

Subconjuntos de células T efectoras y reguladoras en la autoinmunidad y la inflamación tisular

Resumen

Muchas enfermedades autoinmunes son impulsadas por las células T ayudantes autorreactivas. Hasta hace poco, las enfermedades autoinmunes órgano-específicas se consideraban básicamente por células Th1 pero no células Th2. Sin embargo, el descubrimiento de una serie de nuevos efectores del subconjunto de células T, como las células Th17 y Th9, y las células T reguladoras, como Tregs y Tr1, ha cambiado la manera de ver y entender la autoinmunidad en los niveles celulares y moleculares. En los últimos años, IL-17 que produce las células Th17 ha adquirido gran importancia en la autoinmunidad. La complicada relación entre las células Th1 y Th17, así como el intrincado equilibrio entre Tregs y las células Th17, proporciona una base para la comprensión de los mecanismos inmunológicos que inducen y regulan la autoinmunidad. Aquí damos una visión general de la interacción entre los distintos efectores subconjunto de células T y células T reguladoras, y cómo contribuyen al desarrollo de la autoinmunidad y la inflamación del tejido.

Introducción

El sistema inmune se ha desarrollado para defender al cuerpo contra un gran número de patógenos en constante evolución, incluyendo bacterias, virus y parásitos. Esta enorme tarea requiere que las células inmunes con un casi ilimitado repertorio de receptores para garantizar que los patógenos invasores sean reconocidos. El reconocimiento del receptor antígeno-específico en los linfocitos conduce a la expansión clonal de linfocitos específicos del patógeno, que directa o indirectamente borran al patógeno invasor. Un prerrequisito crucial para este proceso es la capacidad del sistema inmune para distinguir lo propio de lo no-propio. Debido a que los receptores se generan en un proceso aleatorio, las células con receptores de reacción espontánea, deben solucionar problemas por mecanismos de tolerancia a lo propio. Las células autoinmunes reactivas logran escapar de estos mecanismos y pueden plantear una amenaza grave para la salud, ya que pueden llevar al desarrollo de la autoinmunidad. En función del perfil de expresión de los antígenos, las células autorreactivas pueden inducir enfermedades autoinmunes órgano-específicas o sistémicas. La diabetes tipo I es un ejemplo de autoinmunidad órgano-específica, ya que sólo las células productoras de insulina b del páncreas son el blanco de los linfocitos autorreactivos, resultando en la destrucción de los islotes b dentro del páncreas y la pérdida de producción de insulina. Sin embargo, en enfermedades autoinmunes como el Lupus eritematoso, el auto-antígeno está presente en todo el cuerpo y conduce a la inflamación y daño tisular en múltiples órganos terminales. La patogénesis autoinmune a menudo implica que los linfocitos T colaboradores reaccionan espontáneamente, cuyos mecanismos incluyen el efector de producción de citoquinas pro-inflamatorias que inician la inflamación y también proporcionan ayuda a las células T autorreactivas y las células B. Tras la expansión y maduración de las células B autorreactivas lleva entonces a la producción de autoanticuerpos, que contribuyen aún más a la inflamación del tejido y el daño tisular. La capacidad de las células T autorreactivas para inducir autoinmunidad y la

inflamación de los tejidos está dictada no sólo por su especificidad para el auto-antígeno también por sus funciones efectoras. Después de la interacción con antígenos autoreactivos o reactivos de forma cruzada, se activan las células T ayudantes, se expanden y diferencian en varios subconjuntos. Dependiendo de las citoquinas que producen, estos subconjuntos de células T tienen muy diferentes propiedades. Así, las células T ayudantes incluyen los subconjuntos de efectores bien definidos tipo Th1 y Th2, y también los descritos recientemente Th17 y Th9, además de los reguladores Treg y Tr1. ¿Cómo estos subconjuntos diferentes de células T pueden inducir o regular autoinmunidad. Se trata en este artículo usando el modelo animal para el humano, la esclerosis múltiple (EM), la encefalomiелitis autoinmune experimental (EAE).

Células Th1

En función de las citoquinas presentes en el medio las células T se diferencian en uno de varios subconjuntos de células T. Tim Mosmann y Bob Coffman [1] definieron por primera vez los subconjuntos Th1 y Th2 de las células T efectoras, de acuerdo con las citocinas que estas células producen. Las células Th1 predominantemente secretan interferón (IFN)- γ y la linfotóxina, que sirve principalmente para activar los macrófagos en el lugar de una inflamación. Las células Th1 son importantes para la defensa del huésped frente a patógenos intracelulares y la inducción de respuestas de hipersensibilidad de tipo retardado. Las respuestas incontroladas Th1 contra los antígenos propios, sin embargo, pueden llevar al desarrollo de la autoinmunidad, y varias líneas de evidencia señalaron que las células Th1 como T efectoras de la célula son las responsables de inducir EAE y, potencialmente, la esclerosis múltiple. Por lo tanto, los primeros estudios mostraron que las células T encefalogénicas tenían un perfil de citoquinas Th1 y en consonancia con esta observación, IFN- γ se detectó en las lesiones del SNC de ratones [2, 3] sometidos a EAE y los seres humanos con esclerosis múltiple [4]. Por otra parte, las células Th1 pueden atraer y activar los macrófagos mediante la producción de citoquinas incluyendo IFN- γ , MIP-1a, MIP-1b y 3-TCA [5], y activar los macrófagos infiltrados en el sistema nervioso central que pueden contribuir a la desmielinización en la EAE y la EM. Además, los clones Th1 específicos para los antígenos de la mielina demostraron inducir EAE en la transferencia adoptiva [5, 6].

