



**FACULTAD DE FARMACIA**  
**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**Respuesta inmune en esclerosis múltiple**

Autor: Miguel Escario Gómez

Tutor: Marta Roderó Martínez

Convocatoria: Julio 2018

## **Resumen**

La comprensión de la base inmunopatológica de la Esclerosis Múltiple (EM), una enfermedad desmielinizante de carácter autoinmune, se ha convertido en un auténtico reto para la comunidad científica, debido a la gran complejidad de los mecanismos responsables de la alteración de la respuesta inmune. Inicialmente la EM ha sido caracterizada como una enfermedad mediada por linfocitos T, considerando a estas células como las principales responsables de la inflamación crónica del sistema nervioso central (SNC) asociada a esta patología. Sin embargo, estudios recientes han destacado el papel de otras poblaciones celulares del sistema inmune, como los linfocitos B o las células NKT en su etiología, lo que obliga a replantearse ciertas consideraciones sobre la patogénesis de la enfermedad. En esta revisión se tratará de abordar el papel de las diferentes células inmunitarias en la fisiopatología de la EM, describiendo la contribución de las diferentes poblaciones celulares tanto en el inicio como en la progresión de la enfermedad.

## **Introducción y antecedentes.**

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad inflamatoria desmielinizante caracterizada por la inflamación crónica del sistema nervioso central (SNC). Esta enfermedad suele presentarse en adultos jóvenes, y en nuestro medio, supone la segunda causa de discapacidad en esta población, tras los traumatismos. Afecta a más de 2,5 millones de personas en el mundo, y a alrededor de 46000 personas en España (1). Con respecto a su prevalencia, se observa una distribución desigual, con cifras que oscilan entre los 3 casos/100000 habitantes en regiones tropicales como África Subsahariana y los 100 casos/100000 habitantes en regiones templadas como Europa y América del Norte (2).

Desde hace muchos años se ha clasificado a la EM como una enfermedad autoinmune, pero su etiología precisa se desconoce. En base a los datos procedentes de estudios genéticos y epidemiológicos, se pueden considerar que la EM se presenta en individuos predispuestos genéticamente sobre los que actúa un factor ambiental de origen desconocido, en etapas tempranas de la vida (3). En relación con la base fisiopatológica de la EM, se considera indiscutible la participación del sistema inmune tanto innato como adaptativo en el inicio y progresión de la enfermedad. Mientras que el primero se ha relacionado típicamente con los episodios agudos (brotos), la inmunidad innata estaría más relacionada con la fase progresiva

de la enfermedad (4). Concretamente se piensa que la EM se produce como consecuencia de una respuesta autoinmune en el SNC de individuos genéticamente susceptibles frente a uno o varios antígenos persistentes no identificados.

Se ha comprobado que algunos agentes infecciosos pueden desencadenar o exacerbar las enfermedades autoinmunes por distintos mecanismos (5), aspecto que está siendo estudiado en la EM (6). Según esta teoría, algunas bacterias o virus podrían estar asociados al desarrollo de la EM y otras enfermedades autoinmunes, a través de un proceso denominado mimetismo molecular, produciéndose una respuesta autoinmune como consecuencia de la reactividad cruzada entre moléculas propias y antígenos de esos microorganismos (7,8). Recientemente se han identificado nuevos componentes de mielina que pertenecen a una familia de glicosfingolípidos con una única acetilación en la posición 3-O de la esfingosina. Se han caracterizado 7 nuevos derivados de la galactosilceramida (GalCer) que se han denominado “cerebrósidos de migración rápida”, o FMCs por sus siglas en inglés (9). Los FMCs tienen similitud estructural con los acil y/o acetil carbohidratos del lipopolisacárido (LPS) y otros glucolípidos encontrados en la superficie de muchas bacterias, por lo que son antígenos candidatos a inducir la inflamación autoinmune en el SNC (4). De esta forma, y aunque se desconoce el mecanismo detallado que explique la pérdida de la tolerancia inmunológica, el mimetismo molecular (7) y/o poliespecificidad (10) de los antígenos lipídicos microbianos y los FMCs podría explicar cómo una respuesta inmune, inicialmente protectora, se convierte en una respuesta autoinmune. En su trabajo, Maria Podbielska *et al.*(9) identificaron reactividad cruzada entre el autoantígeno endógeno FMC-7 y los antígenos microbianos MfGL-II de *Mycoplasma fermentans* y el J5 LPS de *Escherichia coli*. Además, demostraron que existe una mayor reactividad anti-FMC en el líquido cefalorraquídeo (LCR) de pacientes con EM, en comparación con uno de los grupos control, conformado por pacientes con enfermedad neurológica no inflamatoria, aunque la reactividad anti-FMC en pacientes con EM fue menor que en el segundo grupo control, que incluía pacientes con enfermedad neurológica inflamatoria de etiología infecciosa. Estos hallazgos sugieren una correlación entre la infección por *Mycoplasma* y /o *E. coli* J5 y los trastornos desmielinizantes (9), lo que requiere una mayor caracterización.

Existe una segunda teoría que se basa en la falta de respuesta Ag-específica, destacando la importancia de la activación “bystander” de las células del sistema inmunitario, como consecuencia de la liberación de citoquinas inflamatorias durante la infección por parte de macrófagos activados. Como consecuencia de dicho proceso, se produce activación de

clones de linfocitos T por Ags diferentes de los que inicialmente desencadenaron la respuesta inmunitaria, generándose linfocitos T autorreactivos que dirigen la respuesta inmunitaria frente a antígenos propios del individuo (autoantígenos), como ocurre en el caso de la EM. Esta respuesta inmunitaria alterada también podría deberse a una mayor activación de células presentadoras de antígeno (CPAs) a través de receptores tipo Toll (TLR), o a la activación de células T por superantígenos en lugar de por Ag específicos. El mimetismo molecular, la activación bystander y la activación de células T por superantígenos son algunos de los mecanismos propuestos como base fisiopatológica de muchas enfermedades autoinmunes, y podrían desempeñar un papel clave en la patogénesis de la EM (4). Cabe destacar que dichos mecanismos no se consideran excluyentes, sino complementarios, pero la contribución de cada uno de ellos en el inicio y progresión de la EM se desconoce. Trabajos recientes han postulado que existe una gran probabilidad de que la infección desempeñe un papel clave en el inicio de la enfermedad, pudiendo existir, además de la reactividad cruzada asociada al proceso infeccioso, otros mecanismos que amplifiquen la respuesta inmune alterada.

## **Objetivos**

El objetivo de este trabajo consiste en profundizar en los mecanismos subyacentes de la inmunopatología de la EM, mediante una revisión bibliográfica exhaustiva de los principales componentes del sistema inmunitario cuya alteración se considera responsable de la patogénesis de la enfermedad.

## **Metodología**

Para la realización del presente trabajo se han consultado numerosos artículos, ensayos, tesis doctorales y trabajos de fin de máster, tanto en inglés como en español. Las bases de datos utilizadas para la revisión de dichos artículos han sido PubMed, Google Académico, Medline y Science Direct, entre otras. Algunos de los términos empleados para la búsqueda bibliográfica han sido “esclerosis múltiple”, “encefalomielitis autoinmune experimental”, “enfermedad autoinmune”, “inmuno patología”, “mimetismo molecular”, “galactosilceramida”, “desmielinización”, “células NKT” o “FMCs”.

## Resultados y Discusión

Este capítulo se ha estructurado presentando los últimos avances en el conocimiento de cómo diferentes componentes del sistema inmunitario contribuyen a la patogénesis de la EM.

