



Autorreactividad y autoinmunidad

D. Díaz Martín^{*a}, H. Barcenilla Rodríguez^b, M. Úbeda Cantera^{a,c} y L. Muñoz Zamarrón^c

^aLaboratorio de Enfermedades del Sistema Inmune y Oncología. Departamento de Medicina. Universidad de Alcalá. Alcalá de Henares. Madrid. España.

^bDepartment of Clinical and Experimental Medicine. Linköping University. Linköping. Suiza. ^cCentro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd). Instituto de Salud Carlos III. Madrid. España.

Palabras Clave:

- Autorreactividad
- Autoantígenos
- Tolerancia
- Treg

Keywords:

- Self-reactivity
- Self-antigens
- Tolerance
- T-regulatory cells (Tregs)

Resumen

Definición de autoinmunidad y enfermedad autoinmune. La autoinmunidad es una respuesta inmune contra uno o varios antígenos propios. Las enfermedades autoinmunes son el resultado del daño o la pérdida de función fisiológica en órganos y tejidos debido a una respuesta autoinmune. Este reconocimiento específico está mediado por las células del sistema inmune adaptativo, es decir, linfocitos T y B, si bien en los mecanismos de daño participan también células y moléculas del sistema inmune innato.

Características de las enfermedades autoinmunes. Las enfermedades autoinmunes son crónicas y suelen ser progresivas. La persistencia del antígeno, de las células T y B memoria específicas de los mismos y los poderosos mecanismos de amplificación inflamatorios son los mecanismos patogénicos que perpetúan la enfermedad.

Tolerancia inmunitaria. Los mecanismos de tolerancia son esenciales para el control de la autorreactividad, principalmente, los mediados en periferia por los linfocitos T. Estos mecanismos se dividen habitualmente en tolerancia central, tolerancia periférica y tolerancia mediada por células T reguladoras (Treg).

Etiología de las enfermedades autoinmunes. La etiología de las enfermedades autoinmunes no está esclarecida, aunque parece claro que es multifactorial. La propensión genética es un factor importante y determinados conjuntos de alelos de genes pueden predisponer a la enfermedad. Además, los factores ambientales como la infección y la lesión tisular parecen fundamentales en su desarrollo.

Abstract

Self-reactivity and autoimmunity

Definition of Autoimmunity and autoimmune diseases. Autoimmunity is an immune response against one or several self-antigens. Autoimmune diseases are the result of damage or loss of physiological function in organs and tissues due to an autoimmune response. This specific recognition is mediated by cells of the adaptive immune system, i.e., T and B lymphocytes, while in the mechanisms of damage also participate cells and molecules of the innate immune system.

Features of the autoimmune diseases. Autoimmune diseases are chronic and often progressive. The persistence of the antigen, antigen-specific memory T and B cells and the powerful inflammatory mechanisms of amplification are pathogenetic mechanisms that perpetuate the disease.

Immune tolerance. The mechanisms of tolerance are essential for the control of the autoreactivity, mainly in the periphery by T lymphocytes. These mechanisms are typically divided into central tolerance, peripheral tolerance and tolerance mediated by regulatory T cells (Tregs).

Etiology of the autoimmune diseases. The etiology of the autoimmune diseases is not evident, although it seems clear that it is multifactorial. The genetic propensity is an important factor and certain sets of alleles of genes can predispose to the disease. In addition, environmental factors as the infection and the tissue injury seem fundamental in its development.

*Correspondencia

Correo electrónico: david.diaz@uah.es

Definición de autoinmunidad y enfermedad autoinmune

La autoinmunidad es una respuesta inmune contra uno o varios antígenos propios. Para que se produzca la autoinmunidad es necesario que exista reconocimiento previo del sistema inmune a estos antígenos propios. Este proceso se denomina autorreactividad y es esencial tanto en la defensa contra patógenos que mimetizan nuestros antígenos como contra el cáncer. Las enfermedades autoinmunes son el resultado del daño o la pérdida de función fisiológica en órganos y tejidos debido a una respuesta autoinmune. Esta distinción es importante, pues las respuestas autoinmunes pueden ocurrir sin enfermedad o como resultado de enfermedades causadas por otros mecanismos (como infección)¹.

Por otro lado, el término autoinmunidad se usa con frecuencia de forma equívoca para cualquier enfermedad en la que el daño tisular se acompañe de reacciones inmunitarias, aunque sea difícil o imposible establecer la causalidad de las respuestas inmunitarias contra antígenos propios en estos trastornos. Esto es debido a que la inflamación es un componente destacado de estos trastornos que se agrupan bajo el epígrafe de enfermedades inflamatorias inmunitarias, lo que no implica que la respuesta patológica se dirija contra antígenos propios.