Por otra parte, la administración de IFN- γ ha exacerbado signos y síntomas de la enfermedad en pacientes con EM [7]. Estos hallazgos llevaron a la conclusión de que las células Th1 son las principales células efectoras que participan en la autoinmunidad del SNC. Las células Th1 se generan a partir de las células T colaboradoras mediante el bloqueo de TCR y la señalización de STAT1, inducida por la activación del IFN- γ con IFN. La fosforilación de STAT1 induce la expresión del factor de transcripción T-bet, que entonces provoca la diferenciación de Th1 por transactivación de las citocinas IFN- γ y la subunidad específica del receptor para la interleucina (IL) -12, -12Rb2. Así, la célula se convierte en respondedora a IL-12, que es producida por activación de APC, y señalización posterior de IL-12 a través de STAT4 que estabiliza el fenotipo Th1 [8]. Estudios que muestran que los ratones deficientes en los factores de la transcripción Th1 T-bet y STAT4 son resistentes al desarrollo de la EAE [9, 10] y también apoyaron la hipótesis de que Th1 son responsables de la inducción de la enfermedad. Th1 parecía explicar mecanismos histopatológicos y características clínicas, no sólo en la EAE, sino también en otras enfermedades autoinmunes, como la diabetes tipo I y la artritis

reumatoide, las células Th1 se convirtió en el arquetipo inductor de la autoinmunidad órgano-específica.

Células Th2

Mientras que las células Th1 se asocian con la defensa del huésped frente a patógenos intracelulares y autoinmunidad, Th2, por otro lado, tienen muy diferentes funciones efectoras, ya que son esenciales para liquidar a los organismos extracelulares como parásitos y helmintos. Además, las células Th2 también juegan un papel muy importante en la inflamación eosinofílica y la producción de IgE en las reacciones alérgicas y el asma [11, 12]. Estas funciones opuestas de las células Th1 y Th2 se inician en las vías de generación de cualquiera de las células Th1 o Th2. Estas vías de funcionalidad contraregulan una de la otra en varios niveles. La diferenciación de las células T en las células Th2 está impulsada por la activación de células T a través de TCR y receptores de IL-4, que conduce a la fosforilación de STAT6. pSTAT6 es crítico para la inducción del factor de transcripción GATA3 Th2, que a su vez transactiva citocinas Th2 específicas tales como la IL-4, IL-5 e IL-13, mientras que al mismo tiempo, disminuye los factores relacionados con Th1, tales como STAT4 y IL12Rb2-[13]. Además, el factor de transcripción c-maf también contribuye a la diferenciación de Th2 por transactivación de transcripción de la IL-4 [14]. Las citocinas Th2 IL-4 inhibe fuertemente la diferenciación de Th1 y, viceversa, las citocinas Th1- IL-12 e IFN- γ inhiben la diferenciación de Th2. En algunas enfermedades autoinmunes sistémicas, como el lupus eritematoso sistémico, las células Th2 ayudan en la producción de autoanticuerpos proporcionando ayuda a las células autorreactivas B, pero no se considera la fuerza motriz de la patogénesis autoinmune [15]. En la mayoría de las enfermedades autoinmunes órgano-específicas, las células Th2 no están involucradas en la patogénesis.

En consecuencia, ya se demostró en 1993 que los clones de Th2 de la proteína específica básica de la mielina no son capaces de transferir EAE a menos que se transfirieran a un huésped linfopénico [6, 16]. Además, hemos demostrado que las células Th2 específicas para la proteína proteolípídica mielina o para mielina de oligodendrocitos (MOG) tampoco induce EAE a menos que se transfiera a un huésped linfopénico [17, 18]. Más aún, en algunos casos la inducción de una respuesta Th2 o la administración de los citocinas IL-4 durante la inflamación autoinmune en curso pueden ser de valor terapéutico, sobre todo teniendo en cuenta el potencial de las células Th2 para contraregular la generación de las células Th1. Así, el acetato de glatiramero, un fármaco utilizado en el tratamiento de la EM recidivante-remitente, se cree que actúa al menos en parte, mediante la inducción de un cambio de citocinas hacia Th2 [19].

Células Th17

La hipótesis de las células Th1 como único responsable de la inducción de autoinmunidad órgano-específica fue impugnada cuando se demostró que los animales que carecen de las citocinas Th1 de IFN- γ no son resistentes, pero en realidad son más susceptibles a varias enfermedades autoinmunes como la EAE [20], la uveítis autoinmune experimental (EAU) [21] y la artritis inducida por colágeno [22]. Del mismo modo, la pérdida de varias moléculas que participan en la vía de diferenciación

de Th1, incluyendo IFN- γ , STAT-1 y la IL-12p35 lleva a la cadena creciente de la enfermedad autoinmune en los modelos de experimentación de autoinmunidad.

Aunque los ratones deficientes para la cadena IL-12p35 eran más susceptibles a la EAE, sorprendentemente la pérdida de la otra cadena de IL-12, la cadena p40, mostró los ratones más altamente resistentes a la EAE. IL-12 se compone de las subunidades p35 y p40, pero Robert Kastelein demostró que p40 no es sólo esencial para la formación de IL-12, sino que también puede trabajar con otra subunidad llamada p19 y forman así una citoquina nueva que se llama IL-23 [23]. En un estudio piloto, Cua et al. mostraron que la pérdida de la IL-23 hace animales resistentes a la EAE deficientes en p40 y p19, mientras que los animales IL-12-p35-deficientes, que carecen de IL-12 y la respuestas Th1, pero aún podrían formar IL-23, seguían siendo vulnerables a EAE [24, 25]. Estos datos proporcionan la base para la hipótesis de que IL-12 no proporciona autoinmunidad pero IL-23 fue crucial para el desarrollo de autoinmunidad. Se demostró más tarde que la IL-23 puede inducir a un subconjunto único de las células T, que por su producción del efector de citoquinas IL-17 fue nombrado células Th17.

