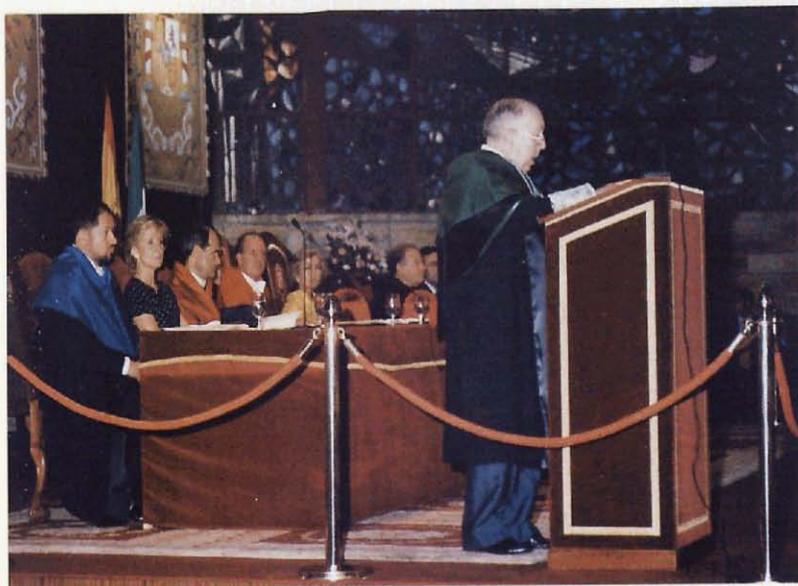


UNIVERSIDAD DE CORDOBA  
24 de Septiembre de 1997



**Reflexiones sobre el conflicto autoinmune en  
el hombre y en los animales domésticos**  
*Lección inaugural del Curso Académico 1997-98  
impartida por el Prof. Dr.*



**D. Antonio Garrido Contreras**



Majestades:

En la inauguración de este Curso Académico (1997-98), de especial relevancia para nuestra profesión, puesto que se cumple el 150 aniversario de la fundación de los estudios de veterinaria en Córdoba, primero en régimen de Escuela y, a partir de los años cuarenta, como una Facultad más de la Universidad Española y, asimismo, se conmemoran los 25 años de la creación de esta Universidad, nos ha sido encomendado dictar la lección inaugural en este solemne acto académico.

Sin duda, movido por mi doble condición –desde luego modesta– de microbiólogo e inmunólogo hemos elegido un tema, que lo consideramos novedoso e importante desde el punto de vista médico-veterinario, donde, de alguna manera, interactúan las dos especialidades. En él observaremos como en numerosas respuestas inmunes indeseables (enfermedades autoinmunes) que sufren el hombre y los animales, la participación microbiana en el desencadenamiento de las mismas tiene un valor indiscutible.

Estamos acostumbrados –y ello es lógico– a considerar a los microbios como responsables directos de terribles patologías infecciosas de creciente interés, muchas de ellas, en la actualidad. Algunas nuevas, que han surgido en los últimos decenios del presente siglo, otras, viejas conocidas, que reemergen de nuevo con gran incidencia y prevalencia. Hoy, las enfermedades infecciosas no son sólo un problema sanitario o económico, sino que también han pasado a ser un problema social con enormes consecuencias para el bienestar de los ciudadanos en todo el mundo.

Pero ocurre también que los microorganismos pueden estar involucrados en patologías esporádicas, que no tienen carácter epidémico o endémico, como sucede, entre otras, con los conflictos autoinmunes y que entran en la reflexión del tema que intentamos discutir en la presente lección.

Creo aconsejable, para comprender los interesantes mecanismos del fenómeno autoinmune, que puede conducir a patologías graves en el hombre y en los animales domésticos, exponerles, previa y brevemente –a la luz de los importantes avances de la ciencia inmunológica en

estos últimos años-, la configuración de nuestro sistema inmune y de las respuestas a que da lugar cuando se estimula por sustancias extrañas, las más veces de naturaleza antigénica o inmunógena.

En condiciones normales, por el «miedo a lo extraño», el citado sistema debe reaccionar, mediante una labor homeostática, tratando de eliminar, neutralizar e, incluso, metabolizar lo «no propio». Esta tarea, crucial para la lucha y protección contra los microbios patógenos y, asimismo, contra las neoplasias, la llevan a cabo, en primera instancia, las **respuestas inmunes inespecíficas** (inmunidad innata) en las que intervienen, ante todo, factores de defensa interna, tales como la fiebre, las proteínas de fase aguda, las células NK (Natural Killer), el sistema del complemento, activado por la vía alternativa, y una eficaz fagocitosis que deberá tener como fin la destrucción total o parcial de las sustancias extrañas.

Pero, sin lugar a dudas, en este tipo de respuestas, es la fagocitosis – como función celular muy primitiva en la escala filogenética– la que desempeña un papel crucial. Los polimorfonucleares neutrófilos y los monocitos-macrófagos son los elementos de vanguardia, destruyendo por completo cualquier sustancia ingerida, los primeros, y parcialmente, los macrófagos, ya que, como veremos más adelante, son células presentadoras de antígeno (CPA), preparándolo para la respuesta inmune específica, además de llevar a cabo fenómenos de citotoxicidad directa frente a células tumorales, citotoxicidad dependiente de anticuerpo –por poseer receptores frente a la fracción cristalizable (Fc) de IgG–, lisis de microbios obligados facultativos (*Mycobacterium*, *Brucella*, *Listeria*, *Toxoplasma*, *Leishmania*...), producción de monocinas, tales como interleucina 1 (IL-1), IL-6 y factor de necrosis tumoral alfa (FNT), prostaglandinas, componentes del sistema del complemento (Clq, C2, C3 y C5), enzimas lisosómicas y proteínas de superficie esenciales para la adhesión célula a célula (selectinas), fenómeno, este último, tan importante que si se impide la intervención de las mismas, la fagocitosis fracasa por fallo en la diapedesis. No obstante, en algunas situaciones (enfermedades autoinmunes), en las que se deben evitar los procesos inflamatorios debidos, en gran parte, a la infiltración mononuclear fagocítica, el bloqueo de las selectinas de adhesión, por ejemplo, con antiinflamatorios no esteroides (AINES), supone una importante estrategia en el tratamiento.

Sin quitarle importancia a lo comentado, son las **respuestas inmunes específicas** (inmunidad adquirida o adaptativa) las verdaderas responsables del potencial defensivo de los animales frente a microbios y otras sustancias extrañas, como proteínas heterólogas, haptenos, células alogénicas y xenogénicas e, incluso, ante nuestros propios tejidos y órganos.

Se caracterizan por su especificidad, puesto que el sistema inmune, en este tipo de respuesta, sólo reacciona frente al antígeno que la provoca. Asimismo, es de carácter clonal, que garantiza su amplificación; está gobernada genéticamente, con una implicación decisiva de los genes del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH); guarda memoria inmunológica, que la potencia en el tiempo, y está controlada por precisos mecanismos de autorregulación, decisivos para evitar «disparos» exagerados o inapropiados que conducen a fenómenos indeseables de hipersensibilidad, donde pueden jugar un papel nocivo las células autorreactivas (antipropias) y, de otra parte, activar las respuestas para no caer en problemas de inmunodeficiencias.

Sus principales actores, son los pequeños linfocitos que, como es conocido, tienen su origen en el celoma embrionario, luego en el hígado fetal y posteriormente en la médula ósea. Y es, a este nivel, donde a partir de la gran célula madre linfopoyética, que desciende de otra gran célula madre hematopoyética (Stem Cell) (UFC), potencialmente móvil, que aparece aproximadamente a las nueve semanas de la gestación, se originan las células linfocitarias grandes y pequeñas. Las primeras, caracterizadas por una proporción núcleo-citoplasma discreta y la presencia de abundantes gránulos azurófilos, son los linfocitos granulares (células de la tercera población), representados por las células NK responsables de los fenómenos de citotoxicidad frente a tumores y células parasitadas por virus.

Pero son los pequeños linfocitos, con un gran núcleo y escaso citoplasma, moderadamente basófilo, los responsables del espectáculo inmunológico. Estas células, que se producen a una tasa elevada ( $10^9$ /día) y que representan aproximadamente el 20-25% de los leucocitos sanguíneos, son extraordinariamente móviles –capaces de locomoción ameboide– y, cuando están activadas, sus proteínas de membrana (integrinas) regulan su adherencia, mediante selectinas, a las células

endoteliales posibilitando su migración hacia los tejidos, especialmente a los órganos linfóides secundarios. Poseen diminutas vacuolas superficiales —que pueden estar involucradas en la pinocitosis—, mitocondrias, retículo endoplásmico y lisosomas, repletos de enzimas hidrolíticos.

Los pequeños linfocitos, en sus dos grandes poblaciones (T y B), se diferencian, procesan y maduran a células inmunocompetentes en los **órganos linfoides primarios o de producción**, representados por el timo, para las células T, en todas las especies animales, y por la bolsa de Fabricio (en aves), médula ósea y placas de Peyer ileocecales (principalmente en rumiantes), para los linfocitos B.

