

Células T colaboradoras 17 (Th17) y células T reguladoras (Treg) en la respuesta inmunológica

Dr. Orlando Gabriel Carballo
Responsable del área de Inmunología
MANLAB

E - mail: gerenciaanalitica@emanlab.com.ar

Algunos de los temas más destacados en el 13th International Congress of Immunology, desarrollado en la ciudad de Río de Janeiro, fueron el avance en la comprensión de la regulación del sistema inmune a través de las células T reguladoras y los mecanismos de tolerancia inmunológica. En esta pequeña revisión trataremos de entender algunos de estos novedosos mecanismos.

La especificidad inmunológica del receptor antigénico de las células B y T es el resultado de la expresión al azar de muchos genes que codifican el sitio de unión al antígeno de estos receptores. Teóricamente, este proceso puede generar 1×10^9 receptores celulares T diferentes, algunos de los cuales pueden ser autorreactivos (células T autorreactivas). La tolerancia es el proceso que elimina o neutraliza tales células autorreactivas, tanto a las células B como a las células T. Estos mecanismos de tolerancia inmunológica pueden ser centrales, cuando tienen lugar en los órganos linfáticos primarios (médula ósea y timo), o periféricos, cuando tienen lugar en los órganos linfáticos secundarios (ganglios linfáticos, tejido linfoide asociado a mucosas y bazo). Hay que considerar que los mecanismos de tolerancia para las células T y B son independientes.

Mecanismos de Tolerancia

Tolerancia celular B: existen diferentes mecanismos disponibles para controlar la autorreactividad celular B:

- delección clonal de células B inmaduras en la médula ósea,
- delección clonal de células B autorreactivas en el bazo y los nódulos linfáticos,
- anergia (inactivación),
- edición del receptor.

Tolerancia celular T: el principal mecanismo de tolerancia celular T es la delección de células T reactivas

contra lo propio. Las células T inmaduras migran de la médula ósea al timo donde se encontrarán con péptidos derivados de proteínas endógenas unidas a moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC). La gran mayoría de las células T en el estadio doble positivo (CD4+ CD8+) mueren en el interior del timo. Los factores responsables de dicha muerte masiva son:

- Reordenamiento aberrante de los receptores celulares T (TCR)
- Selección negativa
- El no ser objeto de la selección positiva.

La selección positiva se produce cuando las células T con un cierto grado de avidéz de unión hacia las regiones polimórficas de las moléculas de MHC son seleccionadas para vivir. Las moléculas del MHC se encuentran en las células epiteliales de la corteza tímica y se presume que la unión de los timocitos a dichas moléculas las protege de la muerte celular programada (apoptosis). Las células que interactúan con el MHC de clase I pierden el receptor CD4, y los que lo hacen con el MHC de clase II pierden el receptor CD8. Este proceso de selección positiva asegura que las células T maduras, reconozcan tan sólo a los antígenos cuando éstos están asociados a las moléculas de MHC propias, es decir cuando estén restringidas por el MHC.

La selección negativa supone la eliminación de las células T autorreactivas, es decir, aquellos clones de células T que reaccionan con alta avidéz y de una manera específica con autoantígenos presentes en el interior del timo son eliminadas por activación de los mecanismos apoptóticos a través del receptor celular T. Esta función es llevada a cabo por las células dendríticas tímicas o por los macrófagos ricos en moléculas de MHC de clase I y clase II, situados predominantemente en la unión corticomedular del timo. Esto fue demostrado en ratones transgénicos, en los cuales, genes que codificaban un TCR con especificidad para un antígeno tímico conocido, habían sido introducidos en la línea germinal. Como consecuencia de esto, células T con TCR transgénico estaban ausentes en periferia y por lo tanto había tolerancia para dicho antígeno debido a un mecanismo de delección clonal intratímica. Investigaciones posteriores demostraron que, bajo ciertas condiciones, linfocitos reactivos contra lo propio pueden ser identificados en el sistema inmune normal maduro, por lo que es necesaria la existencia de mecanismos de tolerancia periférica de células T. Algunos de estos mecanismos son: ignorancia inmunológica, delección clonal



periférica y regulación, ya sea a través de mecanismos de anergia, inhibición o supresión de la respuesta celular T.