Las células Th17 producen IL-17A y IL-17F, que pertenecen a la misma familia y son parcialmente redundantes en sus funciones efectoras: en la confusión en sus receptores de citoquinas pueden inducir citoquinas pro-inflamatorias como la IL-6, IL-1 y TNF, y quimiocinas proinflamatorias como CXCL1, GCP-2 e IL-8- y promover así la inflamación de los tejidos y el reclutamiento de neutrófilos al sitio de la inflamación [26]. IL-17A e IL-17F promueven la inflamación en varios niveles, como la IL-17RA sus receptores y IL-17RC son expresados como células hematopoyéticas y no hematopoyéticas. Las células Th17 juegan un papel importante en la mediación defensiva del huésped y tienen una función especializada en la limpieza de los patógenos que no son adecuadamente tratados por las células Th1 o Th2, incluyendo bacterias como *Citrobacter*, *Klebsiella pneumoniae* y *Borrelia burgdorferi*, sino también los hongos tales como *Candida albicans* [26]. Debido a un importante papel de la IL-17 en la inducción de inflamación de los tejidos, las Th17 son particularmente aptas para la promoción de la autoinmunidad. En consecuencia, los niveles elevados de IL-17 se han detectado en varias enfermedades autoinmunes incluyendo EM [27], la artritis reumatoide [28] y la psoriasis [29]. Por otra parte, se demostró que la IL-17- neutralizadoras de anticuerpos mejoran EAE [30] y los animales deficientes en IL-17 desarrollan atenuadas la artritis reumatoide y la EAE [31, 32]. Estos estudios demostraron la importancia de las células Th17 en la EAE y otras enfermedades autoinmunes y requiere una nueva evaluación y la función de otras células T efectoras en la inducción de inflamación autoinmune de los tejidos que anteriormente se consideraba impulsada por las células Th1.

Generación y diferenciación de las células Th17

Debido a que IL-23 parecía tener un papel destacado en la expansión de las células T productoras de IL-17 se sugirió inicialmente que la IL-23 puede ser el factor de diferenciación de las células Th17. Sin embargo, como las células T ayudantes no expresan el receptor de la IL-23, se concluyó que otras citoquinas deben ser responsables del inicio de la diferenciación de las células Th17 de las células T ayudantes (Fig. 1).