Es en la zona medular de los lobulillos tímicos donde los linfocitos medulares, que representan el 20-25% de la población total de timocitos (el 80%, aproximadamente ocupan la zona cortical), resistentes a los corticosteroides, maduran, con la intervención esencial de las hormonas tímicas (timosina, timopoyetina, factor tímico humoral, timoestimulina, timulina, esta última fundamental para el desarrollo de la glándula), y adquieren una compleja serie de receptores y moléculas de superficie de indudable interés inmunológico y que van a servir para su identificación y cuantificación en sangre periférica, mediante inmunofluorescencia, utilizando baterías de anticuerpos monoclonales. Es en este ambiente tímico, donde los linfocitos T se diferencian en sus tres subpoblaciones principales: helper ( $T_h$  - CD4), citotóxicos ( $T_c$  - CD8) y supresores ( $T_s$  - CD8). Y es también en este territorio medular —como veremos más adelante— donde sufren fenómenos de apoptosis para eliminar células hiperreactivas que pueden causar respuestas autoinmunes indeseables.

Es importante señalar aquí, por su trascendencia para la activación de las células T inmunocompetentes, la presencia en las mismas de receptores para los antígenos: TCR y CD3. De los primeros, se conocen dos clases: TCR2, constituidos por dos cadenas polipeptídicas (alfa y beta), unidas por puentes disulfuro, que los expresan en el hombre prácticamente todos los linfocitos T (95%), junto al complejo CD3, constituido por cinco cadenas polipeptídicas monomórficas que participan en la transmisión al interior de la célula T de la señal de activación que resulta de la unión del TCR al antígeno, y los TCR1, con cadenas

polipeptídicas distintas (gamma y delta), que se expresan solamente en el 5% de estas poblaciones. Según recientes estudios, las células que muestran este último receptor se localizan en epitelios de superficie (linfocitos intraepiteliales) y pueden tener importancia patogénica en algunas enfermedades autoinmunes, como la Artritis Reumatóide (AR), donde se han obtenido clones de este tipo de linfocitos, a partir de líquido sinovial de pacientes con esta patología. Es posible que, en el futuro, se establezcan protocolos de tratamiento utilizando anticuerpos monoclonales contra este receptor.

A este respecto, es sorprendente observar como en las especies ruminantes (bovinos, ovinos y caprinos) la mayoría de las células T de sangre periférica portan el receptor gamma/delta de una manera exclusiva. Además sus cadenas TCR gamma tienen una secuencia conectiva extraordinariamente prolongada entre el dominio de transmembrana y el dominio constante, lo cual se debe a triplicación axónica. Por el contrario, las cadenas TCR delta son muy similares a sus homólogas en el hombre. Cuando las células que portan este receptor maduran a nivel tímico se encuentran sujetas a las mismas formas de selección positiva y negativa que se aplican a las células T alfa/beta. Recirculan de manera continua entre las superficies epiteliales, como la piel, epitelio intestinal y el torrente sanguíneo. Posteriormente, pasan a los ganglios y regresan a la sangre a través de la linfa, no circulando por la vía de las vénulas del endotelio alto. En estas especies, los linfocitos gamma/delta son los que responden de manera predominante a las reacciones de linfocitos mixtos, lo cual indica que pueden reaccionar a los aloantígenos y que también pueden ser citotóxicos.

Por citar otra especie animal, en el cerdo los linfocitos T alfa/beta representan entre el 40-60% de los linfocitos de sangre periférica en animales adultos y la mayoría expresan niveles altos del antígeno CD2. Por el contrario, gran parte de las células T gamma/delta son CD2 negativas, aunque existe un bajo porcentaje (3-8%) de ellas que expresan CD2. Un 20-40% de los linfocitos T alfa/beta expresan el marcador CD4, mientras que un 30-50% son CD8+. A diferencia de la mayoría de los mamíferos estudiados, donde los marcadores CD4 y CD8 se expresan de forma excluyente en los linfocitos T periféricos, en el cerdo un porcentaje significativo de ellos expresan de forma simultánea los dos marcadores (CD4+ CD8+). Este porcentaje de linfocitos

dobles positivos varía con la edad; mientras que en cerdos de una semana representan más del 2%, en animales de tres años pueden suponer un 30% o más del total de los linfocitos. Estas células se pueden detectar en condiciones normales en bazo, ganglios y amígdalas de cerdos adultos, llegando a representar hasta un 30% de los linfocitos en ganglios y un 50% en amígdalas. La función de estos linfocitos CD4+CD8+ (dobles positivos) es objeto de estudio en la actualidad; su depleción no disminuye la actividad citotóxica ni parece ser precursora de los linfocitos CD4+ o CD8+. Estudios recientes con animales inmunizados frente al virus de Aujeszky parecen indicar que estas células T dobles positivas representan células de memoria que derivan de linfocitos CD4+CD8- tras una segunda estimulación por antígeno. Estas células expresan niveles altos de varias moléculas de adherencia como CD29 y AFL-I. Otra característica particular de la especie porcina es la expresión en células T de antígenos de histocompatibilidad de clase II. A diferencia del hombre y del ratón, donde los linfocitos T no activados no expresan tales moléculas. En el cerdo tanto los linfocitos T CD4-CD8+ expresan moléculas CMH-DR. Tras la activación la expresión de las moléculas de clase II aumenta en estas dos subpoblaciones, y se induce en las subpoblaciones de células T CD4+CD8- y T gamma/delta, que no la expresan en reposo.

De manera muy similar, los linfocitos B llevan a cabo la maduración en sus correspondientes órganos linfoides primarios, en un ambiente hormonal adecuado, poco conocido todavía. Así, pasan por un primer estadio de células pre-pre B, de división rápida, en las que se reorganizan los genes encargados de la síntesis de las cadenas pesadas (H) de las inmunoglobulinas. Le sigue un segundo, las células pre-B, más pequeñas que las anteriores, donde se reorganizan los genes de las cadenas ligeras (L) y hacen acto de presencia las moléculas de clase II del CMH. Aparecen después, los linfocitos B inmaduros, que expresan en su superficie IgM, posteriormente IgD y otros receptores, convirtiéndose en células B maduras, con sus receptores para los antígenos (BCR) representados por estas inmunoglobulinas de superficie. Es interesante hacer notar que en la fase de inmadurez, cuando se encuentran con un antígeno propio puede producirse su muerte o inactivación. Esta propiedad es importante para el mantenimiento de la tolerancia frente a antígenos propios que la célula B se encuentra durante su maduración en los citados órganos. No se conocen del todo cuales son

los estímulos que gobiernan este proceso de maduración, aunque está demostrado que la IL-7 –producida por las células estromales de la médula ósea– es un factor de crecimiento importante para las células B inmaduras. Asimismo, se ha descubierto recientemente que para el paso de linfocito pre-B a linfocito B maduro es absolutamente necesaria la expresión del gen que codifica una proteína cinasa específica de tirosina (btk), esencial para el desarrollo de estas células, de tal manera que si se bloquea esta transición maduracional, por falta de expresión del citado gen, se produce un importante déficit de la respuesta humoral (agammaglobulinemia de Bruton, ligada al cromosoma X). Este mecanismo no se ha estudiado todavía en los animales.

Como células inmunocompetentes, los linfocitos B y T abandonan los órganos linfoides primarios, pasan a sangre, para localizarse preferentemente en los **órganos linfoides secundarios o de interacción**, principalmente ganglios y bazo, donde se localizan. Los primeros, en la zona cortical de los ganglios, en los folículos primarios –mientras no haya exposición a los antígenos– que se transforman en folículos secundarios o centros germinativos –ricos en células dendríticas foliculares– cuando son activados antigénicamente. De otra parte, las células T, que junto con las B, penetran en los ganglios a través e las vénulas el endotelio alto –donde intervienen integrinas (VCAM-1) y selectinas en el fenómeno de paso endotelial– se disponen en la zona paracortical, interdigitándose con células tipo macrófago que hacen función de CPA. A pesar de que los linfocitos quedan bastante apretados (1 g. de ganglio contiene unos mil millones) siguen moviéndose con cierta libertad.

*Por consiguiente, los ganglios son lugares excelentes para la activación de los linfocitos por parte de los antígenos, de tal manera, que se puede asegurar que las potentes respuestas inmunes tienen lugar preferentemente a estos niveles. Los linfocitos activados, salen de ellos por los linfáticos eferentes y viajan por la linfa hasta que llegan de novo a la sangre a través del conducto torácico, en la mayoría de las especies, llevando su influencia protectora a todos los lugares orgánicos.*

Asimismo, en el bazo, las células inmunocompetentes se localizan en el tejido linfóide periarteriolar (manguito linfóide periarteriolar) de la pulpa blanca, situándose los linfocitos T en zonas próximas a las pare-

des arteriolares, mientras que los B se detectan más alejados, formando, como en los gánglios, folículos primarios y centros germinativos. También, ciertos tejidos linfóides asociados a las mucosas respiratoria, gastrointestinal y genitourinaria pueden considerarse como órganos linfóides de interacción.