Las enfermedades autoinmunes se producen cuando las respuestas inmunes adaptativas (antígeno específicas) se dirigen contra determinados antígenos propios. Este reconocimiento específico está mediado por las células del sistema inmune adaptativo, es decir, linfocitos T y B. Cuando estas células autorreactivas no son controladas de forma adecuada y se diferencian en linfocitos efectores y memoria, aparece la enfermedad autoinmune. Por tanto, el riesgo de autoinmunidad es el precio a pagar por tener un sistema de respuesta antígeno específica contra los patógenos. Los ratones que no tienen recombinasas (Rag1 y Rag2) y que, por tanto, no tienen células T y B al no poder formarse sus receptores específicos de antígeno, no presentan autoinmunidad. Este reconocimiento específico de antígenos propios es también un mecanismo muy eficaz en la defensa contra los tumores.

Características de las enfermedades autoinmunes

Las enfermedades autoinmunes presentan varias características comunes que las definen y que son manifestaciones de los mecanismos inmunológicos subyacentes². En primer lugar, las enfermedades autoinmunes son específicas. Concretamente, en cada enfermedad autoinmune el fracaso de la tolerancia se produce contra determinado/s antígeno/s característico/s. La distribución órgano específica o ubicua de los autoantígenos determina la extensión órgano específica o sistémica de la enfermedad.

Asimismo, las enfermedades autoinmunes son crónicas. La persistencia del antígeno, de las células T y B memoria específicas de los mismos y los poderosos mecanismos de amplificación inflamatorios son los mecanismos patogénicos

que perpetúan la enfermedad. Además, el curso de las patologías autoinmunes suele incluir periodos en los que la intensidad de los procesos que causan el daño tisular disminuye y otros en los que se exacerba. Esta evolución recidivante con brotes de actividad, intercalados con periodos de menor expresión biológica y clínica de la enfermedad ocurre incluso en ausencia de tratamiento, y demuestra la importancia de los mecanismos fisiológicos capaces de regular la actividad de estos procesos autoinmunes.

En tercer lugar, las enfermedades autoinmunes suelen ser progresivas. Esto se debe a que una respuesta iniciada contra un antígeno propio que daña los tejidos puede dar lugar a la liberación y alteración de otros antígenos tisulares, a la activación de linfocitos específicos frente a esos otros antígenos y a la exacerbación de la enfermedad. Este fenómeno se llama propagación del epítipo y explica por qué una vez que se ha desarrollado una enfermedad autoinmune puede prolongarse y perpetuarse.

Los mecanismos patogénicos responsables de la lesión son distintos en diferentes enfermedades autoinmunes. Estos mecanismos están mediados por los linfocitos T autorreactivos, los inmunocomplejos, los autoanticuerpos y las células B. También son muy importantes los mecanismos de amplificación inflamatorios del sistema inmune innato. Las características clínicas de la enfermedad y el daño dependen de estos mecanismos patogénicos que pueden ser incluso distintos en la misma enfermedad autoinmune. Esto puede explicar en parte la heterogeneidad clínica y de respuesta al tratamiento que se observa en los pacientes con la misma enfermedad autoinmune.

Por último, el 80% de los pacientes con enfermedades autoinmunes son mujeres³. Esta mayor predisposición varía de una enfermedad a otra y su causa es desconocida, aunque se piensa que requiere una cierta base genética y varios factores ambientales como las hormonas y la historia reproductiva, la transferencia de material del feto a la madre (microquimerismo fetal) o la expresión de genes asociados al cromosoma X.

Tolerancia inmunitaria

Como se explica en la actualización de respuestas inmunes adaptativas, el sistema inmune tiene la capacidad de generar una gran diversidad de receptores diferentes para el antígeno en células T, así como de moléculas de inmunoglobulina en las células B, mediante la recombinación somática. Este proceso, al ser azaroso, produce muchos receptores específicos para el antígeno, siendo algunos de ellos capaces de unirse a moléculas propias. Para evitar la aparición de la enfermedad autoinmune, estas células T y B autorreactivas deben ser eliminadas o reguladas⁴. Por todo esto, la tolerancia es, por definición, específica de antígeno.

Debido a que las células T, en particular las células T CD4⁺ (Th, células T cooperadoras), tienen un papel central en el control de casi todas las respuestas inmunes, el proceso de tolerancia de las células T parece ser de mayor importancia para evitar la autoinmunidad que la tolerancia debida a las células B. Esto se debe a que las células B autorreactivas requieren cooperación con las células Th para producir una

respuesta al antígeno. Sin embargo, los receptores para el antígeno de las células de B sufren hipermutación somática, así como procesos de recombinación que se traducen en oportunidades adicionales para tener reactividad cruzada con antígenos propios. Hay, por lo tanto, varios mecanismos para mantener la tolerancia como veremos a continuación.