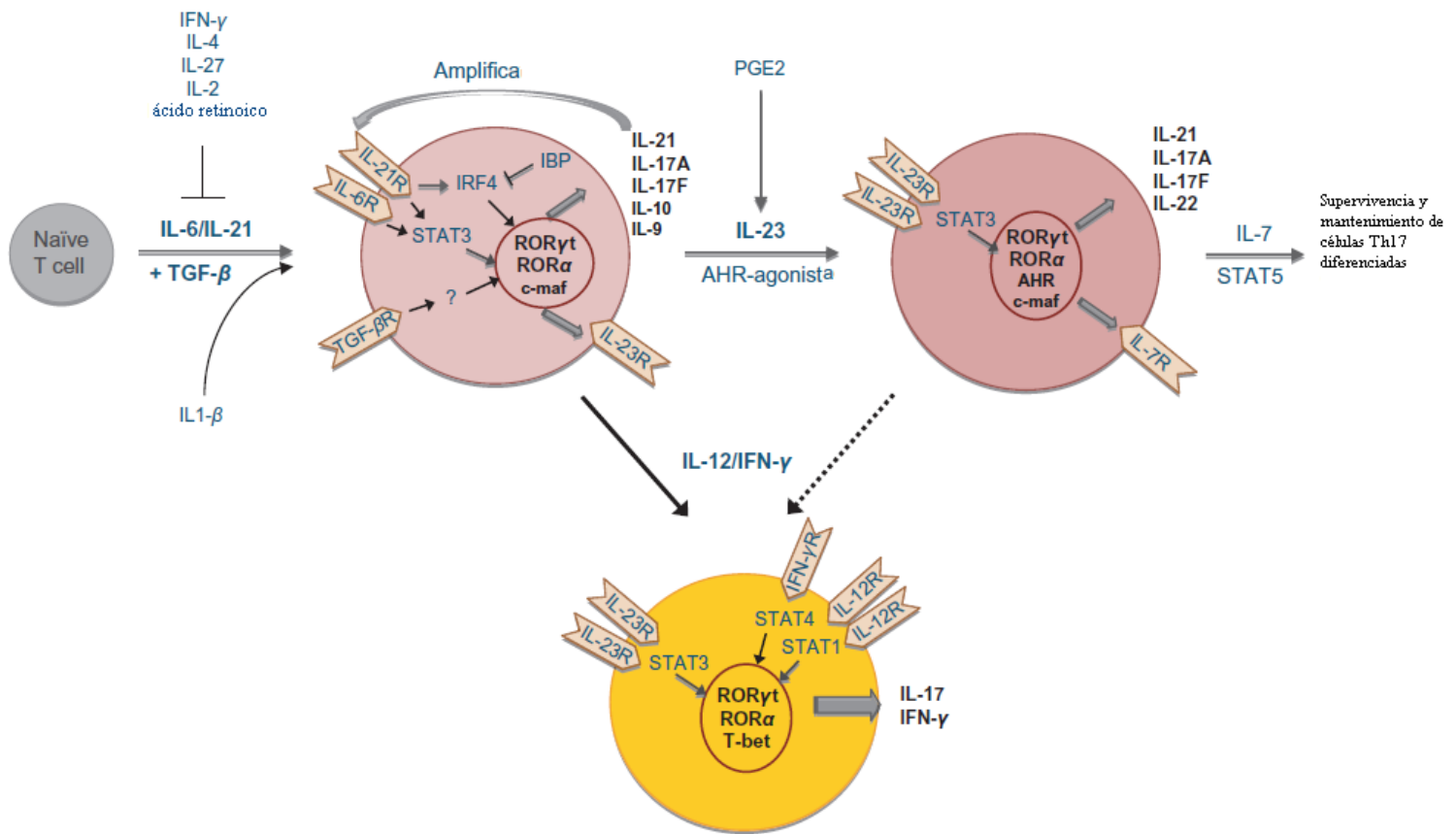


Figura 1. Esquema ilustrando la diferenciación de las células Th17

Posteriormente, se demostró de forma independiente por tres grupos de investigación que la diferenciación de células Th17 es impulsada por la combinación de las citoquinas TGF- β y -6 [33-35]. IL-6 lleva a la señalización por fosforilación de STAT3, que es fundamental para la correcta diferenciación de Th17 [36]. En ausencia de IL-6, la diferenciación de células Th17 también puede ser inducida por el TGF- β más la IL-21 [37-39], pero comparativamente IL-6 es un fuerte conductor de las respuestas Th17. Además, las células Th17 también producen IL-21, que actúa de forma autocrina y para amplificar la diferenciación de las células Th17. Estudios recientes sugieren que la diferenciación y la auto-amplificación de células Th17 por la IL-21 están mediadas a través de IRF4 [40], que a su vez están reguladas por la IRF-proteína [41, 42]. Aparte de los factores anteriormente mencionados, la IL-1 β puede sinergizar con IL-6 para inducir la diferenciación de murinas junto células Th17 [43]. IL-1 β , junto con el TGF- β , IL-6 e IL-21-, ha sido descrito como un factor crítico para la diferenciación de células Th17 humanas [44, 45].

IL-6 y TGF- β conducen en última instancia a la expresión del factor de transcripción ROR γ t, que fue el primero que se describe en las células del tejido linfoide en la producción de IL-17 inductor de las células T en la lámina propia [46-48]. ROR γ t se cree que transactiva muchos componentes esenciales para la diferenciación de las células Th17 incluyendo IL-17A, IL-17F e IL-23R [49]. parte de ROR γ t, la transcripción el factor RORA también está implicado en la diferenciación de Th17, la supresión de cualquiera de ellos afecta parcialmente la diferenciación de Th17, considerando la supresión de los dos factores de transcripción se previene totalmente la generación de células Th17 [50]. Otro factor que interviene en determinados aspectos de la diferenciación de las células Th17 es c-maf. Aunque inicialmente no es obligatorio

para la diferenciación de Th17, se demostró que el c-maf aumenta la producción de IL-21 en células Th17 lo que contribuye a la amplificación de las células Th17 [51]. Aunque c-maf fue descrito inicialmente como un factor de transcripción implicado en la inducción de la diferenciación de IL-4 y Th2, nuestros estudios demuestran que c-maf se expresa con niveles más altos de 100 veces en las células Th17 de las células Th2. Sin embargo, los genes diana de c-maf y la señalización en Th17 necesitan más investigación.

La identificación de factores de transcripción específicos del linaje Th17, junto con la observación de que los factores de transcripción de los otros linajes, como T-bet, GATA-3, STAT1 y STAT6, son prescindibles para la diferenciación de las células Th17 [53-55], siendo las células Th17 un subconjunto de células T independientes. Además los subconjuntos Th1 y Th2 se regulan de forma cruzada entre sí, las células Th1 y Th2 y también parecen regular el desarrollo de las células Th17, tanto el IFN- γ e IL-4 inhibe la diferenciación de células Th17 [53, 54]

El papel de la IL-23 en la generación de células Th17

La diferenciación de las células T ayudantes en las células Th17 depende de TGF- β e IL-6, pero no requiere la IL-23. Sin embargo, tanto IL-23- [25] y los ratones IL-23R-deficientes [56, 57] no puede montar una respuesta significativa Th17 in vivo y son resistentes a EAE y otras enfermedades autoinmunes. Por lo tanto, se concluyó que, aunque las células Th17 pueden ser generadas con IL-6 y TGF- β en ausencia de IL-23, su presencia es esencial para la expansión y el mantenimiento de células Th17. IL-23 es producida por las CPA después de la activación mediante la señalización TLR (especialmente TLR2 y TLR4), y su producción puede verse reforzada por algunos factores, como PGE2 [58]. El receptor de la IL-23 está compuesto por IL-12R β 1 (que también forma parte del receptor de IL-12) y específicos de la cadena IL-23R [59]. Inducido por la IL-6 y TGF- β , el receptor de IL-23 aparece en las células Th17 en curso de diferenciación (Fig. 1). IL-23 induce pSTAT3 y se expande y estabiliza la respuesta regulada (upregulating) de la expresión específica de la cadena IL-23R en las células Th17 [57]. Por lo tanto, el desarrollo de las células Th17 responderá más a IL-23 y menos sensible a la IL-12, porque la cadena de expresión constitutiva de IL-12R β 1 establece más probablemente a la asociación de IL-23R, debido a su incremento en la expresión inducida por la IL-23. Por lo tanto, la IL-23 refuerza la expresión de la diferenciación de las células Th17 y disminuye las posibilidades de desdiferenciación y la plasticidad de las células Th17. Además para mejorar la producción de IL-17, IL-23 induce la producción de novo de IL-22 de las células Th17 [60, 61]. El receptor de IL-22 se expresa en la mayoría de los tejidos epiteliales y parenquimáticos. y en las células del tejido la IL-22 promueve el crecimiento de células epiteliales y provoca una respuesta inmune innata que desencadena la expresión de los reactantes de fase aguda y b-defensinas [62]. Por lo tanto, la IL-23 no sólo estabiliza el fenotipo de la citoquina Th17, sino que también induce más citoquinas efectoras como la IL-22 y posiblemente otras y permite con ello las células Th17 para mediar en todas sus funciones efectoras. En consecuencia, IL-23 es necesaria para diferenciar las células Th17 en fase terminal y estabilizar su fenotipo efector. Los datos recientes sugieren que IL-23 podría facilitar la diferenciación terminal y la ampliación / proliferación de células Th17 provocadas por patógenos por re-expresión de la IL-7R en células Th17 [56], las Th17 sensibles a la IL-7, pueden ser importantes para la supervivencia y expansión de especies patógenas de las células Th17 en la EAE [63].