Para que se inicie una respuesta inmune específica –que se diseña a la medida de los retos que se le plantean–, es necesaria la activación –por parte de los antígenos– y proliferación clonal de las dos poblaciones linfocitarias, además de la síntesis de un complejo grupo de citocinas (monocinas y linfocinas) que la modulan e intervienen en la misma.

La activación de los linfocitos Th (CD4), constituye –a nuestro entender– la clave de la respuesta. Tal y como hoy se plantea, pasa por una precisa frecuencia de señales obligadas que exponemos de manera concisa:

1.- Procesamiento de los antígenos por las CPA (macrófagos activados, células de Langherans de la piel, células dendríticas foliculares, células dendríticas interdigitales, células endoteliales, linfocitos B, células foliculares tiroideas, que pueden presentar antígenos en la tiroiditis de Hashimoto,...) que lo degradan en pequeños péptidos –con un tamaño óptimo de 8 a 24 aminoácidos–, en el contexto de las moléculas de clase II del CMH que pueden aumentar su expresión con el interferón gamma, lo que no es deseable en la enfermedad autoinmune. Desde luego, la presencia de tales moléculas es primordial, en el sentido de que los péptidos deberán encajar perfectamente con ellas, trasladándose así a la superficie celular donde las células T, por sus receptores (TCR) podrán engancharlos. Ello es tan importante que si las CPA las tienen mal expresadas o carecen de ellas no puede haber respuesta inmune, como ocurre, por ejemplo, en los macrófagos de los animales recién nacidos que les conduce, lógicamente, a un estado de tolerancia. Por esta evidencia, como veremos después, intentar disminuir la expresión de las moléculas de clase II puede ser una estrategia de vanguardia para combatir la patología autoinmune.

2.- Unión de los antígenos procesados a los receptores TCR-CD3, presentes en la membrana del linfocito, con la intervención de moléculas de adhesión. Hasta lo que se sabe, todos los segmentos variables de

las cadenas alfa-beta que constituyen la mayor parte de los TCR en el hombre, desempeñan un papel en la unión con las proteínas de clase II del CMH y el péptido extraño atrapado por estas. Un antígeno específico sería reconocido por una célula T sólo si esta tiene un receptor con las combinaciones exactas de segmentos variables. En caso de los superantígenos –de los que haremos algún comentario más adelante– el sistema varía, ya que engarzándose también a moléculas del CMH, luego se unen a un segmento V-beta, en comparación con la cantidad de receptores alfa-beta, sin que importe mucho la estructura del resto del receptor.

Es interesante hacer notar, que la composición y estructura de los receptores está determinada en cierto modo por el azar, lo que supone que algunos pueden unirse a moléculas propias. La aleatoriedad aparece de dos formas, al menos. En una de ellas, los receptores se construyen mediante combinaciones casuales de segmentos génicos especializados. En la otra, segmentos cortos de ADN aleatorios intervienen en la conformación de los genes que determinan las cadenas alfa-beta. Por consiguiente, el organismo tiene un control absoluto sobre toda la secuencia de aminoácidos de los receptores.

En cuanto a los linfocitos T gamma/delta, de los que ya hicimos algunas precisiones, se tiene aún una idea bastante incompleta –al menos en el hombre– del papel real que desempeñan en el sistema inmunitario. Desde luego, parecen responder a productos que el propio organismo genera cuando un tejido sufre una alteración o es atacado por microorganismos. Da la impresión de que tales receptores están diseñados para unirse a ciertos componentes del propio organismo, lo que *puede desencadenar un proceso autoinmune (AR)*. Si esto es cierto, habrá que preguntarse de que manera se domina a estas células autorreactivas.

3.- Producción, por parte de la CPA, de IL-1 que deberá unirse a sus receptores linfocitarios (IL-1R). Esta interleucina, cuya fuente principal de síntesis son los macrófagos activados por diferentes vías, entre las que sobresalen microorganismos y otras citocinas (interferón gamma y FNT), no solamente es necesaria para la activación de los linfocitos T y, en consecuencia, para la producción de la decisiva IL-2, sino que también potencia y estimula la acción de otras citocinas y a las células

B. contribuyendo por tanto al establecimiento de la inmunidad humoral. Asimismo, estimula el crecimiento de células fibroblásticas, la producción de Proteína C Reactiva (PCR) —una proteína de fase aguda—, induce la síntesis, por parte de la médula ósea, de Factores Estimulantes de Colonias y activa la producción de neutrófilos y plaquetas. Por desgracia, estimula la producción de colagenasa por los condriocitos, que conduce a la degradación del cartílago, actúa a nivel del SNC produciendo somnolencia y anorexia y, sobre todo, desencadena —junto con el FNT— potentes respuestas inflamatorias, incrementadas por su poder quimiotáctico, que supone la atracción de neutrófilos y macrófagos, con liberación de enzimas lisosómicas que producen graves daños en los tejidos. Se les da hoy tanta importancia a estas últimas acciones que, tanto la IL-1 como el FNT, se les considera como responsables directos de numerosas enfermedades autoinmunes y otras patologías, como el temible shock endotóxico. Los anticuerpos monoclonales correspondientes pueden ser armas eficaces en el tratamiento.

4.- Intervención de la proteína B7 (CD80), localizada en la superficie de la CPA, suministrando una señal a las células T, mediante su unión al receptor CD28 que portan estas. Si falta esta señal, los linfocitos CD4 quedarían inactivados, anérgicos, incapaces de responder al antígeno. Si una CPA carece de B7 funcional, recibirá la señal al receptor pero no la de la CD28. Se está investigando por algunos grupos qué células pueden presentar antígenos sobre las proteínas del CMH sin dar la señal CD28-B7. Quizá sean las células B, que portan muy poca B7, si es que llevan alguna. Puede ser que el organismo para neutralizar los linfocitos autorreactivos acuda a este mecanismo. De otra parte, se ha demostrado que la B7 es una molécula de gran potencia que cuando se inserta en las células de un tumor puede convertir a las mismas en dianas de los linfocitos T citotóxicos. Por esta razón, el descubrimiento de moléculas inmunoestimuladoras, del estilo de la B7, ha renovado el interés de la terapia contra el cáncer. En el melanoma maligno, Boon ha estudiado recientemente una familia de proteínas (MAGE), descubriendo un péptido capaz de provocar un intenso ataque por parte de los Tc-CD8, lo que podría ser un gran paso en el tratamiento de la citada neoplasia.

5.- Intervención del sistema de proteínas G (transductores de estímulos) que actúan como señal para que la IL-1 unida a su IL-1R y el

antígeno unido al complejo TCR-CD3 activen la producción de un vasto conjunto de reacciones bioquímicas, siendo las más importantes la fosforilación/defosforilación de diversos sustratos intracelulares por parte de ciertas cinasas y fosfatasas, la hidrólisis de fosfolípidos de membrana y el aumento de la concentración de iones de calcio en el citoplasma. El resultado final, es la inducción de grupos de genes que intervienen en la fase efectora del linfocito T activado, generándose citocinas, como la IL-2 –clave de la respuesta inmune– y otras, que preceden a la mitosis y a la consiguiente expansión clonal de estas células. Teniendo en cuenta que, dependiente de la función que realizan y las citocinas que sintetizan, los CD4 efectores se dividen en dos subpoblaciones: los Th-1, encargados de coordinar la inmunidad celular, mediante la síntesis de IL-2 y gamma interferón, y los Th-2, encargados de dirigir la respuesta humoral, sintetizando IL-3, IL-4, IL-5 e IL-10.

En contra de lo que puede pensarse, sólo una minoritaria población de CD4 (una célula por cada 10.000) es capaz de responder a un antígeno, número más que suficiente para conseguir una eficaz respuesta inmune, si tenemos en cuenta los fenómenos de blastogénesis o de expansión clonal, antes aludidos. No obstante, en determinadas circunstancias, cuando la estimulación se debe a superantígenos –por ejemplo, la proteína M de *Streptococcus pyogenes* pueden activarse una alta población de CD4 (una por cada cinco células) lo que supone una exagerada producción de anticuerpos por parte de las células plasmáticas que pueden constituir, en el caso de infecciones por la bacteria citada, el desencadenamiento de una fiebre reumática, acompañada o no por una glomerulonefritis. Esta es la razón que explica los altos niveles de antiestreptolisina O que aparecen en estas estreptococias.