### Células Th1 y Th17

Inicialmente se consideró que la respuesta autoinmune estaba mediada principalmente por linfocitos CD4+ autorreactivos, al observarse la presencia de células T activadas en los focos inflamatorios y en base a la observación de que la encefalomielitis autoinmune experimental (EAE), el modelo animal de la esclerosis múltiple, puede inducirse mediante la transferencia de células T reactivas frente a la mielina (11). Por esta razón, los linfocitos CD4+ han sido la principal población investigada en relación con la EM durante años.

Tras la estimulación antigénica, los linfocitos CD4+ se expanden y se diferencian en distintas subpoblaciones celulares, caracterizadas por la producción de diferentes citoquinas. Así, los linfocitos Th1, las células CD4+ que clásicamente se han relacionado con la respuesta inflamatoria, liberan mediadores como el TNF- $\alpha$  e INF- $\gamma$  que desencadenan la activación de macrófagos y microglía, los cuales secretan quimioquinas que inducen el reclutamiento de otros linfocitos T CD4+, linfocitos B, linfocitos T CD8+ y monocitos hacia el SNC (Fig. 1).

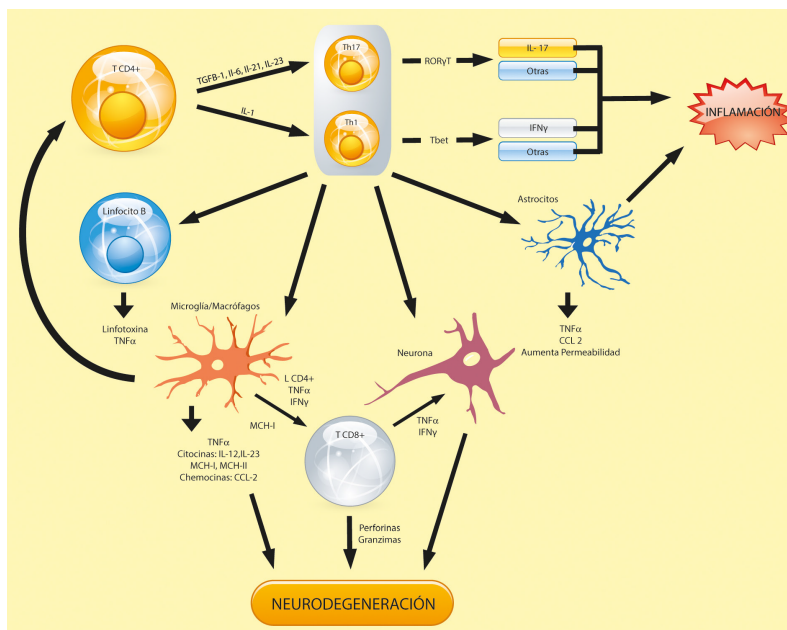


Figura 1. Vías inmunológicas de la inflamación y neurodegeneración de la EM. Tomado de Quintana et al. (12)

Estas células promueven la desmielinización y el daño de oligodendrocitos y neuronas. Aunque no está claro el origen de las células T que promueven la respuesta inflamatoria en el SNC, algunos estudios sugieren que son reclutadas desde la periferia (13). Además de las

células Th1, cada vez es mayor la evidencia de la participación de las células Th17, un subtipo de linfocitos T cuya activación está mediada principalmente por las citoquinas IL-23, IL-6 y TGF- $\beta$ , y que se caracteriza por la producción de la citoquina proinflamatoria IL-17A y la expresión del factor de transcripción ROR $\gamma$ t (14). En el modelo murino de la EM, la EAE, se ha observado que los ratones con alteraciones del perfil de respuesta IL-12/ Th1 no mostraban resistencia frente al desarrollo de la enfermedad (e incluso desarrollaban una enfermedad más grave) (15), mientras que los ratones que carecían de alguno de los componentes del eje IL-23/Th17 eran resistentes a la EAE (16). En un estudio publicado en 2009 por Yang *et al.*(17), se demostró que el factor de transcripción T-bet, que junto con la producción de IFN- $\gamma$  se utiliza para caracterizar a las células Th1, es el factor que determina la patogenicidad de las células Th1 y Th17 en la EAE, sugiriendo que la patogenicidad de las células T específicas de mielina a nivel del SNC estaría mediada por una vía dependiente de ese factor de transcripción, y no necesariamente por los productos finales de la vía, como el IFN- $\gamma$  o la IL-17 (17). En esta misma línea, el trabajo de Brucklacher-Waldert *et al.*(18) demuestra la mayor producción de IL-23 por células dendríticas (CDs) y de IL-17 por células T en pacientes con EM en comparación con controles sanos (detectándose un incremento de IL-17 y células Th17 tanto en sangre periférica como en el SNC durante las recaídas), así como el mayor número de células mononucleares positivas para el mRNA de IL-17A tanto en sangre periférica como en el líquido cefalorraquídeo (LCR) en pacientes con EM en comparación con controles sanos. Curiosamente se ha demostrado que los linfocitos Th17 atraviesan la barrera hematoencefálica (BHE) de forma más eficiente que cualquier otra población de células T (19). Además la IL-17 podría causar un mayor daño a la BHE favoreciendo la infiltración de otras citoquinas y células inmunitarias. Por otro lado, la IL-17 induce la producción de otras citoquinas proinflamatorias como IL-21 e IL-22 que pueden causar daño neuronal (4). En definitiva, parece probable que las células Th17 estén implicadas en la patogénesis de la EM. Sin embargo, no se debe olvidar que si bien el tratamiento con un Ac dirigido frente a la subunidad común de IL-12 e IL-23 podría prevenir la EAE en roedores y primates no humanos (20), el uso de *ustekinumab*, un Ac dirigido frente a la misma subunidad de la citoquina humana, no demostró su eficacia en un ensayo clínico en pacientes con EM remitente recurrente (EMRR)(21), aunque sí mejoró el estado de pacientes con enfermedad de Crohn y psoriasis, otros procesos inflamatorios de origen autoinmune que han sido relacionados con una desregulación del perfil de respuesta Th17 (18).

## **Células Th22 y Th9.**

Investigaciones recientes señalan la existencia de otros perfiles de linfocitos CD4+ en el hombre diferentes a los perfiles “clásicos”, y que podrían estar implicados en la fisiopatología de la EM. Entre estas nuevas poblaciones de células CD4+ se encuentran las células Th22 y Th9, que presentan perfiles de secreción de citoquinas característicos. Las células Th22 se han relacionado con las células Th17, ya que al igual que éstas, producen IL-22. Sin embargo, las Th22 no producen IL-17A, IL-17F ni IFN- $\gamma$ , y tampoco expresan los factores de transcripción propios de las células Th17, si no que están especializadas en la producción de IL-22, aunque también producen IL-13 y TNF- $\alpha$  (22). Se han descrito mutaciones relacionadas con la respuesta de células Th22 que aumentan el riesgo de desarrollar EM. Entre ellas, se ha identificado un polimorfismo que afecta a un único nucleótido (SNP) del receptor de IL-22 (IL-22RA2) como un gen de riesgo tanto para la EM como la EAE. Además, la IL-22 y sus receptores se han relacionado con la inflamación crónica, lo que sugiere que el IL-22RA regula una vía inmune central (23). Se ha observado, al igual que para las células Th17, un incremento de las células Th22 en pacientes con EMRR, tanto en sangre periférica como LCR, especialmente durante las fases activas de la enfermedad (24). Este incremento también ha sido descrito en pacientes con neuromielitis óptica (NMO) (25), lo que apoya la implicación de las células Th22 en la neuroinflamación. A diferencia de las células Th17, la expansión de las Th22 se produjo antes de las fases activas de la enfermedad. Otra diferencia importante entre las células Th22 y Th17 es que las primeras son insensibles a la inhibición mediada por el IFN- $\beta$ , lo que tiene importantes repercusiones clínicas ya que la expansión de las células Th22 en la EM podría ser el factor clave que determina la resistencia al tratamiento con IFN- $\beta$  (24), una de las terapias de primera línea utilizados actualmente en la EM. En cualquier caso y a pesar de la aparente relación entre las células Th22 y neuroinflamación, se requiere más investigación en este campo para conocer los mecanismos que expliquen la relación entre esa población celular y los distintos trastornos neuroinflamatorios, incluida la EM.