La relación recíproca entre las células Th17 y Tregs

Sorprendentemente, la generación de células Th17 pro-inflamatorias requiere la presencia de una citoquina anti-inflamatoria, TGF- β , que junto con la IL-6 induce la diferenciación de Th17. TGF- β solo indujo al factor de transcripción Treg Foxp3 y es esencial para el desarrollo de células T reguladoras en la periferia. Sin embargo, la presencia de citoquinas pro-inflamatorias como la IL-6, que se induce durante la infección, inflamación o lesión, inhibe la inducción de Foxp3 + Tregs y al mismo tiempo promueve la diferenciación de células Th17 [33].

Esto nos llevó a la hipótesis de que existe una relación recíproca entre la acción pro-inflamatoria en la producción de células Th17 y la protección Foxp3 + Tregs (Fig. 2). De hecho, varias líneas de evidencia apoyan esta conclusión:

(1) A nivel molecular, se ha demostrado que los factores de transcripción de la Th17 y la Treg ROR γ t / RORA y Foxp3 pueden unirse entre sí e inhibir las otras funciones [64, 65].

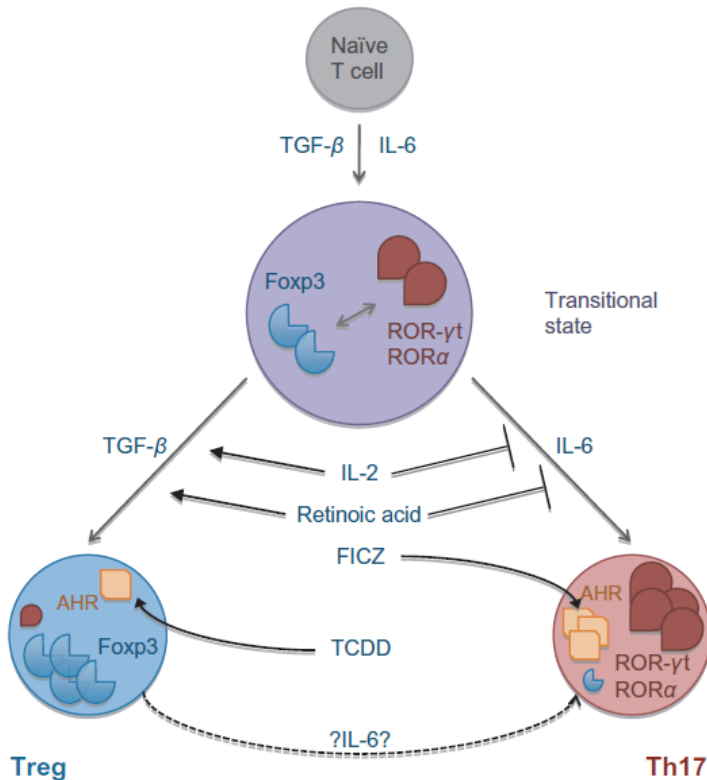
(2) IL-2, un factor de crecimiento para Tregs, inhibe la diferenciación de células Th17, mientras que la IL-21, que promueve la diferenciación Th17, inhibe la expansión de Treg [66].

(3) El metabolito de la vitamina A o ácido retinoico promueve la diferenciación de células Treg pero inhibe la diferenciación de células Th17 [67].

(4) El receptor de aril-hidrocarburos (AHR), que se expresa tanto Tregs y como en células Th17, puede tener efectos opuestos en la diferenciación de Th17 y Treg en función del ligando. Así pues, el compromiso de AHR con uno de los ligandos naturales, FICZ, Th17 promueve la diferenciación y la mejora de producción de IL-22 [68]. Por otro lado, la participación de AHR con otro ligando sintético, la TCDD, parece ampliar la diferenciación de Tregs ejercida por los Foxp3 [69].

Interacción de las células Th1 y Th17 en la autoinmunidad del SNC

Ahora es bien sabido que las células Th17 son importantes células efectoras en el desarrollo de la autoinmunidad, sin embargo, el papel de las células Th1 en la patogénesis autoinmune. Después de todo, las células Th1 que presentan especificidad para los antígenos de la mielina inducen EAE en adopción transferencia, y después de la inmunización activa con antígenos de la mielina tanto la producción de células Th1 mediante IFN- γ y la producción de IL-17 permite a Th17 infiltrarse en el sistema nervioso central. No está del todo claro si sólo un subconjunto o ambos inician la enfermedad porque es difícil de estudiar el potencial patógeno de las células Th17 y las células Th1 de forma independiente las unas de las otras.