En cuanto a los linfocitos B que, como es conocido, están rodeados de inmunoglobulinas de superficie (BCR) con idéntica especificidad en sus fracciones variables (Fab) (el mismo idiotipo), cuando un antígeno penetra en un organismo interreaccionará y activará sólo aquellos clones afines por unión a varias moléculas de anticuerpos, necesitando además de este estímulo inicial la participación de un numeroso grupo de citocinas, producidas por las CPA y las células T activadas, que contribuyen de manera decisiva a la activación, proliferación y formación de células plasmáticas, con un gran retículo endoplásmico rugoso, dedica-

das a la exportación de anticuerpos, específicos para el antígeno, que son la base de la inmunidad humoral. En estas células, se constituyen en su citoplasma millones de puntos de ensamblamiento para la producción de Igs, así como un amplio sistema canalizador para el empaquetamiento y exportación masiva de las mismas (una célula plasmática llega a bombardear hacia el exterior más de diez millones de moléculas por hora).

En recientes experiencias, realizadas por Nossal, cultivando clones de linfocitos B, se ha podido descubrir una propiedad sorprendente de las células B: su facultad de poder pasar de uno a otro isotipo o variedad funcional de Igs, sin cambiar el antígeno al que se unen. Y es que cada clase de anticuerpo tiene su origen en una forma diferente del minigén C, lo que supone también alguna ventaja peculiar, como es el cambio de un isotipo a otro en respuesta a citocinas.

Todas las citocinas involucradas en la activación y proliferación de las células B, son consecuencia de la activación de las CPA y de CD4, de lo que se deduce que estos importantes linfocitos son la clave –los primeros actores– de las respuestas inmunológicas, tanto celular como humoral. Con razón las células CD4 representan casi el 60% de la población T, siendo así comprensible que un déficit acusado de las mismas desemboque en inmunodeficiencias gravísimas. Sirvan de ejemplo, las infecciones por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), la de los felinos (VIF) o el Síndrome de Inmunodeficiencia Combinada que sufren los caballos de raza árabe. Téngase en cuenta además, que la IL-2 es un factor desencadenante de la acción citotóxica directa de los linfocitos TC-CD8, fundamentalmente en la destrucción de células parasitadas por virus –en el contexto de las moléculas de clase I del CMH– aunque, lamentablemente, causen lesiones en la enfermedad autoinmune y sean los principales responsables del rechazo de alotrasplantes.

Es importante reseñar, que en las respuestas adaptativas los linfocitos T y B forman un preciso sistema interactivo. Como ya hemos visto, las células T establecen un contacto estrecho con las células B, estimulándolas y llevándolas a un estado activo que promueve la síntesis de anticuerpos. De otra parte, los linfocitos B, como CPA, procesan, a su vez, los antígenos hasta darles la configuración que induce la pronta

respuesta de las células T. Se ha observado que los linfocitos B pueden inhibir también la acción de los T en condiciones experimentales. Estos mecanismos de retroalimentación positiva y negativa son un sello característico de la organización del sistema inmunitario que debe estar regulado de tal forma que se produzcan intensas respuestas frente a lo no propio y se mantengan bajo estricto control frente a lo propio. Es esencial que, a lo largo de las complejas operaciones que realizan las defensas inmunitarias, los linfocitos permanezcan fieles a las células del organismo, al tiempo que dirigen su agresividad contra lo foráneo, lo ajeno. Se comprende así, que el gran peligro del conflicto autoinmune radica en el descontrol de los linfocitos autorreactivos, capaces de producir lesiones en tejidos y órganos propios que conllevan graves enfermedades.

Es por ello, por lo que el hombre y los animales deben disponer de precisos mecanismos de autotolerancia que frenen la acción linfocitaria antipropio. En este sentido, hoy se conocen numerosas estrategias:

1) El aborto clonal, según la hipótesis de Burnett y Fenner, mediante el cual, en la época embrionaria, serían eliminados los clones no deseados de células T. Los clones de linfocitos B, son incapaces de responder a los antígenos por falta de ayuda de las células T como consecuencia de la delección clonal.

2) Los fenómenos de apoptosis, que tienen lugar a nivel del timo, basados en que en la superficie de los timocitos se encuentra la molécula Fas (producto del gen Fas) que pone en marcha la muerte programada de los linfocitos antipropios, con la participación de células nodriza situadas en la zona medular de los lobulillos tímicos, siendo las armas suicidas las proteasas de tipo ICE (interleukin-1 converting enzyme), porque estructuralmente se parecen a las enzimas transformadoras de la IL-1 que fue el primer miembro del grupo que se descubrió. Cuando estas enzimas se activan destruyen otras proteínas y, con ello, las células. Si se presenta una mutación que deteriore esta molécula o no se produzca, los citados linfocitos pueden causar estragos en muchos órganos diferentes y, en consecuencia, al desencadenamiento de enfermedades autoinmunes sistémicas. Estudios recientes, trabajando con células citotóxicas (CD8), han demostrado que también

estas células asesinas pueden actuar produciendo moléculas que promuevan la muerte por apoptosis, ordenándoles su suicidio.

3) La anergia clonal, a la que pueden dar lugar diferentes situaciones: la falta de síntesis, por parte de las CPA, de IL-1; que no se expresen suficientemente las moléculas del CMH; que se inhiba la proteína B7 o no se una a CD28, con lo cual las células T mueren o quedan inactivas; que no se transmitan los estímulos/señales por parte del sistema de proteínas G; que las prostaglandinas, producidas por macrófagos o por degranulación de mastocitos, aumenten los niveles de AMPc linfocitario, lo que conduce a una inhibición de la blastogénesis y de las células T hiperreactivas y a la no transformación de los linfocitos B a células plasmáticas. Asimismo, la histamina, liberada de mastocitos y basófilos por distintas vías, puede unirse a los receptores H2 linfocitarios, bloqueando la proliferación clonal y la actividad citotóxica de los CD8.

4) La mayor relevancia de la autorregulación inmunológica está representada por la población de linfocitos supresores ( $T_S$  CD8) capaces de producir un factor supresor de IL-2, citocina que, como hemos señalado, gobierna las respuestas. En este sentido, cuando estas tienen tendencia a dispararse o exagerarse, aumenta la tasa de linfocitos  $T_S$  que conduce, lógicamente, a un gran déficit de IL-2, evitándose la acción nociva de las respuestas celulares y humorales. Por el contrario, cuando el nivel de las células supresoras se reduce, las posibilidades de padecer un fenómeno autoinmune son considerables. Ello sin tener en cuenta la hipotética existencia de linfocitos contrasupresores ( $T_{CS}$ ), cuyo aumento lleva al mismo fin.

No deja de ser sorprendente, como la administración de antígenos a «dosis altas» elevan el nivel de  $T_S$  e inducen tolerancia. Este es el objetivo que se intenta conseguir con ciertas y modernas terapias orientadas a administrar a los pacientes cantidades elevadas del autoantígeno atacado, mientras se bloquean transitoriamente los TCR de las células T con los correspondientes anticuerpos monoclonales. Algunos tratamientos de enfermedades autoinmunes basados en estos enfoques han alcanzado ya el estadio de ensayo clínico.

5) La acción supresora de los anticuerpos antiidiotipo que comenzó a tomar forma a comienzos de los setenta, cuando Jerne, del Instituto de

Inmunología de Basilea, avanzó la teoría, según la cual los receptores de los antígenos (fracción Fab de las Igs y TCR-CD3 de los linfocitos T) podrían, a su vez, ser reconocidos por otros receptores situados sobre linfocitos o anticuerpos. Tales grupos químicos, pueden funcionar como epítomos (idiotipos) y provocar la producción de anti-anticuerpos en el mismo animal (anti-idiotipos). Como estos últimos, también poseen los propios determinantes antigénicos característicos, responden con la producción de anticuerpos anti-antiidiotipo, fenómeno que puede continuar de manera indefinida. Sin embargo, debido a que cada respuesta antiidiotípica tiende a ejercer una retroalimentación negativa sobre la respuesta precedente, el efecto que se consigue es una importante función reguladora. Estos planteamientos, han sido estudiados, en los últimos años, por Kerne (Nobel) que ha postulado con lógica que los anticuerpos antiidiotipo son "la imagen interna de los antígenos" lo que ha sentado los fundamentos para el desarrollo de las vacunas idiotípicas.

Sobre las mismas bases, se están realizando experimentos que pueden tener una gran repercusión en el campo de la diabetes, utilizando anticuerpos contra la insulina para producir anti-anticuerpos que reaccionan con los anticuerpos antiinsulina —que aparecen en algunos enfermos tratados con esta hormona— bloqueando así ataques contra la misma. Y lo que es más importante, se ha demostrado que se unen a receptores celulares de la insulina y que, administrados a animales, reducen en estos los niveles sanguíneos de glucosa. Es decir, algunos de los anti-anticuerpos funciona como la insulina.

6) Otros factores inmunorreguladores dignos de mención, están representados por la PCR, que por su efecto inmunosupresor puede prevenir el desarrollo de autoinmunidad contra antígenos intracelulares liberados a partir de un tejido dañado. También, algunos isotipos de la alfa-fetoproteína —una proteína sintetizada en grandes cantidades por el hígado fetal— tiene efecto inmunosupresor para las células T y es capaz de bloquear las moléculas del CMH. De otra parte, los componentes del sistema del complemento desempeñan una función clave en la inmunorregulación. Como es de esperar C3 juega un papel dominante. Las células B, pero no las T, poseen CD35 y, de esta manera, pueden unirse a C3b que bloquea la diferenciación de estos linfocitos; por el contrario, C3a inhibe la actividad de los Th y de las células NK. en

contraste, C5a estimula la respuesta T/B e intensifica la producción de IL-1 por parte de los macrófagos.