Con respecto a las Th9, que son células especializadas en la producción de IL-9, y en el contexto de la EAE, se ha observado que los ratones deficientes en IL-9 desarrollaron una enfermedad menos grave en comparación con los controles, con una menor infiltración de células inmunitarias en el SNC, menores niveles de expresión de las citoquinas Th17 e IFN- $\gamma$ , y un aumento de la citoquina antiinflamatoria IL-10 (26). Jäger *et al.* (27) demostraron que era posible inducir la EAE en ratones mediante la transferencia celular adoptiva de células

Th1, Th17 y Th9 específicas de la glucoproteína de oligodendrocitos de mielina (MOG), pero no de células Th2 reactivas frente a la MOG. Cada una de esas tres subpoblaciones desencadenó una enfermedad con características patológicas diferentes, lo que demostraría, por un lado, que las subpoblaciones Th1, Th17 y Th9 efectoras y con especificidad para Ags de mielina son capaces de desencadenar reacciones inflamatorias de origen autoinmune en el SNC, y por otro, que la heterogeneidad de las manifestaciones clínicas de la EM podría deberse, al menos en parte, a la diferente contribución de las distintas células T efectoras reactivas frente a la mielina (27).

### **Células CD8+**

Aunque el papel de las células CD8+ en la patogénesis de la EM está lejos de esclarecerse, es posible que la implicación de dicha población celular en las enfermedades desmielinizantes se haya subestimado durante años. Se ha propuesto en trabajos anteriores que mientras las células CD4+ estarían más relacionadas con las lesiones iniciales de la EM, la amplificación del daño estaría mediada por las células CD8+ (4). Para evaluar si las células CD8+ autorreactivas pueden participar en la destrucción de oligodendrocitos observada en las placas de pacientes con EM, Saxena *et al.* (28) utilizaron ratones en los que el Ag hemaglutinina (HA) del virus de la gripe se expresaba selectivamente en oligodendrocitos, para posteriormente transferir células CD8+ preactivadas específicas para la HA. Tras la transferencia de esas células se observaron lesiones inflamatorias en nervio óptico, médula espinal y cerebro, asociadas a la infiltración de células CD8+, con pérdida focal de oligodendrocitos, desmielinización y activación de la microglía. Estas lesiones se asemejan a las observadas en pacientes con EM, lo que demuestra la capacidad de las células CD8+ para inducir la lisis de oligodendrocitos *in vivo*. Además, está demostrado que las células CD8+ se acumulan en las lesiones activas de la EM, en ocasiones a un nivel superior que las células CD4+, y en un trabajo publicado por Höftberger *et al.*(29) se identificó una elevada expresión de CMH-I en oligodendrocitos, neuronas y astrocitos presentes en placas activas de EM, lo que convierte a estas células en objetivos potenciales de las células T citotóxicas, restringidas por el CMH-I. En condiciones normales, las únicas células del SNC que expresan el CMH-I son la microglía/macrófagos y células endoteliales, pero en la EM, aumenta la expresión del CMH-I por astrocitos, oligodendrocitos y neuronas, dependiendo de la actividad de la enfermedad(29). Se ha demostrado, en condiciones *in vitro*, que citoquinas proinflamatorias como TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  y promueven la expresión del CMH-I en neuronas (30), por lo que el aumento de la expresión del CMH-I observado en pacientes con EM podría deberse al



ambiente inflamatorio que se genera en el SNC. Por tanto, aunque se desconoce de forma precisa la participación de las células CD8<sup>+</sup> en la destrucción de oligodendrocitos y desmielinización, no debe descartarse su posible participación en la base inmunopatológica de la EM.

Finalmente, cabe destacar el papel de una subpoblación de células CD8<sup>+</sup> con actividad regulatoria, que se caracteriza por la expresión del fenotipo CD8<sup>+</sup> CD122<sup>+</sup>. Estas células ejercen sus efectos supresores mediante la producción de IL-10, lo que bloquea tanto la proliferación como la liberación de IFN- $\gamma$  por parte de la población de células CD8<sup>+</sup> “clásica” (31). El papel de la población CD8<sup>+</sup> CD122<sup>+</sup> en la patogénesis de la EM no está clara, pero estas células podrían desempeñar un papel protector frente a la inflamación del SNC.

### **Linfocitos T reguladores**

Numerosos estudios han identificado a los linfocitos T CD4<sup>+</sup> reguladores como importantes elementos del sistema inmunitario en relación con muchas enfermedades inflamatorias y autoinmunes (32). Las células T reguladoras naturales (Treg), la población de mejor caracterizada, desempeñan una función esencial al silenciar a células T y B autorreactivas presentes en la periferia para evitar el desarrollo de autoinmunidad. Para comprender la relación entre las células Treg y la EM, es importante destacar que las subpoblaciones de células Treg pueden ser diferenciadas por la expresión de las moléculas CD45RA o CD45RO, que identifican a las células T vírgenes y de memoria, respectivamente. Además, una proporción variable de las células Treg vírgenes CD45RA<sup>+</sup> expresan la molécula CD31, que se utiliza como marcador de producción tímica. Las células con el fenotipo CD45RA<sup>+</sup> CD31<sup>+</sup> se denominan emigrantes tímicos recientes (RTEs). Los RTEs contienen además una gran cantidad de círculos de escisión de TCR, denominados TREC, que se generan como un subproducto durante el proceso de reordenamiento del TCR y se enriquecen en los RTEs. En la EM, parece evidente que la función supresora de las células Treg está alterada, aunque no está claro el mecanismo subyacente de ese defecto funcional.

Se ha descrito que las células Treg vírgenes que han salido recientemente del timo y aún no han mantenido contacto con su antígeno específico, que expresan TREC y CD31 como marcador de superficie típico, disminuyen en sangre periférica con la edad, lo que se asocia a la disminución de la función tímica, y se reducen significativamente en pacientes con EM, especialmente en las etapas de enfermedad clínicamente activa. Sin embargo el recuento de células Treg totales no se ve alterado en esta patología, lo que se debe a un incremento compensatorio de las células Treg memoria (33). De esta forma, la producción tímica de

células Treg podría estar alterada en la EM, y podría ser uno de los mecanismos que expliquen las alteraciones funcionales de la población de células Treg tanto en esta patología como en otros trastornos de origen autoinmune. Este hecho podría deberse a que la actividad supresora de las células Treg de memoria estaría considerablemente disminuida en comparación con las células Treg vírgenes, tal y como han demostrado algunos trabajos. Esto podría estar relacionado con la capacidad de las células Treg para inhibir el incremento de calcio intracelular (evento indispensable para la activación completa de las células T convencionales), que sería mayor en el caso de las células Treg vírgenes, lo que implica una mayor capacidad de esta población celular para suprimir la activación de las células T, en comparación con las células Treg de memoria, las cuales muestran una menor capacidad supresora (34). Además, tal y como demuestran algunos estudios, las células Treg vírgenes muestran una mayor resistencia a la apoptosis mediada por la molécula FasL (CD95L) que las Treg de memoria, lo que se asocia a una menor expresión de la molécula CD95 (35). Así, esa menor expresión de CD95 por parte de las células Treg vírgenes disminuye la sensibilidad de esta población celular a la muerte celular programada, mediada por la vía Fas/FasL, lo que confiere a estas células una mayor tasa de supervivencia en comparación con las células Treg de memoria. Estos hallazgos sugieren que los niveles normales de células Treg vírgenes, y especialmente de RTEs, estarían relacionados con un adecuado funcionamiento de la actividad supresora del conjunto de células Treg, y que la alteración de la homeostasis de esta población celular podría ser un factor clave en la patogénesis de la EM.