Para hacer frente a este problema, hemos desarrollado un protocolo para generar células Th1 y Th17 puras derivadas de células T portadoras de un TCR transgénico MOG35-55-específico. La transferencia adoptiva de estos subconjuntos nos ha permitido estudiar la patogenicidad de las células Th1 y Th17 por separado, y resulta evidente que ambos subconjuntos son capaces de inducir EAE con independencia el uno del otro [18].

Por lo tanto, las células

Th17 en sí mismo no necesitan células Th1 para superar la barrera sangre-cerebro e inducir EAE, como se ha sugerido por otros [70]. Sin embargo, en un ambiente inflamatorio que genera dos células Th1 y Th17, un subconjunto puede migrar al primer órgano objetivo y facilitar la infiltración o incluso atraer al otro subconjunto. En consecuencia, los experimentos cinéticos de nuestro grupo han demostrado que después de la inmunización activa, la frecuencia de las células Th17 alcanzó su punto máximo anterior, mientras que el pico IFNC de producción de células Th1 alcanzaba niveles más altos después, en la enfermedad clínica, lo que sugiere que las células Th17 pueden infiltrarse en el sistema nervioso central antes que las células Th1, que luego propagan la inflamación de los tejidos [71]. Apoyando este concepto, se ha demostrado que durante una infección con *Mycobacterium tuberculosis*, las células Th17 se infiltran en el primer pulmón y, posteriormente, atraen a las células Th1 [72]. Lo hacen mediante la inducción de quimiocinas, CXCL9, CXCL10 y CXCL11, CXCR3 cuyo receptor es altamente expresado en las células Th1 [73]. La migración de las células Th17 en el órgano diana puede ser regulada por la quimiocina CCL20, tal y como las células Th17 expresan su receptor CCR6 [74]. Sin embargo, queda por determinar si la migración de células Th17 también está modulada por otros factores. La secuencia de entrada natural de las células Th1 y Th17 en el órgano diana y los quimiotácticos varían en función del órgano diana en sí, el método de inducción de la enfermedad y la especificidad antigénica de las células T que participan en la inducción de la enfermedad. Sin embargo, es muy importante abordar esta cuestión en todos los modelos, cuáles células llegan primero a los órganos diana y, posteriormente, inducen la infiltración de otras células que podrían ser la diana terapéutica más prometedora para la regulación de la autoinmunidad. La disección de los efectos de la inducción de Th1 y Th17 es aún más complicada por la plasticidad de las células T-helper. En general, las células Th17 parecen ser más plásticas que las células Th1. Por lo tanto, las células IL-17 pueden convertirse en productoras de IFN- γ cuando se cultivan con IL-2 in vitro [75]

(Fig. 1), y varios informes han demostrado que las células Th17 adquieren producción de IFN- γ relativamente fácil a la transferencia in vivo [76-78]. De hecho, en nuestro estudio de transferencia adoptiva, casi todas las células Th17 convierten a las células productoras de IFN- γ in vivo cuando fueron expuestas a la IL-2 y no a IL-23 in vitro.

Diferencias histopatológicas entre Th1 y Th17 inducida por la inflamación autoinmune

Como las células Th1 y Th17 producen citocinas diferentes y emplean diferentes mecanismos efectoras, se comenzó a analizar si específicamente hubo diferencias histopatológicas entre las células Th1 y Th17 inducidas por el tejido inflamado. De hecho, las células Th1 y Th17 inducidas en EAE han demostrado que difieren en cuanto a la localización de la lesión, las manifestaciones clínicas, y la composición de la lesión (Tabla 1). Varios grupos han investigado si Th1 y Th17 inducen lesiones en diferentes partes del sistema nervioso central. Curiosamente, las células Th17 parecen promover la formación de lesiones en el tronco cerebral y el cerebelo, que a menudo causan signos atípicos de la EAE como defectos graves del equilibrio y ataxia, mientras que las células Th1 inducen lesiones en la médula espinal causando sólo síntomas clásicos de la EAE. Así, se ha descrito que la transferencia adoptiva de células T en IFN γ R y la deficiencia de los receptores conduce al desarrollo de atípicas EAE, lo que sugieren que la señalización de IFN- γ protege al tronco cerebral y el cerebelo, pero no la médula espinal de la inflamación [80]. Por otro lado, también se ha demostrado que la inflamación en la médula oblonga / cerebelo depende en una relación alta de Th17 / Th1 y la relación puede ser abolida por el tratamiento con anticuerpos IL-17-neutralizados [81]. Confirmando estos resultados, se observó también que los beneficiarios de células Th17 MOG-específicas a menudo desarrollan signos atípicos de la EAE, que parecían ser causadas por IL-17 en sí, porque la transferencia de Th17 en animales receptores de IL-17RA-deficientes exclusivamente producen signos clásicos de la EAE [18] (observación no publicada). Estos datos ponen de relieve muy diferentes funciones de las células Th1 y de las células Th17 en la patogénesis de la EAE y en algunos aspectos incluso opuestas funciones de las células Th1 y células Th17 en la patogénesis de la EAE, ya que la IL-17 parece que promueve la inflamación del tronco encefálico y el cerebelo, mientras que el IFN- γ sirve para proteger a estas regiones de la inflamación. La inflamación en la médula espinal, sin embargo, puede ser inducida tanto por las células Th1 y Th17. Aparte de la localización de la lesión, las células Th1 y Th17 también parece que inducen los diferentes tipos de lesiones del SNC. En nuestro modelo de transferencia adoptiva los infiltrados perivasculares de las células Th1 inducida típicas provocan desmielinización en el SNC, en las meninges y parénquima [18], que recuerda a la clásica lesión de la EM que contiene principalmente macrófagos activados, microglía y células T. Por el contrario, muchas lesiones de los que reciben Th17 se caracterizan por grandes agregados de linfocitos que se adjuntan a las leptomeninges y a menudo se extienden en el parénquima. Similares estructuras también se han detectado en las leptomeninges de los pacientes con EM progresiva con graves pero no en remitente-recurrente y se demostró que consisten en células B, células plasmáticas, células T y células dendríticas [82]. Es interesante, que estos agregados linfoides fueron inducidos sólo por subconjuntos. Más aún que las células Th17, las células Th9 demostraron ser muy plásticas en nuestro modelo de transferencia adoptiva de la EAE a medida que comenzaron a producir grandes cantidades de IFN- γ en el SNC manteniendo al mismo tiempo la producción de sus originales citocinas IL-9, IL-10 e IL-4. Por otra parte, las células Th9 produce principalmente IL-17 en modelos de colitis

