a presentar afecciones inflamatorias. Por último, y en lo que respecta a los anticuerpos anticristalino, se describe la puesta a punto de un método de detección, en el que por primera vez se utiliza antígeno recombinante humano, y se encuentra la presencia de estos anticuerpos en un 30% de los pacientes y un 10% de la población sana, si bien los resultados no son concluyentes, dado el pequeño tamaño de la muestra.

La Dra. Susana Infantes, del grupo del Dr. Daniel López, de la Unidad de Proteómica y Unidad de Procesamiento Antigénico del Centro Nacional de Microbiología del ISCIII, presentó un trabajo realizado en colaboración con el grupo de la Dra. Margarita del Val de la Unidad de Inmunología Viral del ISCIII y del Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CSIC-UAM), en el que se estudia el mecanismo molecular de acción de la aminopeptidasa asociada con procesamiento antigénico (ERAAP). Esta enzima es capaz de recortar extremos aminoterminales protuberantes de los precursores peptídicos transportados al lumen del retículo endoplásmico (RE). En la actualidad se han propuesto dos modelos diferentes y mutuamente excluyentes para explicar el mecanismo de

acción de esta enzima. El primero, denominado mecanismo de la regla molecular, propone la unión a la enzima de sustratos de entre 9 y 16 aa de longitud mediante los extremos amino y carboxilo de estos péptidos. La cadena lateral del residuo C-terminal podría interactuar con una cavidad hidrofóbica alejada del sitio activo de la enzima; de este modo, los residuos N-terminales quedarían accesibles al sitio activo y la enzima los recortaría de manera no procesiva. Estos péptidos recortados posteriormente podrían unirse a las moléculas de clase I residentes en el RE. El segundo o modelo del molde indica que los péptidos con un motivo de anclaje adecuado a un determinado MHC, pero que todavía son demasiado largos en su extremo N-terminal, podrían unirse a estas moléculas de clase I y entonces quedarían accesibles a ERAAP para recortarlas hasta el tamaño del epítipo mínimo adecuado. En el presente estudio, se ha utilizado el ligando natural de MHC de clase I más largo reconocido por CTL para estudiar su cinética de degradación por ERAAP. Este sustrato es eficientemente recortado por la enzima para producir un nonámero que presenta los motivos de anclaje canónicos para su unión a la molécula presentadora, y que coincide con el ligando natural mínimo identificado previamente en células infectadas. Por el contrario, los 6 aminoácidos extendidos en el extremo N-terminal, que se ubican fuera del sitio de unión antigénico de las moléculas de MHC de clase I cuando el complejo MHC-péptido se encuentra formado, no fueron recortados por la enzima. Este resultado indica que ERAAP no puede actuar en el ligando viral cuando el complejo MHC-péptido está completamente formado, y por lo tanto entra en contradicción con el modelo del molde previamente propuesto.

La Dra. Juana Gil Herrera, de la Unidad de Inmunología Clínica del HGUGM, presentó un trabajo sobre las claves moleculares para el diagnóstico y la inmunoterapia de la linfocitosis hemofagocítica familiar (FHL). La FHL es una enfermedad rara e infradiagnosticada, con curso clínico muy grave y pronóstico fatal sin tratamiento. Se trata de un síndrome de hiperactivación del sistema inmune con aumento de IFN- $\gamma$ , IL-6, TNF, IL-18 e infiltración de órganos y tejidos vitales por los linfocitos e histiocitos activados. El síndrome puede presentarse de forma primaria o familiar durante la primera infancia, o bien en edades más tardías, y esporádicamente en las formas denominadas secundarias. La FHL es genéticamente heterogénea, se trata de enfermedades por defectos en genes que codifican importantes moléculas relacionadas con la maquinaria linfocitotóxica, como PRF1, UNC13D, MUNC18-2, STX11, SH2D1A, BIC4, LYST, RAB27a y APB1, y que afectan aproximadamente a 1 de cada 50.000 nacimientos. Hasta el momento no se han encontrado defectos en granzimas, debido probablemente a la redundancia funcional que presentan estas moléculas. El síndrome suele desencadenarse como consecuencia de una infección. Llegar al diagnóstico es con frecuencia difícil, dado que los signos y síntomas pueden aparecer en el contexto de las respuestas inmunológicas habituales frente a los microorganismos patógenos. La persistencia de fiebre con progresión de las organomegalias, las citopenias y alteraciones en otros parámetros de laboratorio (elevación de ferritina, triglicéridos y transaminasas, etc.) deben conducir a la sospecha de una respuesta inmune anormal y/o

de un cuadro de FHL. Una vez establecida la sospecha clínica, la agilidad es fundamental en el manejo clínico de la FHL. Sin tratamiento, los signos y los síntomas clínicos (fiebre elevada, irritabilidad, dolor generalizado, edema, hepatosplenomegalia, citopenias) conducen a la muerte en un 95% de los casos primarios y en el 50% de los casos secundarios. El diagnóstico está basado en: a) evidencia de historia familiar o de un diagnóstico molecular específico de FHL, o bien en b) la reunión de al menos 5 entre los 8 criterios siguientes: a) fiebre; b) esplenomegalia; c) citopenia en dos o más series con Hb menor de 9 g/dl o menor de 10 g/dl en pacientes con menos de 4 semanas de edad, trombopenia menor de 100.000/ $\mu$ l y/o neutropenia menor de 1.000/ $\mu$ l; d) hipertrigliceridemia mayor de 265 mg/dl y/o hipofibrinogenemia menor de 1,5 g/l; e) hemofagocitosis sin evidencia de malignidad; f) actividad NK baja o ausente; g) niveles de ferritina mayores de 500  $\mu$ g/l, y h) niveles de CD25 soluble mayores de 2.400 U/ml. El diagnóstico inmunológico y genético se realiza en laboratorios altamente especializados y con capacidad para absorber los casos dispersos a nivel nacional. Es necesario realizar un esfuerzo para la correcta identificación de los casos y la aplicación del protocolo inmunoquimioterapéutico HLH-2004 (esteroides, CyA, VP-16, GGIV) seguida de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (HSCT) en las formas familiares de la enfermedad. Con el objetivo de disminuir la toxicidad del protocolo HLH-2004, se han utilizado otras estrategias inmunodepresoras, incluida la globulina antitimocítica. Además, dado el papel fundamental del IFN- $\gamma$  en la patogenia de la FHL y la eficacia del bloqueo de esta citocina en modelos experimentales, la utilización de anticuerpos anti-IFN- $\gamma$  humano (enfocada a aumentar la cantidad de la remisiones previas al HSCT) constituye una aproximación terapéutica muy prometedora para la práctica clínica.