Las células T regulatorias (Treg) son una población especializada que actúa suprimiendo la activación de otras células inmunes, manteniendo de este modo la homeostasis del sistema inmune, la tolerancia a lo propio y el control de la respuesta excesiva contra los antígenos externos. La maduración de las células T inmaduras (células T naive) depende críticamente de su interacción con el microambiente fisicoquímico y resulta en el desarrollo de células con función efectora (y de memoria) o regulatoria y la tolerización de células autorreactivas. Esto es crítico para la prevención de las enfermedades autoinmunes, por lo que las células T naive reactivas contra lo propio no deben ser inducidas a madurar a células efectoras.

Experimentos en ratones han demostrado que células T colaboradoras inmaduras pueden desarrollarse al menos en cuatro clases distintas de células T colaboradoras:

- A. Células T helper 1 (Th1)
- B. Células T helper 2 (Th2)
- C. Células T 17 (Th17)
- D. Células T regulatorias (Treg)

Las células T naive pueden ser inducidas a un linaje particular según el modo de estimulación, la concentración antigénica, coestimulación y las citoquinas presentes. La vía de diferenciación a Th1 o Th2 ha sido aclarada debido a la actividad de la IL-4, la citoquina más importante en la inducción de la diferenciación Th2, mediante el transductor de señales activadoras de la transcripción – 6 (STAT-6), y la IL-12, citoquina que induce la diferenciación a Th1 a través de STAT-4. Una vez diferenciado, cada linaje es caracterizado por su propio perfil de citoquinas, siendo el Interferón gama (INF- γ) la citoquina marcadora de la respuesta Th1 y la IL-4 de la respuesta Th2, TGF- β para las Treg y TFG- β y IL-6 para las Th17, y sus factores de transcripción T-bet para las Th1, GATA-3 para las Th2, forkhead box P3 (FoxP3) para las Treg y ROR γ t para las células Th17. Recientes evidencias sugieren que las células T naive (en ratones) pueden ser inducidas hacia Th17 o Treg de una manera mutuamente excluyente de la misma manera que lo hacen las Th1 y Th2. Consecuentemente, se puede plantear una novedosa hipótesis, la enfermedad inflamatoria y la enfermedad autoinmune llamativamente pueden estar inclinadas hacia una respuesta TH17/Th1, un bloqueo de citoquinas típicas puede resultar en un cambio en la polarización del fenotipo Th17 / Th1 hacia Treg / Th2, por lo tanto la regulación y la desregulación es inducible y remediable.

Interleuquina 17 (IL-17)

Esta interleuquina fue clonada por primera vez en 1993, originariamente conocida con el nombre de

CTLA-8. Fue descrita inicialmente como un producto de las células T activadas y de memoria, pero hoy se reconoce que es más ubicua y ha sido demostrada en células T $\gamma\delta$, células T CD8+ de memoria, eosinófilos, neutrófilos y monocitos. La amplia distribución en tejidos y células del receptor de IL-17, llamado IL-17R, en humanos y en ratones, explica su importancia en la respuesta inmune. Existen 5 receptores para IL-17 llamados IL-17RA, IL-17RB, IL-17RC, IL-17RD y IL-17RE. La deficiencia en ratones de IL-17 los hace susceptibles a la infección bacteriana levándolos a la muerte, ya que tienen inhibida la respuesta celular T. Las funciones más importantes de la IL-17 son resumidas en la Figura 1, es considerada una interleuquina proinflamatoria que actúa a través de diferentes mecanismos.

Localmente la producción de IL-17 estimula la producción de IL-6, óxido nítrico y prostanglandina E2, al mismo tiempo actúa sinérgicamente con otras IL proinflamatorias como IL-1 β , factor de necrosis tumoral (TNF)- α , IFN- γ y CD40 ligando, guiando a una regulación positiva de expresión genética y amplificación de la respuesta inflamatoria local. La IL-17 tiene un efecto de quimioattractante de neutrófilos y monocitos a los sitios de inflamación a través de mediadores como ser la IL-8, proteína quimioattractante de monocitos (MCP)-1 y proteína relacionada al crecimiento (Gro)- α . Al mismo tiempo aumenta la producción de factores de crecimiento hematopoyético como ser: factor estimulante de colonia granulocítica (G-CSF) y granulocito – macrófago (GM)-CSF, lo que promueve el crecimiento y maduración de las células mieloides reclutadas. Por otro lado, la IL-17 es un puente entre la respuesta inmune innata y la adquirida por aumentar la inducción de moléculas coestimuladoras tales como ICAM-1 por otras citoquinas, de este modo sostiene la activación celular T.