con transferencia adoptiva [89], lo que sugiere que dependiendo del actual entorno de citoquinas en el órgano diana, las células Th9 puede cambiar su perfil de citoquinas Th1 o más hacia Th17. En este contexto, cabe señalar que otras células T pueden producir IL-9. Así, las células Th17 puede producir cantidades significativas de IL-9 sobre la exposición a la IL-2, que parece aumentar la producción de IL-9 por las células Th17, mientras que IL-23 ha sido descrito como un regulador negativo de la IL-9 en células Th17[18,96].

El efecto exacto de la IL-9 en la patogénesis de la EAE parece ser bastante complejo. Dos grupos han abordado esta cuestión con ratones IL-9R-deficientes: Elyaman et al. [96] muestran que los ratones IL-9R-deficientes inmunizados con una dosis subóptima de MOG desarrollaron una enfermedad más grave que la EAE que ratones WT y atribuyen esta diferencia a una pérdida de supresión en Tregs IL-9R-deficientes. Por otro lado, el informe de Nowak et al. [97] manifiesta que la inmunización con una dosis alta de los resultados MOG en EAE atenuada en los ratones de la IL-9Rdeficientes, se caracteriza por menos y menos células Th17 macrófagas IL-6-positivas en el sistema nervioso central, así como la reducción del número de mastocitos en los ganglios linfáticos. Estos estudios acentúan los efectos pleiotrópicos de la IL-9. Por un lado, la IL-9 puede mejorar la función supresora de las células Treg por lo que podrían ser importantes para controlar las T autorreactivas efectoras. Por otro lado, los efectos pro-inflamatorios de las IL-9 incluyen la promoción de la diferenciación de células Th17 - una función que es muy redundante ya que ambos IL-6 e IL-21 en combinación con el TGF- β puede inducir células Th17. Además de la diferenciación de células T, la IL-9 puede contribuir directamente a la patogénesis de la EAE. Así se estableció que la IL-9 activa a las células mastocíticas, y se ha demostrado que los mastocitos pueden contribuir significativamente para el desarrollo y la gravedad de la EAE [98]. Teniendo en cuenta que Nowak et al. [97] encontraron una reducción del número de mastocitos presentes en los ganglios linfáticos periféricos de ratones IL-9R con EAE, se puede especular que una de las funciones efectoras de IL-9 producidas por Th9 o células Th17 en mastocitos en EAE es la acumulación / activación de los mastocitos. Curiosamente, los mastocitos pueden degradar la mielina mediante la secreción de una serie de enzimas proteolíticas, incluyendo triptasa cuyos receptores PAR2 se expresa en las raíces del nervio dorsal [99, 100]. Por lo tanto, los mastocitos podrían ser responsables tanto de la desmielinización aumentada y la neuritis periférica que se ha observado en ratones receptores de Th9. Si los efectos anti o pro-inflamatorios de la IL-9 en última instancia son dominantes en la patogénesis de la EAE y la EM sigue estando por determinar, sin embargo, es evidente que las células Th9 pueden transferirse en EAE y que probablemente lo hagan mediante el empleo de diferentes mecanismos efectoras de otros subconjuntos de células T que se refleja en la patología de las lesiones del SNC inducida por las células Th9 (Tabla 1). Así, las células Th9 podrían contribuir a la heterogeneidad de las lesiones del SNC observados en pacientes diferentes y las diferentes fases de la enfermedad.

Foxp3 Tregs

Mientras que las células T efectoras promueven la inflamación, las células T reguladoras sirven para controlarla. Por lo tanto, juegan un papel muy importante en la patogénesis autoinmune mediante el mantenimiento de la auto-tolerancia y por la expansión y el control de la activación de las células CD4T efectoras autorreactivas. Las células Treg pueden ser identificadas por la expresión de la transcripción de factor Foxp3 e incluyen tanto las Treg de origen natural (nTregs) generadas en el timo y las