Todos estos mecanismos de autocontrol, constituyen el fundamento de un entramado cuyo equilibrio mantiene sanos a los animales. Cuando se rompe, aparece la autoinmunidad y, en consecuencia, la enfermedad autoinmune.

Pero, ¿qué factores pueden desencadenar la alteración de este autocontrol?; ¿bajo qué circunstancias se revela nuestro sistema inmune contra lo propio?; ¿cuáles son los mecanismos precisos de los fallos de la autotolerancia?

Para Cohen, el fenómeno autoinmune, el fallo de la tolerancia, se debe centrar en la carencia de receptores de la célula madre linfopoyética de la médula ósea que permiten a las células B y T reconocer moléculas específicas como dianas del ataque inmunitario. Los receptores van apareciendo a medida que madura dicha célula, lo que dará lugar a que los linfocitos porten en su superficie varias copias de un receptor inmunitario, que les permite conocer una sola molécula o apítopo, constituido por un pequeño grupo de 4 a 6 monómeros. La generación al azar de estos receptores y su separación por selección clonal confieren gran flexibilidad al sistema inmunitario que es el origen del problema: el reconocimiento de lo propio.

Es clásico admitir, que los factores que desencadenan o condicionan una patología autoinmune pueden ser:

a) Hace tiempo que se sabe que las enfermedades autoinmunes, desde el momento que tienen el carácter de individuo y no el de colectividad, poseen un componente genético, como se demuestra estudiando sujetos gemelos idénticos y no idénticos, así como por la asociación entre autoanticuerpos tiroideos, por ejemplo, y anomalías del cromosoma X. De igual modo, se ha observado que los descendientes de pacientes (hombre y perro) que padecen tiroiditis de Hashimoto (hipotiroidismo autoinmune) –que puede ser desencadenada por enterovirus, rubivirus, retrovirus (ev 22) y *Yersinia enterocolitica*– suelen presentar anticuerpos antitiroideos, mientras que los procedentes de individuos afectados de anemia perniciosa (con anticuerpos anti factor intrínscico) presentan

una elevada incidencia de inmunoglobulinas anti las células parietales del estómago que pueden conducir a una gastritis autoinmune.

Otros datos demostrativos acerca de la intervención de los factores genéticos, provienen de la tendencia de estas entidades clínicas a estar asociadas a ciertos antígenos del CMH, como demostraron Mc David y Benaferraf en 1969, tanto de clase I como de clase II, siendo ejemplos significativos la relación, casi del 95%, de la espondilitis anquilosante humana con el antígeno B-27 o la AR con el DR-4 y DR-1, en el hombre. En los animales, esta cuestión no se ha investigado todavía, aunque experimentalmente se han conseguido líneas endogámicas de pollos OS (obesos), de la raza Leghorn, que desarrollan una tiroiditis autoinmunitaria. Se ha observado también que, en los perros, existe un número de asociaciones reconocidas entre patologías autoinmunes y alelos del CMH. Así, en estos animales, la diabetes mellitus autoinmune dependiente de insulina (DADI) está asociada con A3, A7, A14 y B4. En el caballo –como modelo animal más representativo– no se conocen tales asociaciones entre enfermedad autoinmune y los antígenos de histocompatibilidad hasta hoy reconocidos.

b) La frecuencia e incidencia de estos procesos es más frecuente en el sexo femenino que en el masculino, debido a 1) que en las hembras, las células pueden expresar uno u otro de los cromosomas X (efecto Lyon) dando lugar a un mosaicismo celular, que supone la inactivación de un cromosoma en algunas células, mientras que en las demás se inactiva el otro, lo que trae como consecuencia la posibilidad de alteraciones en la autotolerancia, y 2) los factores hormonales, donde los estrógenos –en hembras en edad fértil– por un aumento de la hidroxilación, en posición C-16, del estradiol, conduce a una disminución de la función supresora de los linfocitos T<sub>8</sub>-CD8. Sin embargo, paradójicamente, después de la menopausia, la pérdida de estrógenos conlleva toda una serie de efectos negativos indirectos sobre la morbilidad y mortalidad cardiovascular, ya que contribuye a una elevación de la presión arterial, a un incremento de los lípidos sanguíneos, a la activación de algunos agentes trombogénicos –como el aumento del nivel de fibrinógeno–, a una importante disfunción de los endotelios vasculares y, de otra parte, a una espectacular pérdida de masa ósea que conduce a la osteoporosis.

c) La actividad microbiana –sobre todo, bacterias y virus– que, a nuestro

entender, son importantísimos elementos desencadenantes de muchas patologías autoinmunes. El mimetismo molecular (imitación molecular), mediante el cual muchos microbios, para camuflarse, sintetizan antígenos bastante similares al del hospedador (comunidad antigénica), explica suficientemente como virus, bacterias y protozoos pueden confundir al organismo para tener la vía libre, por lo que el sistema inmunitario, que responde por rutina a la presencia de los agentes patógenos, puede hacerlo también sobre los propios tejidos orgánicos, lo que debe ser crítico a la hora de iniciar la respuesta inmune. Numerosos ejemplos avalan este criterio:

- En el síndrome de Guillain-Barré, caracterizado por una desmielinización que afecta al sistema nervioso periférico a cualquier nivel, incluyendo nervios craneales, raíces nerviosas y sistema nervioso autónomo, donde pueden estar implicados una amplia gama de microbios (citomegalovirus, varicela-zoster, adenovirus 2 humano, virus gripales, virus de la hepatitis A, B y C, VIH, virus encefalíticos y varias bacterias, como *Haemophilus influenzae* tipo B y *Mycoplasma pneumoniae* y *Campylobacter jejuni*), algunos de los cuales pueden tener aminoácidos similares a los de las células oligodendrogiales productoras de la proteína básica de la mielina, apareciendo autoanticuerpos que activan el complemento y forman el complejo atacante que la destruye, condición esencial de esta enfermedad autoinmune humana, donde también se observan infiltrados linfocitarios, especialmente en las áreas perivasculares del nervio. ¿Existe alguna similitud entre este síndrome y la polineuritis equina?. El examen histopatológico de las raíces nerviosas afectadas en esta enfermedad muestra infiltrado mononuclear, fibrosis y desmielinización. Los caballos enfermos presentan anticuerpos contra la mielina que pueden ser el resultado de una respuesta inmunitaria, por mimetismo molecular, a un antígeno vírico persistente (adenovirus equino). Creo que, aunque la etiopatogenia sea todavía especulativa en algunos aspectos, las relaciones son evidentes.

- Las cicatrices de las válvulas auriculoventriculares que pueden dejar como secuela las fiebres reumáticas que sufre el hombre –producidas por algunas cepas de *Streptococcus pyogenes*– son consecuencia de la reacción cruzada entre la miosina del músculo cardíaco y la proteína M (superantígeno) situada en las fimbrias de esta bacteria. Asimismo, las glomerulonefritis estreptocócicas que padecen el hombre y los anima-

les, entre ellos el caballo, por *Sreptococcus equi*, *subespecies equi*, *equisimilis* y *zooepidemicus*— son el resultado de comunidades antigénicas entre las glucoproteínas de pared de estas bacterias y la membrana basal glomerular, lo que conduce a lesiones de la misma.

- En la uveítis recurrente del caballo (oftalmía periódica) —causa principal de ceguera en estos animales—, que puede ser consecuencia de factores hereditarios, hipotiroidismo (poco frecuente en esta especie) y deficiencias metabólicas, la etiología microbiana es también, en algunos casos, la responsable directa. Así, se detectan anticuerpos contra la córnea después de infecciones por *Leptospira interrogans* (serogrupo pomona), por *Borrelia burgdorferi* (en la enfermedad de Lyme), por toxoplasmas, virus gripal A y adenovirus, lo que demuestra una identidad parcial entre la córnea de los équidos y los antígenos de estos microbios. Es interesante destacar, el reciente descubrimiento de una glicoproteína retiniana (antígeno S) que interviene en la patogénesis de esta enfermedad autoinmune en el hombre; no se ha demostrado en el caballo.

- La enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa —bien estudiadas en los humanos— son trastornos inflamatorios crónicos de vías gastrointestinales, con tendencia a remitir y recaer. En la primera —que puede afectar a cualquier parte del tramo gastrointestinal, preferentemente a la región ileocecal— el sistema inmune del intestino responde de un modo exagerado a posibles antígenos dietéticos y, sobre todo, bacterianos (*Mycobacterium paratuberculosis*) con formación de inmunocomplejos y aumento de inmunoglobulinas (IgG) como respuesta al proceso infeccioso. Asimismo, se detecta una disminución de las células NK y de linfocitos supresores, con aumento de los T<sub>C</sub>CD8.