Figura 1:



Células Treg

Estudios de las Treg han identificado al menos dos subpoblaciones de células T con capacidades inmunosupresoras pero con diferentes marcadores de superficie, sitios y modos de generación: las células Treg naturales y las Treg inducibles. Las células Treg naturales se originan en el timo y constituyen un 5% a 10% de la población

madura de células T CD4+. Expresan constitutivamente la cadena α del receptor de IL-2 (CD25) como así también otras moléculas de superficie asociadas con fenotipos de activación y memoria (CD62L, CTLA-4, GITR). Una característica de estas células es su alta expresión del factor de transcripción Foxp3, el cual juega un rol crítico en las funciones regulatorias y, a diferencia de los otros marcadores, su expresión es altamente restrictiva de células Treg CD4+ CD25+.

La supresión de la proliferación de las células T efectoras por parte de las Treg requiere del contacto directo célula a célula. La célula T efectora al ser estimulada por el antígeno produce inicialmente IL-2, la cual actúa como señal sobre la Treg estimulando la producción de Foxp3, último responsable de la acción supresora de las mismas. Poco se conoce de cómo la actividad inmunosupresora de las Treg es silenciada una vez cumplida su función. Dado que las Treg son intrínsecamente hipoproliferativas e hiporrespondedoras, una vez cumplida su función y en ausencia de estímulo antigénico vuelven a su estado de anergia natural con disminución de su actividad inmunosupresora. Las Células Treg inducibles se originan de las células T naive periféricas por estimulación de bajas dosis de antígeno o por estimulación de citoquinas inmunosupresoras.

Existen al menos dos poblaciones de Treg inducibles definidas en base a su perfil de citoquinas: Tr1 las cuales secretan grandes cantidades de IL-10 y las Th3 caracterizadas por la secreción de TGF- β . Su mecanismo de acción, a diferencia de las Treg naturales, es llevado a cabo a través de las citoquinas IL-10 o TGF- β . También se han descrito en la literatura, otros tipos celulares con capacidad inmunorreguladora como células CD8+ Qa-1 restringidas, Células T CD8+ CD28-, Células T CD8+ CD122+, células NK, células dendríticas, etc, pero debido a que tanto ratones knock-outs para CD4+ CD25+, como humanos deficientes en este tipo celular, desarrollan enfermedad autoinmune severa, los investigadores han puesto especial atención y son consideradas como las principales células T regulatorias (referidas como Treg). In vitro, las Treg tienen la capacidad de inhibir la proliferación y producción de citoquinas como respuesta al estímulo policlonal, como así también, a la modulación negativa de la respuesta de células CD8+ específicas del antígeno.

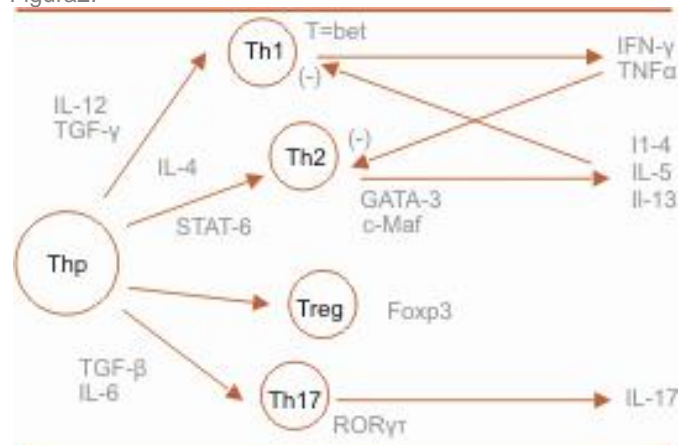
Esto se puede traducir in vivo a un gran número de funciones como son: el mantenimiento de la tolerancia a componentes propios (con la consiguiente prevención de enfermedades autoinmunes), la regulación de la respuesta a patógenos microbianos, la capacidad de prevenir el rechazo del trasplante, mantenimiento de la tolerancia gastrointestinal y la tolerancia materna a antígenos fetales semiallogeneicos.

Se desconocen los mecanismos por los cuales las células Treg son generadas en la periferia. Sin embargo hay evidencias que, del mismo modo que la respuesta Th1/Th2 está polarizada según el estímulo antigénico ligado a la concentración antigénica y a la

fuerza de interacción, bajas dosis de un antígeno que forme uniones débiles generará más células Treg.