La sesión se cerró con la presentación del Dr. Antonio Arnaiz Villena, del Servicio de Inmunología del Centro de Transfusión de la CM y del Departamento de Microbiología e Inmunología de la Universidad Complutense de Madrid, sobre la evolución de MHC-C y los receptores KIR. El análisis de la evolución en la naturaleza durante millones de años de modelos moleculares nos ofrece muchas veces información más segura que los experimentos desarrollados en laboratorio. Éste es el caso de los receptores KIR en relación con las moléculas MHC-C. El estímulo de las moléculas HLA-C es uno de los inhibitorios más fuertes para las células NK a través de sus ligandos KIR: se ha creído que MHC-C es una clase de genes que han aparecido en algunos orangutanes, pero no en todos, en la línea evolutiva de primates. En el hombre coexisten claramente genes MHC-C y KIR; también en chimpancés, separados de la línea humana hace unos 5 millones de años. Lo mismo ocurre en gorilas, que se separaron de la línea evolutiva humana hace unos 10 millones de años. Sin embargo, estudiando a orangutanes, se han encontrado moléculas HLA-C en algunos, pero no en todos los individuos, con lo que se postula que la aparición de genes MHC-C habría ocurrido en esta especie, que divergió hace unos 15 millones de años; todos los orangutanes tienen moléculas KIR. Los monos de mediano tamaño de África y Eurasia, que se separaron de la línea evolutiva humana hace 25 millones de años, muestran receptores KIR, pero no se han

encontrado moléculas MHC-C en ellos. Sin embargo, el grupo del Dr. Arnaiz ha descrito secuencias ADN tanto de KIR, como de dos alelos de MHC-C en los monos pequeños del Nuevo Mundo (americanos), que divergieron hace unos 50 millones de años en la línea de primates. Como funcionalmente MHC-C y KIR son muy importantes para el metabolismo de las células NK a través de los receptores inhibitorios, la conclusión del estudio presentado es que es muy probable que la falta de detección de MHC-C en algunos orangutanes y en macacos se deba a problemas técnicos y que, en realidad, sí que coexisten en estas especies KIR y MHC-C.

Antes de finalizar la jornada, se realizó la Asamblea de la Sociedad de Inmunología de la Comunidad de Madrid, en la que se renovaron las vocalías vacantes y se votaron y aprobaron enmiendas a los estatutos. La jornada se llevó a cabo gracias al esfuerzo de generosidad económica de los socios protectores de nuestra Sociedad (Grifols, Octapharma, CSL Behring, Binding Site, Becton Dickinson, Izasa y BAXTER).

**Anexo - Notas de la Sociedad Española de Inmunología (SEI) al Congreso de la Sociedad de Inmunología de la Comunidad Autónoma de Madrid (SICAM). Leídas en el acto por la Prof.<sup>a</sup> Dolores Jaraquemada, presidenta de la SEI.**

1. Comentarios de la mesa redonda:

- a) Se ha creado una comisión de la SEI para incidir en la discusión sobre la troncalidad y recoger la opinión de los miembros de la SEI que están involucrados en la implementación de la ley, esto es, los jefes de servicios de Inmunología (docentes) y los tutores de residentes.
- b) La comisión incluye a miembros que lo son a su vez de la Comisión Nacional de la Especialidad de Inmunología, y se ha mantenido en contacto con el presidente de esta comisión.
- c) Hay que señalar que las conclusiones que se mencionan aquí están avaladas por 17 de los 24 jefes de servicios (docentes) de Inmunología. De los 5 restantes, dos están de acuerdo con la propuesta y los otros tres aún no han manifestado su postura, vista la situación actual del proceso.
- d) También están avaladas por 19 de los 23 tutores de residentes de estos servicios. Los 4 restantes aún no se han manifestado.

2. La propuesta de la SEI se limita de momento a no aceptar el modelo propuesto, ya que considera que contiene un defecto de diseño. La SEI considera que el perfil de la especialidad de Inmunología no se puede integrar en su totalidad en un tronco de laboratorio.
3. Se reclama pues que el Ministerio rectifique y diseñe un modelo que permita el desarrollo pleno de la especialidad. Lo primero que se reclama es *redenominar* el tronco, convirtiéndolo en un tronco interdisciplinario en el que se considere el desarrollo de la especialidad en el aspecto de:

- a) El laboratorio.
- b) La clínica.
- c) El manejo, el control y la optimización de los tratamientos inmunomoduladores.

4. Se reclama que se tenga en cuenta la opinión unánime de los profesionales que estarán encargados de llevar a cabo el desarrollo de la nueva normativa.