En la Fig. 2 se resume la participación de las diferentes poblaciones de células T en el proceso inflamatorio autoinmune que se produce en la EM (4).

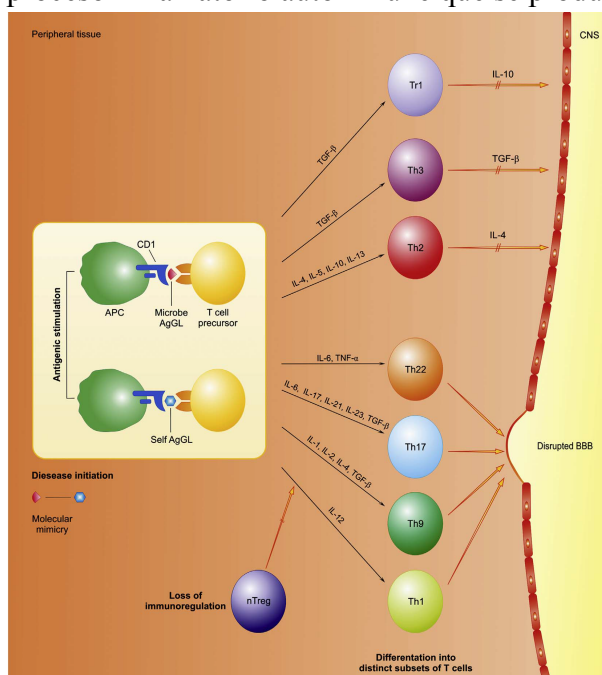


Figura 2. Reactividad cruzada entre Ags glucolipídicos de mielina propios y Ags glucolipídicos microbianos y desarrollo de inflamación autoinmune en el SNC (Tomado de Podbielska et al., 2018) (4). APC: célula presentadora de antígeno; BBB: barrera hematoencefálica; CNS: sistema nervioso central.

## Linfocitos B

Aunque siempre se ha considerado que la respuesta autoinmune en la EM estaba principalmente mediada por células T, cada vez es mayor la evidencia de la participación de las células B. El principal hallazgo que relaciona esta población celular con la EM es la eficacia de la terapia dirigida frente a linfocitos B con anticuerpos monoclonales como el *rituximab*, que reconocen el marcador CD20 presente en estas células (36,37).

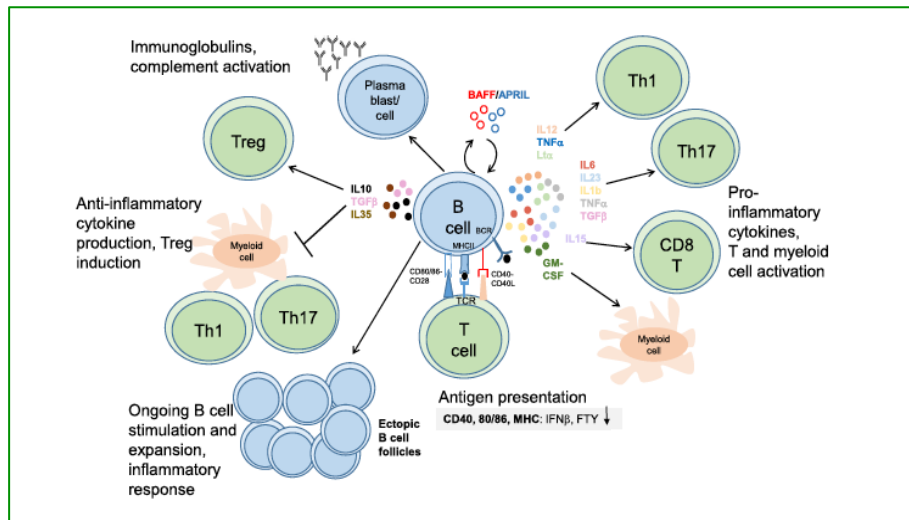


Figura 3. Poblaciones linfocitarias implicadas en la patogénesis de la EM. Modificado de Staun-Ram et al. (2017) (11)

Con respecto a la implicación de las células B en la fisiopatología de la enfermedad (Fig. 3)(11), la evidencia apunta a que participarían a través de sus funciones principales, como su diferenciación en células plasmáticas y la producción de Ac autorreactivos, activando el complemento y produciendo lesiones tisulares. En su papel como células presentadoras de Ag (CPAs), estimulan a las células T y dirigen la diferenciación y activación de subtipos patogénicos y células mieloides, a través de la producción de citoquinas proinflamatorias. Las células B también producen citoquinas antiinflamatorias, que inducen Treg, reducen la diferenciación Th1 y Th17 y activación mieloide, previniendo la respuesta autoinmune. Si bien parece que este efecto es insuficiente en la EM. Folículos ectópicos de células B como los encontrados en las meninges en pacientes con EM, permiten la puesta en marcha de la estimulación antígeno-específica y la expansión y maduración de células B dentro del SNC.

Además, se ha demostrado que en la gran mayoría de los pacientes con EM existe síntesis intratecal de Ac en el LCR, detectándose bandas oligoclonales (OCBs) en este fluido(38). También se han detectado poblaciones de linfocitos B en las lesiones y, en el denominado patrón II de desmielinización, conocido como patrón de desmielinización

mediada por anticuerpos, se detectan también Ac y moléculas del complemento (39). Algunos estudios han demostrado un cierto beneficio clínico en pacientes con EM tras la realización de técnicas de inmunoadsorción o plasmáferesis, procedimientos capaces de eliminar inmunoglobulinas e inmunocomplejos circulantes. El beneficio de estas terapias se ha observado únicamente en pacientes con EM que muestran un patrón de desmielinización de tipo II, en el que existe una mayor participación del complemento e inmunoglobulinas en el proceso desmielinizante. Este hallazgo sugiere la participación de Ac, dirigidos frente a auto-Ag, en la destrucción tisular mediante la activación de células efectoras y el complemento (40). A pesar de esta observación, la antígeno-especificidad de los Ac autorreactivos en la EM no está clara, pues podría no ser una causa, si no más bien una consecuencia de la destrucción tisular, lo que conllevaría la exposición de nuevos epitopos normalmente silentes. Sin embargo, la existencia de Ac dirigidos frente a distintos componentes de la mielina en pacientes con EM es un hecho probado por numerosos autores y aceptado dentro de la comunidad científica. Algunos de los antígenos que se han descrito como objetivo de los Ac autorreactivos en la EM son la glicoproteína oligodendrocítica de la mielina o MOG (que se ha detectado, pero de forma transitoria, en pacientes jóvenes con EM y otros trastornos desmielinizantes) y componentes del canal rectificador de la entrada de potasio KIR 4.1 (11). Además un grupo de investigadores ha encontrado reactividad, en un subgrupo de pacientes, frente a una proteína de un canal de iones llamada “anocamina 2” (ANO2). Los anticuerpos anti-ANO2 son específicos de la EM y no aparecen en los controles, pero no se detectan en todos los pacientes, y su aparición es independiente del curso clínico de la enfermedad. Se ha encontrado una fuerte asociación entre la aparición de Ac anti-ANO2 y el alelo HLA-DRB1 \* 15 (41), cuya presencia aumenta de dos a tres veces el riesgo de sufrir EM.