inducidas Tregs (iTregs), cuya diferenciación con T helper en la periferia es impulsada por el TGF- β . Hasta el momento, las Tregs naturales no pueden distinguirse de Tregs inducidas ya que ambas poblaciones expresan Foxp3 y reprimen las respuestas de células T efectoras, aunque la expresión de genes de perfiles ha demostrado que iTregs difieren de nTregs, porque carecen de módulos de genes que se expresan en nTregs. La importancia de Tregs Foxp3 en el control de autoinmunidad se ejemplifica en el ratón casposo deficiente en Foxp3, en que se desarrolla la inflamación autoinmune en múltiples órganos resultantes de la hiper-proliferación de células T CD4 que producen altos niveles de citoquinas efectoras [101]. Del mismo modo, los seres humanos con mutaciones en el gen Foxp3 sufren de IPEX ligada al cromosoma X [102], un síndrome en el que los pacientes desarrollan una enfermedad de inflamación multiorgánica que incluye la diabetes insulino-dependiente mellitus, la dermatitis y la psoriasis, como el agrandamiento de los órganos linfoides secundarios. Además, una reducción en número de Treg y / o una pérdida de la función de Treg se ha observado en muchas enfermedades autoinmunes humanas. Por lo tanto, los pacientes con LES tienen niveles normales de células T reguladoras en la sangre, sin embargo, los Tregs muestran compromiso de la función inmunosupresora [103]. Del mismo modo, en la EAE que nuestro grupo ha descrito las células T reguladoras aisladas del sistema nervioso central no son capaces de suprimir la proliferación de células efectoras T derivadas en el SNC, debido a la presencia de las citoquinas proinflamatorias IL-6 y TNF protegiendo a las células T efectoras de la supresión mediada por Treg [71]. El potencial terapéutico de las células T reguladoras es objeto de intensas investigaciones porque en la inducción de células Treg *in vivo* o la transferencia de Tregs generadas *in vitro* podría proporcionar un medio para controlar las células T efectoras autorreactivas. Sin embargo, estudios recientes plantean la cuestión de si Tregs son demasiado plásticas para el desarrollo de una terapia celular. En primer lugar, Tregs y Th17 tienen una relación recíproca, ya que pueden ser generadas a partir de la misma celda con TGF- β o TGF- β más IL-6 [33]. De hecho, durante la diferenciación de una célula puede expresarse tanto Foxp3 como ROR γ t al mismo tiempo [64] y ha sido también demostrado que Tregs comienzan a producir IL-17 después de el tratamiento con IL-6 *in vitro* [104] e *in vivo* [105, 106]. Del mismo modo, Tregs también puede adquirir la expresión de T-bet y comenzar a producir IFN- γ [107]. En segundo lugar, un estudio realizado por Bluestone et al. ha demostrado que muchas células T efectoras se derivan de Tregs [108] por asignación de destino con ratones-Foxp3^{-/-}. Estos hallazgos muestran que las células T reguladoras pueden ser muy plásticas y no sólo pueden perder su función inmunosupresora, sino también convertirse en células T efectoras, una posibilidad que debe considerarse cuidadosamente si Treg se van a utilizar en la terapia de enfermedades autoinmunes.

Células Tr1

Ampliando la lista de los subconjuntos de células T que requieren TGF- β para su generación se encuentran la IL-10-TR-1, que son inducidas por el TGF- β e IL-27 [109-111]. El factor de transcripción c-maf más promueve la diferenciación Tr-1 de células mediante la inducción de IL-21, que actúa como un factor de crecimiento de células Tr1 autocrino [52]. A pesar que las células Tr1 no expresan Foxp3 [112], tienen potentes propiedades inmunosupresoras y producen las citoquinas IL-10 e IFN- γ . Es importante destacar que se ha demostrado que animales deficientes en IL-27 que se señalaron desarrollan EAE exacerbada con mayor frecuencia de células Th17 [113]. Este fenotipo puede ser causado tanto directamente por la falta de IL-27-mediada por la inhibición de la diferenciación de células Th17, e indirectamente, por la falta de

inmunorregulación por Tr-1. Por lo tanto, la inhibición de IL-27 mediada por células Th17 y la inducción de células Tr-1 podría resultar ser beneficiosa en el tratamiento de las enfermedades autoinmunes. De hecho, Gagliani et al. [114] ya han demostrado que la transferencia adoptiva de células Tr1 antígeno-específicas puede inducir tolerancia en un islote modelo de trasplante.

Observaciones finales

Varias enfermedades autoinmunes órgano-específicas son impulsadas por células T auxiliares autorreactivas y células Th1 y, más recientemente, se ha demostrado que las células Th17 juegan un papel en su patogenia. Muchas enfermedades autoinmunes como la esclerosis múltiple tienen un espectro muy heterogéneo de tal manera que los cursos de la enfermedad difieren de paciente a paciente y, además, la enfermedad pasa por diferentes fases dentro del mismo paciente. Estudios recientes han demostrado que entre las células T efectoras, no sólo Th1, sino también las células Th17 y Th9 contribuyen a la patogénesis de las enfermedades autoinmunes. Cada subgrupo probablemente emplea diferentes mecanismos para la inducción de la inflamación de los tejidos, debido a que cada subconjunto produce diferentes citocinas efectoras y atrae a diferentes células secundarias en el órgano diana. Es importante destacar que, los defectos en los mecanismos de regulación también pueden contribuir a la patogénesis y el tipo de enfermedad que se induce. Es posible que la patogenia no sea igual entre los pacientes, pero podría depender de la historia inmunológica del paciente. Así, un paciente podría tener un Th1 dominado por un curso de la enfermedad Th17, mientras que en otros tanto las células Th1 y Th17 podría conducir la enfermedad. Además, varias células efectoras podrían tener predilección diferente para el órgano diana, por ejemplo síntomas que resultan de lesiones en el tronco cerebral / cerebelo puede atribuirse principalmente a la actividad de células Th17, mientras que la enfermedad de la médula espinal puede ser inducida tanto Th1 como por células Th17. Debido a que los subconjuntos de células T reguladas entre están más controlados por distintas células reguladoras T antígeno-específicas de enfermedades, al final, el fenotipo, incluyendo la participación del tejido subanatómico, dependerá del equilibrio y el predominio de determinados subconjuntos efectoras de las células T promoviendo la inflamación del tejido. En su debido tiempo, puede incluso ser posible identificar el efector predominante de las células T involucradas en el proceso de la enfermedad, en la medida que una célula T reguladora dotada con la capacidad de suprimir la incitación de la célula efectora.

Origen: doi: 10.1111/j.1365-3083.2010.02432.x

Versión española: Sandra M.