En la colitis ulcerosa, que sólo afecta a colon y, algunas veces, a recto, también se baraja un origen infeccioso, donde podrían estar involucradas algunas bacterias, como *Chlamydia spp* o *Yersinia enterocolitica*.

En los animales, ciertas enteritis granulomatosas de origen microbiano (por *Salmonella spp.*, *Clostridium perfringens*, tipo A y *Clostridium difficile*) pudieran tener alguna relación con las citadas patologías humanas.

- En la hepatitis crónica activa autoinmunitaria, que afecta a mujeres jóvenes o de edad mediana, muchas de ellas con otros trastornos autoinmunitarios (diabetes tipo 1, tiroiditis y glomerulonefritis), se observa una elevación policlonal muy importante de la concentración sérica de IgG y anticuerpos circulantes contra el músculo liso en el 80% de los pacientes con infecciones víricas por citomegalovirus o virus de la hepatitis A, B y C, por antígenos expresados en la superficie de los hepatocitos. En los équidos –donde se diagnostican hepatitis agudas y necróticas de etiología bacteriana (por *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum* y *Clostridium novyi*, tipo B) o por deficiencias de alfa-1 antitripsina– no se ha estudiado todavía esta patología autoinmune.

- En la DMID, enfermedad preocupante en niños, por su gravedad, por su frecuencia y las complicaciones que suelen acompañarla, se observan autoanticuerpos e infiltrados mononucleares contra la células beta de los islotes pancreáticos, productoras de insulina, se sospecha que los factores desencadenantes, en algunas ocasiones, pueden ser de tipo vírico (reovirus y rubivirus).

La diabetes mellitus, descrita en todas las especies animales, es un síndrome que se presenta raramente en los caballos. La de tipo 1 –que no es de naturaleza autoinmune– suele ser secundaria a pancreatitis de origen infeccioso (por *Streptococcus spp.* y *Corynebacterium spp.*). La de tipo 2 –no dependiente de insulina–, propia de animales obesos, es la consecuencia de alteraciones metabólicas-nutricionales o del padecimiento de un Cushing (hiperadrenocorticalismo), debido a tratamientos largos con glucocorticoides o ACTH, a hiperplasia corticoadrenal o a tumores hipofisarios (la forma más frecuente en los équidos).

- En la artritis reumatóide humana, que afecta también a los perros, gatos, elefantes y gorilas, cada día hay más evidencia de una etiología microbiana: por *Mycobacterium spp.*, *Proteus mirabilis*, *Borrelia burgdorferi*, *Propionibacterium acnes*, *Campylobacter jejuni* formas L bacterianas y parvovirus.

En otras especies animales –donde se sospecha el padecimiento de esta grave enfermedad autoinmune sistémica–, algunos microbios, particularmente si permanecen atrapados en el líquido articular durante largo

tiempo, pueden provocar la formación de factor reumatóide (FR) que desencadena el proceso. Este es el caso de *Mycoplasma hyorhinis* y *Erysipelothrix rhusiopathiae*, en cerdos y las bacterias causantes de la artritis infecciosa equina, como *Actinobacillus equuli*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp.*, que producen infiltración linfocitaria y destrucción secundaria del cartílago.

- En el Lupus Eritematoso Sistémico (LES), de gran incidencia en la especie humana –con una relación mujer/varón de 10:1, también señalado en perros, gatos, monos y caballos (se han descrito algunos casos, donde se presenta principalmente como un trastorno dermatológico espectacular), hoy se estima que puede ser desencadenado –además de por factores genéticos, ambientales y hormonales– por fenómenos de imitación molecular en los que estarían involucrados retrovirus, tipo C, y paramixovirus.

- En el síndrome de Sjögren, que padecen hombre, perros y posiblemente los équidos, caracterizado por la afección de las glándulas salivares y lacrimales (queratoconjuntivitis seca), debido a una infiltración linfocitaria y de células plasmáticas –muchas veces secundario a otras enfermedades autoinmunes (AR, LES, dermatomiositis ...)– se ha comunicado recientemente la posibilidad de una etiología vírica por el polifacético virus de Epstein-Barr, un Lymphocryptovirus.

Naturalmente, el mimetismo molecular que, según hemos demostrado, debe tenerse muy presente cuando se estudian estas patologías, no siempre desarrolla actividad autoinmune ya que para que ésta ocurra debe intervenir el tipo de antígeno del CMH que tenga cada sujeto, en el sentido de que una determinada molécula de este Complejo puede unirse a un fragmento mimético del tejido y presentarlo al sistema inmune, mientras que otra puede unirse a un fragmento del microbio, que es atacado, pero no se viola la autotolerancia.

d) Otros elementos etiopatogénicos que conducen al padecimiento de estos cuadros clínicos, entre los que hay que incluir situaciones de estrés (miedo, depresión, traumatismos, intervenciones quirúrgicas y vacunaciones), están representados por:

1) Mayor expresión o aumento incontrolado de las glicoproteínas del

CMH, clase I y clase II, lo que facilita el reconocimiento de autoantígenos por el sistema inmunitario. Desgraciadamente, como se ha demostrado en muchos procesos autoinmunes (síndrome de Guillain Barré, esclerosis múltiple, AR, DMID, tiroiditis de Hashimoto ...), el gamma interferón—que se produce en respuesta a las infecciones víricas, al estrés e, incluso, a la acción estrogénica— dispara dicha expresión, con la posibilidad de estimulación de los linfocitos autorreactivos. Tenemos también en cuenta, que los virus posibilitan la liberación de antígenos secuestrados y que el gamma interferón inhibe la actividad supresora. Por esta evidencia, hoy se están ensayando nuevos planteamientos terapéuticos de la enfermedad autoinmune orientados a disminuir la expresión de las moléculas de histocompatibilidad. En este sentido, los enfermos con esclerosis múltiple se están beneficiando con el tratamiento con el interferón beta-1 recombinante que inhibe tal expresión. No obstante, la terapia con gamma interferón está justificada en las neoplasias ya que facilita la acción citotóxica de los  $T_C$ -CD8 sobre las células cancerosas cuyas moléculas de clase I están, desafortunadamente, muy mal expresadas.

En otro sentido, no conviene olvidar que esta linfocina activa la síntesis de IL-1 y de FNT alfa por parte de los macrófagos que, aunque los dota de mayor capacidad para matar microbios—sobre todo, obligados facultativos— y células oncógenas, estas monocinas son potentísimas mediadoras de los procesos inflamatorios, quizá los más directamente responsables de la gravedad y de los pronósticos sombríos de la enfermedad autoinmune.

2) Declive de la población supresora ( $T_S$ -CD8), por acción del gamma interferón—como ya hemos dicho— o por aumento de las células contrasupresoras (Tcs) que, en condiciones normales, ayudan a regular la respuesta inmune. En las reacciones alérgicas, por ejemplo, está demostrado que la síntesis masiva de IgE se debe a un déficit de origen genético de linfocitos  $T_S$ -CD8 cuya consecuencia es la degranulación de mastocitos y basófilos y el establecimiento de un estado de hipersensibilidad inmediata. Precisamente, los protocolos de hiposensibilización que se realizan en sujetos alérgicos—basados en inyecciones subcutáneas de dosis, progresivamente crecientes, de alérgenos— están orientados a incrementar la tasa de células supresoras, estabilizando sus respuestas inmunológicas.

3) Otras veces las reacciones autoinmunes pueden ser la consecuencia de la emergencia en las células orgánicas o en las inmunoglobulinas de epítomos ocultos que se detectan como extraños. Puede servir de ejemplo, la aparición de anticuerpos antimitocondriales tras sufrir un infarto de miocardio o la presencia del factor reumatóide, en la AR y otras conectivopatías (LES), que no es más que un anticuerpo (IgM, IgG, IgA, IgE) dirigido contra la Fc de la inmunoglobulina anti IgG que está formado complejo con IgG. En estos casos, la fracción Fab de las anti IgG queda estabilizada frente al antígeno, pero en la fracción cristalizable aparecen nuevos factores antigénicos (epítomos) que reaccionan con el FR.

Teniendo en cuenta todo lo dicho, es fácil comprender que la patogenia de la enfermedad autoinmune obedece a mecanismos incontrolados humorales y celulares. Como quiera que los mismos se desencadenan de manera simultánea e interrelacionada, se debe admitir que estas patologías obedecen a los dos tipos de respuesta, aunque en algunas tengan más protagonismo la acción de los anticuerpos y, en otras, las reacciones celulares.

Todas tienden a distribuirse dentro de un amplio espectro –al menos en el hombre– que abarca desde las enfermedades organoespecíficas, que afectan solamente a un órgano diana (tiroides, suprarrenales, estómago, páncreas...), hasta las no organoespecíficas o sistémicas (conectivopatías), en las que están implicados muchos tejidos del organismo (músculos, riñones, piel, vasos, articulaciones...), como ocurre en el LES, AR, enfermedad mixta del tejido conectivo, granulomatosis de Wegener, etc.