Células T helper precursoras (Thp) pueden derivar en distintas poblaciones de células regulatorias mutuamente excluyentes, Th1, Th2, Th17 y células Treg según las citoquinas predominantes. La presencia de IL-12 promueve el desarrollo hacia la población Th1 a través de la producción de transductores de señales de activación denominado STAT-4, las células Th1 son caracterizadas por la expresión de T-bet y producen IFN- γ y TNF α . La IL-4 favorece la evolución a células Th2 vía STAT-6. Esta población está caracterizada por la expresión de GATA-3. Por último, el desarrollo de células Th17 o Treg requieren de la presencia de factor de transformación celular β (TGF- β), pero la presencia de IL-6 favorece el desarrollo del fenotipo Th17. Las células Treg están caracterizadas (en ratones) por la expresión de Foxp3. (Ver Figura 2)

Figura2:



Conclusiones:

La IL-17 es una citoquina pleiotrópica con múltiples funciones proinflamatorias que está involucrada tanto en la causa como en la progresión de la enfermedad inflamatoria y en la reacción de rechazo de órganos en el trasplante. Las células T regulatorias son células con función antiinflamatoria derivadas naturalmente del timo y generadas en la periferia según sea el predominio de distintas citoquinas en el medio. Es posible que la actividad en la enfermedad autoinmune y los episodios de rechazo de órganos puedan ser explicados por cambios en la relativa dominación de una de estas vías en la periferia o a través de la diferenciación preferencial de algún linaje o aumentando la sobrevivencia de estos fenotipos. Un cambio en las condiciones locales puede ser importante para inclinar la respuesta en uno u otro sentido.

Una mejor comprensión de las funciones de las Treg in vivo, ayudará a los investigadores a plantear nuevos tratamientos, tanto para las enfermedades autoinmunes como así también, para las enfermedades alérgicas y la prevención del rechazo del trasplante.



Referencias

- 1) Starr TK, Jameson SC, Hogquist KA. Positive and negative selection of T cells. *Annu Rev Immunol* 2003; 21:139-76.
- 2) Zhang J, Markovic-Plese S, Lacet B, Raus J, Weiner HL, Hafler DA. Increased frequency of interleukin 2-responsive T cells specific for myelin basic protein and proteolipid protein in peripheral blood and cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis. *J Exp Med* 1994; 179:973-84.
- 3) Constant SL, Bottomly K. Induction of Th1 and Th2 CD4+ T cell responses: the alternative approaches. *Annu Rev Immunol* 1997; 15:297-322.
- 4) Bettelli E, Carrier Y, Gao W et al. Reciprocal developmental path-ways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 2006; 441:235-8.
- 5) Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB et al. Transforming growth factor-beta induces development of the T (H) 17 lineage. *Nature* 2006; 441:231-4.
- 6) B Afzali, G Lombarda, R I Lecheler, G M Lord. The role of T helper (Th17) and regulatory T cell (Treg) in human organ transplantation and autoimmune disease. *Clinical and Experimental Immunology*. 2007;148:32-46.
- 7) Kalliomaki M, Salminen S, Pousa T, Arvilommi H, Isolauri E. Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2003; 361:1869-1871.
- 8) Perez-Machado MA, Ashwood P, Thomson MA et al. Reduced transforming growth factor-beta1-producing T cells in the duodenal mucosa of children with food allergy. *Eur J Immunol* 2003; 33(8): 2307-2315.
- 9) Beyer K, Castro R, Birnbaum A, Benkov K, Pittman N, Sampson HA. Human milk-specific mucosal lymphocytes of the gastrointestinal tract display a TH2 cytokine profile. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109(4): 707-713.
- 10) Hill DJ, Heine RG, Hosking CS. The diagnostic value of skin prick testing in children with food allergy. *Pediatr Allergy Immunol* 2004; 15(5): 435-41.
- 11) Martínez J, Méndez C, Talesnik E, Campos E, Viviani P, Sanchez I. Pruebas cutáneas de hipersensibilidad inmediata en una población pediátrica seleccionada. *Rev Méd Chile* 2005; 133: 195-201.
- 12) Shek LP, Soderstrom L, Ahlstedt S, Beyer K, Sampson HA. Determination of food specific IgE levels over time can predict the development of tolerance in cow's milk and hen's egg allergy. *J Allergy Clin*

MANLAB[®]
Diagnóstico Bioquímico