La alteración en la secreción de citoquinas por parte de los linfocitos B se ha postulado como uno de los mecanismos patogénicos de la EM. Algunos trabajos han demostrado que los linfocitos B en pacientes con EM presentan una elevada capacidad de producción de citoquinas proinflamatorias como TNF- $\alpha$ , linfotoxina- $\alpha$  (LT- $\alpha$ ), INF- $\gamma$  e IL-6 en comparación con los controles, con una secreción disminuida de la IL-10 en respuesta a la estimulación (11). De esta forma, parece que los linfocitos B en pacientes con EM estarían polarizados hacia un fenotipo pro-inflamatorio, mientras que su función reguladora podría ser defectuosa (30). Esta desregulación de la producción de citoquinas por parte de las células B podría ser responsable de la activación “bystander” de los linfocitos T, favoreciendo la aparición de la respuesta autoinmune (11). Además, Li *et al.* (4) han identificado un subconjunto de células B

que producen el factor estimulante de colonias de monocitos granulocitos (GM-CSF), lo que promueve la respuesta proinflamatoria mediada por células mieloides. Se ha observado que estas células son más frecuentes en pacientes con EM, lo que apoya su posible papel patogénico en la enfermedad. Ese incremento relativo de las células B productoras de GM-CSF podría suponer a su vez un descenso de la población de células B productoras de IL-10, que parece desempeñar un papel protector en la EM. De esta forma, las terapias de depleción de células B (BCDT) podrían normalizar la relación de células B productoras de GM-CSF/IL-10 (42). Este efecto podría explicar la eficacia de la BCDT en algunos casos de EM, ya que si bien está demostrado el beneficio de este tipo de terapia en ciertos pacientes, se desconoce cuál es el mecanismo exacto. Este hallazgo pone en evidencia la existencia de subpoblaciones de células B con funciones muy dispares, y que podrían desempeñar un papel clave tanto en la EM como en otras enfermedades autoinmunes.

Por otro lado, el papel de las células B como CPAs parece estar también alterado en pacientes con EM. En la última década, uno de los descubrimientos en esta línea ha sido una expresión incrementada de las moléculas coestimuladoras CD80 y CD86 en pacientes con EM en comparación con controles sanos, lo que supone una mayor capacidad de los linfocitos B para activar células T efectoras (43).

Además de las células B2, podrían estar implicados los linfocitos B1 y los B2M (de la zona marginal del bazo), por su capacidad para producir Ac en ausencia de infección (22), es decir, Ac naturales. Cabe destacar que esos Ac naturales no sólo desempeñan un importante papel en la inmunidad antiinfecciosa; también intervienen en la eliminación de células envejecidas y apoptóticas, así como en mecanismos de inmunomodulación (44). Las células B1 están siendo muy estudiadas en relación con las enfermedades autoinmunes. Se ha demostrado en ratones que la ausencia de IgM naturales, particularmente de las IgM autorreactivas condiciona, paradójicamente, la aparición de respuestas autoinmunes más graves. La deficiencia de Ac naturales, tiene el mismo efecto en la predisposición a la aparición de una respuesta autoinmune que las deficiencias en los componentes de la vía clásica del complemento (45). La activación del complemento es importante para la eliminación de células apoptóticas por parte de los macrófagos (46), dado que la acumulación de aquellas implica la liberación de Ag nucleares que inducen la producción de Ac anti-nucleares (47). Así, las IgM naturales autorreactivas, parecen desempeñar un papel clave en la eliminación de autoantígenos a través de la activación del complemento, y su déficit podría estar relacionado con la aparición de respuestas autoinmunes mediadas por autoanticuerpos de

tipo IgG producidos por las células B2. En definitiva, es probable que las células B1 desempeñen un papel fisiológico en la regulación de la respuesta “clásica” de anticuerpos, mediada por las células B2 en colaboración con células T (48).

Finalmente, en relación con las células B1, es importante destacar su capacidad para inducir la activación y proliferación de las células T vírgenes, lo que indica que son CPAs tan eficientes como las DCs (4). Además, las células B1 son capaces de modular la función de las células T, promoviendo su diferenciación hacia el perfil Th17 (49). En conjunto, estos hallazgos demuestran la importancia de las células B1 en la regulación de la respuesta inmune, y cómo la alteración de esta población celular puede romper la homeostasis inmunitaria favoreciendo la aparición de enfermedades autoinmunes como la EM.

### **Células NK**

Las células NK forman parte de la inmunidad innata y conforman, junto con otras células, una primera línea de defensa frente a los agentes infecciosos. Sin embargo, sus funciones no se limitan al campo de la inmunidad innata, ya que estas células constituyen un nexo entre la inmunidad innata y adaptativa, lo que se relaciona con su capacidad de secretar citoquinas como el TNF- $\alpha$  e INF- $\gamma$ . Son muchos los estudios que han tratado de dilucidar el papel de las células NK en la patogenia de la EM, así como en su modelo animal, la EAE. En relación con la EAE, los resultados son contradictorios. Algunos estudios apuntan a que la mejoría de las funciones reguladoras de las células NK se relaciona con una mejoría del curso clínico de la enfermedad. Lu *et al.* (50) demostraron que el bloqueo dependiente de anticuerpo de la interacción inhibitoria entre la molécula Qa del CMH-I (expresada por el linfocito T) y el receptor CD94/NKG2A (expresado por la célula NK) conducía a una potente eliminación de las células T activadas autorreactivas por parte de células NK, dando lugar a una mejoría de la EAE. Este hallazgo amplía las perspectivas de la inmunoterapia basadas en células NK, lo que permitiría regular las respuestas autoinmunes mediadas por células T mediante su eliminación por parte de células NK. En esta línea, se ha observado que en pacientes con EM, la expansión de las células CD56<sup>bright</sup>, con función principalmente secretora, se asocia a remisión de la enfermedad en el embarazo, así como a una mejor respuesta a distintos tratamientos. Esto sugiere que las células NK CD56<sup>bright</sup> desempeñan funciones inmunoregulatoras, que podrían estar alteradas en la EM. En ese mismo estudio, Laroni *et al.* (51) observaron que las células CD56<sup>bright</sup> adquieren, en presencia de señales proinflamatorias, la capacidad de suprimir la proliferación de células T CD4<sup>+</sup> mediante la secreción de granzima B y receptores de citotoxicidad natural (NCR). En pacientes con EM,