Los mecanismos de las lesiones inmunológicas, se deben a reacciones de hipersensibilidad de tipo I, II, III y IV, variando según la localización de la enfermedad dentro del espectro.

Por lo que respecta a los équidos y bovinos, la hipersensibilidad inmediata (tipo I) interviene en casos excepcionales que carecen de interés práctico. Ocurre, cuando se retrasa la lactación en las yeguas o en las vacas, lo que puede acarrear un aumento de la presión intramamaria, con paso de la caseína alfa de la leche a la sangre, con aumento de la tasa de IgE y el desarrollo posterior de una reacción anafiláctica.

La hipersensibilidad citotóxica (tipo II), debida a anticuerpos IgG e IgM, que activan el sistema del complemento, es el mecanismo patogénica responsable de algunas enfermedades organoespecíficas, como la anemia hemolítica autoinmune, la trombocitopenia autoinmunitaria, el pénfigo vulgar o foliáceo y ciertas reacciones contra los glomérulos renales.

En la primera, que se suele observar en caballos con enfermedades malignas (linfosarcomas y melanomas), y que pueden desencadenarla infecciones víricas (virus de la anemia infecciosa), fármacos e, incluso, algunos desequilibrios hormonales en hembras gestantes, se producen autoanticuerpos frente a los hematíes del propio sujeto, que pueden reaccionar a temperatura corporal (IgG) o a temperaturas bajas (IgM) –anticuerpos fríos–, que activan el complemento. Esto conduce a trastornos hemolíticos graves cuando se enfría la sangre en zonas expuestas al frío (dedos, orejas, cola...), ocasionando también, a estos niveles, estenosis vascular, isquemia tisular y necrosis. Algunas veces, las anemias hemolíticas son debidas a infecciones subyacentes por *Clostridium perfringens*, por *Enterococcus faecalis* o por *Leptospira interrogans* (en ovejas).

En la trombocitopenia autoinmune (púrpura hemorrágica equina), en la que pueden estar comprometidos *Streptococcus equi* y el virus de la influenza, el número de plaquetas desciende espectacularmente (de 100.000 a 20.000 por microlitro de sangre) por anticuerpos dirigidos contra ellas. Esto supone un serio descontrol en el sistema de coagulación sanguínea, con formación de petequias hemorrágicas en piel, conjuntiva y encías, principalmente.

En el pénfigo foliáceo –la enfermedad autoinmune más frecuente en el caballo–, los autoanticuerpos van dirigidos contra el cemento intracelular de la epidermis que conduce a una acantolisis. No ocurre así con el pénfigo vulgar, que padece el hombre, perro y gato, que se considera como el más grave de los trastornos cutáneos vesiculares.

Se pueden observar también reacciones de tipo II, cuando se producen autoanticuerpos frente a la membrana basal de los glomérulos renales. Estas Igs, por su Fc, pueden activar el complemento, por la vía clásica, produciendo C3<sub>a</sub> y C5<sub>a</sub>, que por su acción quimiotáctica y anafilotóxica,

producen infiltración fagocitaria y degranulación de mastocitos y basófilos, con producción de sustancias vasoactivas, prostaglandinas y leucotrienos de gran poder inflamatorio. Asimismo, se unen a receptores de neutrófilos y macrófagos provocando una «fagocitosis frustrada», con exocitosis y liberación de enzimas lisosómicas que dañan los glomerulos produciendo glomerulonefritis. Como quiera que se ha demostrado comunidad antigénica entre la membrana basal glomerular y la de los alveolos pulmonares, los autoanticuerpos pueden reaccionar cruzadamente, dando lugar también a hemorragia pulmonar (síndrome de Goodpasture).

En las enfermedades no específicas de órganos, la realmente responsable de los cuadros lesionales es la hipersensibilidad de tipo III, caracterizada por la formación crónica de inmunocomplejos sistémicos, con la intervención del complemento y el correspondiente déficit del mismo, sobre todo de C3. Así, en el LES, se originan por autoanticuerpos dirigidos contra antígenos nucleares y citoplasmáticos, causando manifestaciones musculoesqueléticas, cardíacas, digestivas, cutáneas, neurológicas, renales, vasculitis, síndrome de Sjögren, etc. En la AR, los complejos se forman entre el FR (anticuerpo) e IgG (antígeno), provocando artritis, nódulos reumatoides, vasculitis, afecciones neurológicas, renales y anemia. De otra parte, los inmunocomplejos pueden producir granulomas, como ocurre en el síndrome de Wegener, en el que puede jugar un papel etiológico *Staphylococcus aureus*, que cursa con una vasculitis granulomatosa necrotizante (arterias medias y pequeñas) del tracto respiratorio superior e inferior, glomerulonefritis y compromiso sistémico variable. El reciente descubrimiento de los anticuerpos anticitoplasmáticos de los neutrófilos (ANCA) ha abierto un nuevo camino en el diagnóstico y pronóstico de esta enfermedad –que se sospecha en el caballo– y en la comprensión y clasificación de las vasculitis que afectan a las arteriolas de pequeño tamaño y a los capilares.

La reacción tipo IV, de base celular, juega un papel en la tiroiditis autoinmune de Hashimoto, en la cual no sólo se producen anticuerpos contra la tiroglobulina –principal proteína yodada del tiroides– sino también infiltración fagocitaria y linfocitaria, en la cual las células CD4 producen linfocinas de tipo MIF (factor inhibidor de macrófagos), propias de las reacciones celulares. De igual manera, los T<sub>c</sub>-CD8 pue-

den destruir las células del colon (enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa), las células musculares estriadas (dermatomiositis) o las de los islotes pancreáticos, en la diabetes tipo 1.

A medida que la investigación avanza, se incorporan nuevas enfermedades a la gran lista conocida –desde luego en el hombre– que constituye el espectro. La patogénesis autoinmune es mucho más frecuente de lo que en realidad pensamos. Este es el caso de la enfermedad de Alzheimer –demencia senil por atrofia cerebral global– en la que la etiología autoinmune, asociada a potenciales alteraciones genéticas, parece ser el principal factor desencadenante, al comprobarse que factores endógenos dan lugar a una destrucción del esqueleto neuronal y de la arquitectura de las membranas celulares ocasionando la exposición de epítomos asociados de membrana que serían reconocidos por las células de microglia (macrófagos), que una vez activados, inducirían la síntesis de IL-1 y de FNT disparándose una cadena de episodios necróticos cuyo fin común sería la destrucción de las neuronas.

Asimismo, teorías recientes postulan el origen inmunológico de las placas de ateroma en la arterioesclerosis, donde pueden jugar un papel importante algunos microbios (virus del herpes simple 1 humano y citomegalovirus), ya que las agresiones al endotelio dan lugar a una respuesta inflamatoria y fibroproliferativa, con finalidad reparadora, que al ser excesivamente intensa o prolongada producirá la lesión ateromatosa. Se ha comprobado que las células endoteliales lesionadas expresan glicoproteínas de membrana, de tipo integrinas (ICAM - 1, VACM-1) y selectinas (E) a las que se adhieren los monocitos y linfocitos T circulantes, favoreciendo la diapedesis, la producción de citocinas y el paso de lipoproteínas al interior de la pared arterial que al oxidarse (a través de la vía de la ciclooxigenasa) acumulan colesterol y progresan hasta formar la placa de ateroma. Si se demuestra la vinculación real de la autoinmunidad con la aterosclerosis, las terapias encaminadas a la supresión de las células T indeseables y sus mensajeros químicos podrían disminuir la gravedad de las enfermedades cardiovasculares a las que se deben en el mundo industrializado la mitad de las muertes.

El **diagnóstico** de los procesos autoinmunes, puede ser un verdadero problema para el médico y, más aún, para el veterinario, ya que exige

un exhaustivo estudio clínico, donde los métodos físicos –radiográficos, resonancia magnética, tomografía axial computadorizada, endoscopias, potenciales evocados, etc.– tienen un valor trascendental, acompañado de una investigación inmunológica que supone una importante infraestructura laboratorial y una gran preparación técnica. A este respecto, la presencia de autoanticuerpos contra los propios antígenos celulares es un hallazgo común, ante todo, en las enfermedades sistémicas autoinmunes. En ocasiones, las estructuras antigénicas que se reconocen no sólo están presentes en el núcleo, sino también en el citoplasma. De aquí, que la determinación de los anticuerpos antinucleares (AAN) es útil en el diagnóstico y seguimiento de estos procesos. Técnicamente, en cualquier fenómeno autoinmune, bien sea organoespecífico o no específico de órgano, se producen AAN, aunque es en estos últimos donde cualitativa y cuantitativamente tienen todo su valor.

Tradicionalmente, los resultados se expresan por el título del suero, es decir, por la mayor dilución del mismo que produce un patrón determinado de fluorescencia –que no detecta los antígenos diana específicos– que se asocia a diversos síndromes autoinmunes. Para estudiarlo, se utiliza la inmunofluorescencia indirecta (IFI), empleando como antígeno cortes histológicos de hígado o riñón de rata, esófago de mono o líneas celulares humanas (Hep-2). Estos patrones, pueden tener utilidad clínica pero no diagnóstica y se dividen en: 1) Patrón homogéneo o difuso, debido a la presencia de anticuerpos anti DNA-histonas, responsables del fenómeno LE (presencia de leucocitos neutrófilos con núcleos fagocitados procedentes de otros polimorfonucleares que han sido alterados por AAN). Es frecuente en el LES y en otros procesos autoinmunes. 2) Patrón periférico, que detecta anticuerpos anti DNA<sub>n</sub> (nativo o de doble cadena). Es muy específico del LES. 3) Patrón moteado (punteado); traduce la presencia de anticuerpos contra diversas proteínas nucleares (no histonas) extraíbles en condiciones salinas. Este patrón puede ser grueso (el clásico) o fino, cuando hay presencia de anticuerpos anticentrómero en una determinada fase del ciclo celular. Se puede observar en un gran número de cuadros entre los que sobresalen el LES, AR, síndrome de Sjögren y enfermedad mixta del tejido conectivo. 4) Patrón nuclear. Indica la presencia de anticuerpos contra el ARN nuclear. Se observa, entre otros cuadros, en el síndrome de Sjögren, LES y esclerosis sistémica progresiva (esclerodermia).

Una vez investigado el patrón, el paso siguiente es detectar el tipo o los tipos de AAN, frente a los antígenos nucleares específicos (timo de becerro o conejo, bazo humano, estómago de rata, piel humana, músculo cardíaco e incluso ciertas líneas de células B humanas, infectadas por el virus de Epstein-Barr, muy útiles para la investigación de los anticuerpos RANA (Reumatoid Arthritis Nuclear Antigen), patognomónicos de la AR. Para ello se utilizan métodos serológicos como IF, ELISA, RIA, contraelectroforesis, etc.

Si se tiene en cuenta que, al menos en el hombre, se conocen numerosísimos AAN distintos –más o menos específicos de un proceso autoinmune determinado– los substratos antigénicos necesarios y sus protocolos de investigación, se comprende la dificultad diagnóstica que muchas veces tiene la enfermedad autoinmune.

Otra determinación rutinaria es la detección y cuantificación del FR, que se ha considerado durante muchos años como el indicador clásico de la AR, donde desempeña un papel importante en su patogenia. Por lo general, la mayoría de los sujetos con enfermedad orosiva grave, nódulos reumatóides y manifestaciones extraarticulares (vasculitis, neuropatías, afectación ocular, renal, etc.) tienen títulos elevados de FR. Sin embargo, en cerca del 10-20% de los pacientes se obtienen resultados negativos. También se puede detectar, como indicador inespecífico, en otras enfermedades, tales como neoplasias, infecciones (endocarditis bacterianas, tuberculosis...), LES (30%) y síndrome de Sjögren (90%). Cuando es de tipo IgE puede provocar la degranulación de mastocitos y estar presente en altas concentraciones en los cuadros de vasculitis grave.

Asimismo, como ya hemos señalado, la determinación de los ANCA, ha abierto un nuevo camino para el estudio de las glomerulonefritis inmunonegativas que acompañan a las vasculitis tipo Wegener, o a las poliarteritis de vasos pequeños. Utilizando la IF, a partir de 1988, se han descrito dos patrones de inmunotinción: 1) Patrón c-ANCA (citoplasmático) que reacciona con el antígeno serina-proteasa (PR3), enzima lisosómica localizada en los gránulos azurófilos o primarios de los neutrófilos y en los lisosomas de los macrófagos activados; es característico de la granulomatosis de Wegener, y 2) el patrón p-ANCA (perinuclear), que reacciona con la mieloperoxidasa de los citados grá-

nulos y, con menos frecuencia, con otros antígenos lisosomales, como son la elastasa, lactoferrina y la catepsina; está relacionado con la poliartritis microscópica, síndrome de Goodpasture, LES y colitis ulcerosa.

Es interesante destacar que los procesos detectados por los ANCA, son la consecuencia de una respuesta inmune T dependiente ante antígenos de origen microbiano, dada la frecuente asociación con un antecedente de infección de vías respiratorias altas, la estacionalidad preferente invernal de las afecciones vasculíticas y la supuesta eficacia de ciertos antimicrobianos (cotimoxazol) como medida preventiva de las recaídas de los pacientes con enfermedad de Wegener. Se estima, a este respecto, que el agente microbiano, junto con otro componente de tipo autoinmunitario, produciría autoanticuerpos ANCA frente a los antígenos liberados por el proceso inflamatorio, uniéndose estos anticuerpos a las enzimas lisosómicas de los neutrófilos activados que reestimarían al leucocito produciéndose una mayor síntesis y degranulación de las mismas. Si esto es así, la actividad enzimática se vería prolongada y su capacidad necrotizante incrementada.

Conocidos los mecanismos patogénicos de la enfermedad autoinmune, consecuencia de las respuestas exageradas y extrañas frente a componentes propios, que conducen a cuadros clínicos graves o muy graves, de difícil curación, se debe comprender que el **tratamiento** de tales patologías –largo, costoso y no exento de graves complicaciones– iría siempre orientado al empleo crónico de antiinflamatorios y agentes inmunosupresores, tales como los AINES (aceclofenaco, nabumetona, ácido acetilsalicílico, meloxicam...), esteroides (prednisona, prednisolona...), ciclofosfamida, azatioprina, ciclosporina y derivados del ácido micofenólico. Se consigue así el control de la enfermedad, debiendo establecerse un serio seguimiento de la misma –clínico e inmunológico– que evalúe remisiones y recidivas.

Creo que se está avanzando bastante en el estudio e instauración de nuevas terapias más efectivas y menos agresivas que las citadas. El empleo de anticuerpos monoclonales anti IL-1, anti FNT, antiTCR, como, asimismo, la búsqueda de agentes que depriman la expresión de las moléculas de clase II, como el beta 1 interferón, ofrecen perspectivas muy prometedoras. De otra parte, la plasmaféresis –muy difícil de

aplicar en los animales— se está imponiendo, sobre todo, en el tratamiento de las formas más severas y especialmente en aquellas que cursan con insuficiencia renal.

En fin, en el tratamiento de las enfermedades autoinmunes está muy claro que es preciso abolir o al menos restringir la actividad del sistema inmune. El ideal sería la elaboración de fármacos que atenúen la respuesta frente a los antígenos propios y no impidan la reacción de los organismos ante las enfermedades infecciosas. Este es uno de los desafíos más importantes de la moderna inmunología.

Para terminar, quisiera hacer algunas reflexiones sobresalientes, basadas en lo expuesto a lo largo de esta lección:

1.<sup>a</sup> Las respuestas inmunes específicas e inespecíficas, sobre todo las primeras, obedecen a complejos mecanismos que, aunque todavía no estén, en algunos aspectos, suficientemente esclarecidos, son el fundamento para comprender el fenómeno autoinmune en el hombre y en los animales.

2.<sup>a</sup> El espectro de las enfermedades autoinmunológicas es cada día más amplio y variado en el ser humano. No ocurre así, por ahora, en los animales. Se están realizando notables esfuerzos en la investigación veterinaria que, a medio plazo, permitirán conocer mejor estas patologías y, en consecuencia, aumentar la lista de las mismas.

3.<sup>a</sup> Su diagnóstico no está exento de dificultades y, en el terreno veterinario, el problema es aún más real. Disponer de un buen arsenal de técnicas físicas e inmunológicas es el reto que tenemos planteado. Sin olvidar que la base de todo diagnóstico es la historia clínica, debiendo esforzarnos en recoger el máximo de síntomas y signos y sistematizarlos de forma adecuada. Sólo cuando se ha hecho esta recopilación de datos pueden plantearse las posibles alternativas diagnósticas de la enfermedad autoinmune.

4.<sup>a</sup> El pronóstico, en muchos casos, es bastante sombrío. Los tratamientos presentes y, sobre todo, los futuros permitirán, no sólo mejorar notablemente la calidad de vida de los pacientes, sino también conseguir remisiones espectaculares.

Majestades, quizá influenciado por nuestra condición de microbiólogo, estoy convencido del gran protagonismo que tienen los microbios como factores desencadenantes de estos procesos. No nos extraña, a fin de cuentas forman parte de nosotros mismos. La vida no es posible sin su presencia; si no fuera por la actividad de los microbios en diferentes ciclos biogeoquímicos se acabarían algunos elementos esenciales y la vida se pararía, aunque algunos, al hacerse parásitos de nuestros organismos, nos molesten y nos causen enfermedades graves, entre ellas las autoinmunes. Y es que, con razón, fueron los primeros que aparecieron en el planeta Tierra, hace ya unos 3.500 millones de años. Fueron las Arqueas –según se ha demostrado estudiando tapetes microbianos fosilizados encontrados en rocas sedimentadas australianas y africanas– y tengan la seguridad que serán los últimos en abandonarla.

He dicho.