se determinó que la capacidad de las células NK CD56<sup>bright</sup> para inhibir la proliferación de células T era significativamente menor en comparación con controles sanos, lo que se debe a una mayor expresión de la molécula HLA-E en células T de pacientes con EM, lo que podría potenciar el efecto inhibitorio mediado su ligando, el heterodímero CD94/NKG2A expresado en la superficie de las células NK, lo que impide su eliminación por parte de las células NK(51). Así, la menor actividad citotóxica de las células NK CD56<sup>bright</sup> sobre las células T, asociada a la mayor expresión de HLA-E conduce a un deterioro del mecanismo de regulación que ejercen las células NK CD56<sup>bright</sup>, lo que promueve la desregulación de la respuesta T. En pacientes con EM, la administración de *daclizumab*, un anticuerpo humanizado dirigido frente a la subunidad  $\alpha$  del receptor de IL-2 que se expresa en la membrana de los linfocitos activados, se asoció a una disminución de las células CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> circulantes, y a una expansión de las células NK CD56<sup>bright</sup>, y este efecto mostró correlación con la respuesta al tratamiento (52). La evidencia de que el mecanismo de acción del *daclizumab* se basa, al menos en parte, en la expansión de las células NK CD56<sup>bright</sup> apoya la existencia de una vía inmunoreguladora sobre las células T mediada por estas células NK . De esta forma, revertir la inmunoregulación defectuosa de las células NK CD56<sup>bright</sup> podría ser objetivo terapéutico potencial en pacientes con EM y otras enfermedades autoinmunes, así como en otros campos como el rechazo a trasplantes o la inmunidad tumoral.

### **Células NKT**

Constituyen una población celular que expresa marcadores típicos de las NK, como el CD161, así como moléculas características de las células T, como CD25 y CD69. La mayoría de las células NKT humanas, que se conocen como células iNKT o NKT tipo I, expresan un único tipo de TCR invariante, que les confiere especificidad para el reconocimiento específico de glucolípidos presentados por las moléculas CD1. Tras su estimulación, las células iNKT secretan citoquinas que determinan el perfil de respuesta (Th1, Th2, Th17), en función de la subpoblación de células NKT activada (53). El glucolípido  $\alpha$ -GalCer ha sido durante muchos años, el primer y único lípido conocido con capacidad para activar, tras su unión al CD1d, a las células NKT. Actualmente se conocen muchos antígenos capaces de activar a las células NKT, como la  $\alpha$ -glicosilceramida presente en la pared celular de *Sphingomonas capsulata* (54) o diacilgliceroles de *Borrelia burgdorferi* (55). También se han identificado auto-antígenos capaces de inducir la activación de las células NKT mediante la vía dependiente de CD1d, como fosfatidilcolina, fosfatidilinositol o fosfatidiletanolamina (4). En definitiva, tras su estimulación por antígenos microbianos o auto-Ag, las células NKT activadas producen

una amplia gama de citoquinas, convirtiéndose en elementos centrales de la respuesta inmunitaria. En la Fig. 4 se indica cómo diferentes Ag glucolipídicos (GL) compiten por su unión al TCR, siendo normalmente de mayor afinidad el reconocimiento de Ag GL microbianos, en comparación con Ags propios. En función del ambiente de citoquinas se producen tres tipos de respuesta: reguladora, proinflamatoria o antimicrobiana.

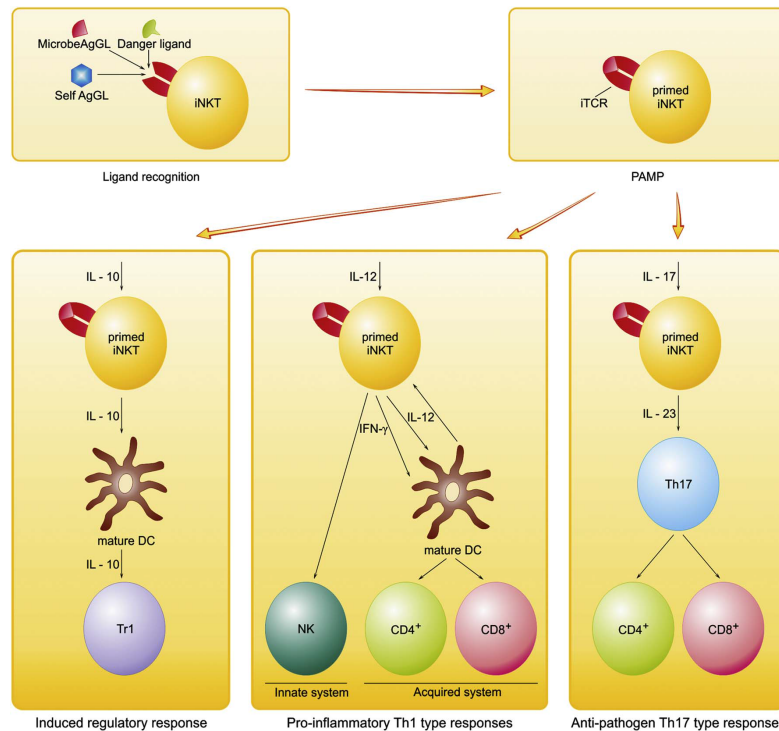


Figura 4. Respuestas inmunes mediadas por células iNKT. (Tomado de Podbielska et al., 2018) (4).

La importancia de las células iNKT en el desarrollo de enfermedades autoinmunes se reconoció por primera vez mediante la observación de que los ratones que carecían de células CD1d o iNKT estaban predispuestos a desarrollar varias enfermedades autoinmunes (56). En relación con la EM, numerosos estudios han identificado alteraciones funcionales y cuantitativas de las células iNKT. Illés *et al.* (57) observaron una disminución de las células NKT en sangre periférica de pacientes con EM, especialmente durante la etapa de remisión clínica. Esa disminución no se observó en pacientes control con otras enfermedades desmielinizantes que afectan a los nervios periféricos, lo que sugiere que la respuesta inmune mediada por el eje CD1-NKT muestra importantes diferencias en el SNC y sistema nervioso periférico (SNP). Otros autores identificaron un incremento de las células NKT en pacientes con EM en comparación con controles sanos. En este mismo estudio se determinó que mientras las células NKT de sujetos sanos se expandieron en número y liberaron IFN- $\gamma$  tras la estimulación con  $\alpha$ -Gal-Cer, las células NKT de pacientes con EM no mostraron esa respuesta (58). Esta falta de reactividad a la estimulación con  $\alpha$ -Gal-Cer también se ha observado en



otros estudios (59). En relación con las alteraciones cuantitativas de las células NKT, los resultados contradictorios obtenidos por los distintos trabajos podrían deberse a distintos motivos, como las diferentes estrategias utilizadas para la identificación de esas células, el pequeño tamaño de las cohortes de pacientes o la falta de homogeneidad de los grupos de pacientes. Sara de Biasi *et al.*(60) trataron de solventar esos problemas obteniendo grupos más homogéneos e incluyendo un número mayor de pacientes; no se observaron diferencias significativas en los niveles de células NKT totales entre pacientes con EM y sujetos sanos. Con respecto a las subpoblaciones de células NKT se observó que en pacientes con EM, en sus formas remitente-recurrente (EMRR) y primaria progresiva (EMPP), el porcentaje de células NKT que expresaban el marcador CD4 era significativamente mayor en comparación con el grupo control. Estos hallazgos sugieren que la fase activa de la EM, así como su progresión, parece estar asociada a la presencia sostenida de células CD4 + iNKT, lo que probablemente contribuye a la persistencia de un estado inflamatorio (60).

## Conclusiones

1. La desregulación de la respuesta mediada por células T se considera un hecho indiscutible en la inmunopatología de la EM, si bien pueden existir alteraciones subyacentes de otras poblaciones celulares que actúen como factor desencadenante.
2. Las células Th1 y Th17 continúan siendo, según la evidencia actual, las poblaciones celulares más relacionadas con la patogénesis de la EM.
3. La disminución de células Treg vírgenes, que podría estar relacionado con una función tímica defectuosa, se asocia a una menor actividad supresora del conjunto de células Treg, lo que favorecería el desarrollo de trastornos autoinmunes como la EM.
4. Algunas funciones de los linfocitos B2, como la secreción de citoquinas o su capacidad para actuar como CPAs parecen estar alteradas en la EM. Por su parte, la subpoblación de células B1 desempeña un papel clave en la modulación de otras funciones inmunitarias, y su alteración se asocia a la aparición de enfermedades autoinmunes.
5. La alteración cuantitativa y/o funcional del total de células NKT o de sus subpoblaciones podría estar relacionada con la pérdida de homeostasis inmunitaria,

por la actividad cooperadora que desempeñan estas células con otras poblaciones linfocitarias.

## Bibliografía

1. Castillo-Álvarez F, Hernando de la Bárcena I, Marzo-Sola ME. Papel de la microbiota intestinal en el desarrollo de la esclerosis múltiple. *Neurología*. 2017; 148: 28-32.
2. Leray E, Moreau T, Fromont A, Edan G. Epidemiology of multiple sclerosis. *Rev Neurol (Paris)*. 2016; 172: 3-13.
3. Gale CR, Martyn CN. Migrant studies in multiple sclerosis. *Prog Neurobiol*. 1995; 47: 425-48.
4. Podbielska M, O'Keeffe J, Hogan EL. Autoimmunity in multiple sclerosis: role of sphingolipids, invariant NKT cells and other immune elements in control of inflammation and neurodegeneration. *J Neurol Sci*. 2018; 385: 198-214.
5. Ercolini AM, Miller SD. The role of infections in autoimmune disease. *Clin Exp Immunol*. 2009; 155: 1-15.
6. Gildden DH. Infectious causes of multiple sclerosis. *Lancet Neurol*. 2005; 4: 195-202.
7. Oldstone MBA. Molecular Mimicry: Its Evolution from Concept to Mechanism as a Cause of Autoimmune Diseases. *Monoclon Antib Immunodiagn Immunother*. 2014; 33: 158-65.
8. Wahren-Herlenius M, Dörner T. Immunopathogenic mechanisms of systemic autoimmune disease. *Lancet* 2013; 382: 819-31.
9. Podbielska M, Dasgupta S, Lavery SB, Tourtellotte WW, Annuk H, Moran AP, et al. Novel myelin penta- and hexa-acetyl-galactosyl-ceramides: structural characterization and immunoreactivity in cerebrospinal fluid. *J Lipid Res*. 2010; 51: 1394-406.
10. Wucherpfennig KW, Allen PM, Celada F, Cohen IR, De Boer R, Garcia KC, et al. Polyspecificity of T cell and B cell receptor recognition. *Semin Immunol*. 2007; 19: 216-24.
11. Staun-Ram E, Miller A. Effector and regulatory B cells in Multiple Sclerosis. *Clin Immunol*. 2017; 184: 11-25.
12. Quintana FJ, Pérez-Sánchez S, Farez MF. Inmunopatología de la Esclerosis Múltiple. *Medicina (Buenos Aires)*. 2014; 74: 404-410.
13. Kivisäkk P, Mahad DJ, Callahan MK, Trebst C, Tucky B, Wei T, et al. Human cerebrospinal fluid central memory CD4+ T cells: evidence for trafficking through choroid plexus and meninges via P-selectin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003; 100: 8389-94.
14. Ivanov II, McKenzie BS, Zhou L, Tadokoro CE, Lepelley A, Lafaille JJ, et al. The Orphan Nuclear Receptor ROR $\gamma$ t Directs the Differentiation Program of Proinflammatory IL-17+ T Helper Cells. *Cell*. 2006; 126: 1121-33.
15. Becher B, Durell BG, Noelle RJ. Experimental autoimmune encephalitis and inflammation in the absence of interleukin-12. *J Clin Invest*. 2002; 110: 493-7.
16. Langrish CL, Chen Y, Blumenschein WM, Mattson J, Basham B, Sedgwick JD, et al. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. *J Exp Med*. 2005; 201: 233-40.
17. Yang Y, Weiner J, Liu Y, Smith AJ, Huss DJ, Winger R, et al. T-bet is essential for encephalitogenicity of both Th1 and Th17 cells. *J Exp Med*. 2009; 206: 1549-64.
18. Brucklacher-Waldert V, Stuermer K, Kolster M, Wolthausen J, Tolosa E. Phenotypical and functional characterization of T helper 17 cells in multiple sclerosis. *Brain* 2009; 132: 3329-41.
19. Kebir H, Kreymborg K, Ifergan I, Dodelet-Devillers A, Cayrol R, Bernard M, et al. Human TH17 lymphocytes promote blood-brain barrier disruption and central nervous system inflammation. *Nat Med*. 2007; 13: 1173-5.
20. Brok HPM, van Meurs M, Blezer E, Schantz A, Peritt D, Treacy G, et al. Prevention of experimental autoimmune encephalomyelitis in common marmosets using an anti-IL-12p40 monoclonal antibody. *J*

Immunol. 2002; 169: 6554-63.

21. Koutruba N, Emer J, Lebwohl M. Review of ustekinumab, an interleukin-12 and interleukin-23 inhibitor used for the treatment of plaque psoriasis. *Ther Clin Risk Manag.* 2010; 15: 123-41.
22. Fainboim L, Geffner J. *Introducción a la Inmunología Humana.* Ed. Médica Panamericana 2011. pp 584.
23. Beyeen AD, Adzemovic MZ, Ockinger J, Stridh P, Becanovic K, Laaksonen H, et al. IL-22RA2 Associates with Multiple Sclerosis and Macrophage Effector Mechanisms in Experimental Neuroinflammation. *J Immunol.* 2010; 185: 6883-90.
24. Rolla S, Bardina V, De Mercanti S, Quaglino P, De Palma R, Gned D, et al. Th22 cells are expanded in multiple sclerosis and are resistant to IFN- $\beta$ . *J Leukoc Biol.* 2014; 96: 1155-64.
25. Xu W, Li R, Dai Y, Wu A, Wang H, Cheng C, et al. IL-22 secreting CD4<sup>+</sup> T cells in the patients with neuromyelitis optica and multiple sclerosis. *J Neuroimmunol.* 2013; 261: 87-91.
26. Li H, Nourbakhsh B, Cullimore M, Zhang GX, Rostami A. IL-9 is important for T-cell activation and differentiation in autoimmune inflammation of the central nervous system. *Eur J Immunol.* 2011; 41: 2197-206.
27. Jager A, Dardalhon V, Sobel RA, Bettelli E, Kuchroo VK. Th1, Th17, and Th9 Effector Cells Induce Experimental Autoimmune Encephalomyelitis with Different Pathological Phenotypes. *J Immunol.* 2009; 183: 7169-77.
28. Saxena A, Bauer J, Scheikl T, Zappulla J, Audebert M, Desbois S, et al. Cutting Edge: Multiple Sclerosis-Like Lesions Induced by Effector CD8 T Cells Recognizing a Sequestered Antigen on Oligodendrocytes. *J Immunol.* 2008; 1617-21.
29. Höftberger R, Aboul-Enein F, Brueck W, Lucchinetti C, Rodriguez M, Schmidbauer M, et al. Expression of major histocompatibility complex class I molecules on the different cell types in multiple sclerosis lesions. *Brain Pathol.* 2004; 14: 43-50.
30. Carmen Picón Muñoz. Mecanismos responsables del empeoramiento asociado a la edad en esclerosis múltiple. 2018. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid.
31. Endharti AT, Rifa'i M, Shi Z, Fukuoka Y, Nakahara Y, Kawamoto Y, et al. Cutting edge: CD8<sup>+</sup>CD122<sup>+</sup> regulatory T cells produce IL-10 to suppress IFN- $\gamma$  production and proliferation of CD8<sup>+</sup> T cells. *J Immunol.* 2005; 175: 7093-7.
32. Sakaguchi S. Naturally arising CD4<sup>+</sup> regulatory t cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses. *Annu Rev Immunol.* 2004; 22: 531-62.
33. Haas J, Fritzsche B, Trubswetter P, Korporal M, Milkova L, Fritz B, et al. Prevalence of Newly Generated Naive Regulatory T Cells (Treg) Is Critical for Treg Suppressive Function and Determines Treg Dysfunction in Multiple Sclerosis. *J Immunol.* 2007; 179: 1322-30.
34. Schwarz A, Schumacher M, Pfaff D, Schumacher K, Jarius S, Balint B, et al. Fine-tuning of regulatory T cell function: the role of calcium signals and naive regulatory T cells for regulatory T cell deficiency in multiple sclerosis. *J Immunol.* 2013; 190: 4965-70.
35. Fritzsche B, Oberle N, Pauly E, Geffers R, Buer J, Poschl J, et al. Naive regulatory T cells: A novel subpopulation defined by resistance toward CD95L-mediated cell death. *Blood.* 2006; 108: 3371-8.
36. Hawker K, O'Connor P, Freedman MS, Calabresi PA, Antel J, Simon J, et al. Rituximab in patients with primary progressive multiple sclerosis: Results of a randomized double-blind placebo-controlled multicenter trial. *Ann Neurol.* 2009; 66: 460-71.
37. Bar-Or A, Calabresi PA, Arnold D, Markowitz C, Shafer S, Kasper LH, et al. Rituximab in relapsing-remitting multiple sclerosis: a 72-week, open-label, phase I trial. *Ann Neurol.* 2008; 63: 395-400.
38. Obermeier B, Mentele R, Malotka J, Kellermann J, Kümpfel T, Wekerle H, et al. Matching of oligoclonal immunoglobulin transcriptomes and proteomes of cerebrospinal fluid in multiple sclerosis. *Nat Med.* 2008; 14: 688-93.
39. Lucchinetti C, Brück W, Parisi J, Scheithauer B, Rodriguez M, Lassmann H. Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: Implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol.* 2000; 47: 707-17.
40. Keegan M, König F, McClelland R, Brück W, Morales Y, Bitsch A, et al. Relation between humoral pathological changes in multiple sclerosis and response to therapeutic plasma exchange. *Lancet.* 2005;

366: 579-82.

41. Ayoglu B, Mitsios N, Kockum I, Khademi M, Zandian A, Sjöberg R, et al. Anoctamin 2 identified as an autoimmune target in multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci*. 2016; 113: 2188-93.
42. Li R, Rezk A, Miyazaki Y, Hilgenberg E, Touil H, Shen P, et al. Proinflammatory GM-CSF-producing B cells in multiple sclerosis and B cell depletion therapy. *Sci Transl Med*. 2015; 310:310RA166.
43. Aung LL, Balashov KE. Decreased Dicer expression is linked to increased expression of co-stimulatory molecule CD80 on B cells in multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2015; 21: 1131-8.
44. Merino MC, Gruppi A. Origen y desarrollo de linfocitos B1. Una población celular involucrada en defensa y autoinmunidad. *Medicina (B Aires)*. 2006; 66: 165-72.
45. Boes M, Schmidt T, Linkemann K, Beaudette BC, Marshak-Rothstein A, Chen J. Accelerated development of IgG autoantibodies and autoimmune disease in the absence of secreted IgM. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000; 97: 1184-9.
46. Mevorach D, Mascarenhas JO, Gershov D, Elkon KB. Complement-dependent clearance of apoptotic cells by human macrophages. *J Exp Med*. 1998; 188: 2313-20.
47. Marinovic M. Inmunodeficiencias y su relación con enfermedades autoinmunes. *Rev Méd Clín Las Condes*. 2012; 4: 484-91.
48. Boes M, Esau C, Fischer MB, Schmidt T, Carroll M, Chen J. Enhanced B-1 cell development, but impaired IgG antibody responses in mice deficient in secreted IgM. *J Immunol*. 1998; 160: 4776-87.
49. Wang Y, Rothstein TL. Induction of Th17 cell differentiation by B-1 cells. *Front Immunol*. 2012; 3 Article 281.
50. Lu L, Ikizawa K, Hu D, Werneck MBF, Wucherpfennig KW, Cantor H. Regulation of Activated CD4+T Cells by NK Cells via the Qa-1-NKG2A Inhibitory Pathway. *Immunity*. 2007; 26: 593-604.
51. Laroni A, Armentani E, N NK de R, Ivaldi F, Marcenaro E, Sivori S, et al. Dysregulation of regulatory CD56(bright) NK cells/T cells interactions in multiple sclerosis. *J Autoimmun*. 2016; 72: 8-18.
52. Bielekova B, Catalfamo M, Reichert-Scriver S, Packer A, Cerna M, Waldmann T a, et al. Regulatory CD56(bright) natural killer cells mediate immunomodulatory effects of IL-2/Ralpha-targeted therapy (daclizumab) in multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006; 103: 5941-6.
53. Lee PT, Benlagha K, Teyton L, Bendelac A. Distinct functional lineages of human V(alpha)24 natural killer T cells. *J Exp Med*. 2002; 195: 637-41.
54. Mattner J, DeBord KL, Ismail N, Goff RD, Cantu C, Zhou D, et al. Exogenous and endogenous glycolipid antigens activate NKT cells during microbial infections. *Nature* 2005; 434: 525-9.
55. Kinjo Y, Tupin E, Wu D, Fujio M, Garcia-Navarro R, Benhnia MREI, et al. Natural killer T cells recognize diacylglycerol antigens from pathogenic bacteria. *Nat Immunol*. 2006; 7: 978-86.
56. Wilson SB, Delovitch TL. Janus-like role of regulatory iNKT cells in autoimmune disease and tumour immunity. *Nat Rev Immunol*. 2003; 3: 212-22.
57. Illés Z, Kondo T, Newcombe J, Oka N, Tabira T, Yamamura T. Differential expression of NK T cell V alpha 24J alpha Q invariant TCR chain in the lesions of multiple sclerosis and chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *J Immunol*. 2000; 164: 4375-81.
58. O'Keeffe J, Gately CM, Counihan T, Hennessy M, Leahy T, Moran AP, et al. T-cells expressing natural killer (NK) receptors are altered in multiple sclerosis and responses to alpha-galactosylceramide are impaired. *J Neurol Sci*. 2008; 275: 22-8.
59. Gately CM, Podbielska M, Counihan T, Hennessy M, Leahy T, Moran AP, et al. Invariant Natural Killer T-cell anergy to endogenous myelin acetyl-glycolipids in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*. 2013; 259: 1-7.
60. De Biasi S, Simone AM, Nasi M, Bianchini E, Ferraro D, Vitetta F, et al. iNKT cells in secondary progressive multiple sclerosis patients display pro-inflammatory profiles. *Front Immunol*. 2016; 7 Article 555.