Mecanismos de tolerancia

Las respuestas autoinmunes son muy similares a las respuestas inmunitarias frente a antígenos extraños. Ambas están dirigidas por el antígeno, implican las mismas células del sistema inmune adaptativo (células T y B) y producen daño tisular por los mismos mecanismos efectores. En todos los individuos se generan a nivel central linfocitos T y B autorreactivos que salen a la periferia; sin embargo, solo unos pocos desarrollan una enfermedad autoinmune. Esto implica que existen mecanismos de regulación que mantienen la tolerancia a lo propio. La aparición de una enfermedad autoinmune implica el fracaso de estos mecanismos normales de regulación. Estos mecanismos se dividen habitualmente en tolerancia central, tolerancia periférica y tolerancia mediada por células T reguladoras (Treg).

La tolerancia a nivel central consiste esencialmente en la eliminación de precursores de las células T y B fuertemente autorreactivos en los órganos linfoides primarios (timo y médula ósea, respectivamente). La tolerancia *periférica* son todos los procesos de inducción de tolerancia que tienen lugar fuera de los órganos linfoides primarios y afectan a linfocitos T y B maduros. Por último, las Treg se originan a nivel central, pero actúan en periferia reconociendo antígenos propios y regulando negativamente. Existen muchos más puntos de control en la tolerancia periférica que en la central. Del mismo modo, existen más puntos en el control de la tolerancia de los linfocitos T que en los linfocitos B como detallaremos a continuación.

Tolerancia de los linfocitos T

Como hemos descrito en el apartado anterior, la tolerancia debida a los linfocitos T es de más importancia que la debida a las células B. Como se ha analizado en la actualización sobre respuestas inmunes adaptativas, existen dos subpoblaciones de linfocitos T, a saber, los linfocitos T cooperadores (Th, CD3⁺CD4⁺) y los linfocitos T citotóxicos (Tc, CD3⁺CD8⁺). Concretamente, los linfocitos Th son los que orquestan las respuestas inmunes y son mucho más eficaces en el control de la tolerancia a lo propio⁴. Por tanto, gran parte de nuestra exposición, especialmente de la tolerancia periférica, se centra en los linfocitos Th.

Tolerancia central

El timo desempeña un papel importante en la eliminación de las células T capaces de reconocer péptidos de proteínas propias. Durante el desarrollo de las células T, sus receptores para el antígeno (TCR) se producen al azar por recombinación. Debido a ello, algunos de estos receptores pueden re-

conocer antígenos propios con alta afinidad. Si esto sucede, los linfocitos T inmaduros que reconocen estos antígenos con alta avidéz son eliminados o dirigidos hacia la línea de linfocitos T reguladores (fig. 1).

Este proceso se conoce como selección negativa⁵. Las células T en el timo que se unen al complejo formado por el complejo principal de histocompatibilidad (MHC) más el péptido propio con muy alta afinidad y que tienen, por tanto, un claro potencial para el reconocimiento propio en otras partes del cuerpo con la consecuente inducción de autoinmunidad, se eliminan. Este proceso de educación tímica es parcialmente exitoso, pues pueden detectarse células T autorreactivas en personas sanas⁵. La razón más importante (aunque infrecuente) para el fracaso de la tolerancia tímica es que muchos péptidos propios no se expresan en suficiente nivel en el timo como para inducir la selección negativa. Concretamente, el timo tiene un mecanismo especial para expresar muchos antígenos proteínicos que suelen estar presentes en ciertos tejidos periféricos, de forma que pueden detectarse los linfocitos T inmaduros específicos frente a estos antígenos a partir del repertorio de linfocitos T en desarrollo. Estos antígenos de tejidos periféricos se expresan en células epiteliales medulares tímicas bajo el control de la proteína regulador autoinmunitario (AIRE —*autoimmune regulator*—). Las mutaciones del gen AIRE son la causa de una enfermedad autoinmune multisistémica llamada síndrome poliendocrino autoinmunitario de tipo 1 (APS-1 —*autoimmune polyendocrine syndrome type 1*—)⁶.

Tolerancia periférica

Existen varios mecanismos por los cuales se mantiene la tolerancia periférica. Estos mecanismos pueden ser responsables de la tolerancia del linfocito T a antígenos propios específicos de tejidos, especialmente a aquellos que no abundan en el timo. Actualmente, no sabemos si son específicos del antígeno y si actúan individual o cooperativamente para evitar la autoinmunidad.

Ignorancia inmunológica. Cuando el antígeno es invisible al sistema inmune se denomina tolerancia por ignorancia inmunológica (fig. 1). La ignorancia inmunológica es una forma restringida de tolerancia periférica y puede ocurrir porque el antígeno es secuestrado en un órgano avascular como el humor vítreo del ojo, denominado confinamiento histológico, o porque se encuentre en el interior celular como en el núcleo, denominado confinamiento celular.

Cuando cantidades limitadas de antígeno escapan de estos sitios debido a la inflamación, el sistema de control se viene abajo. Más importante aún es que la ignorancia inmunológica ocurre porque células Th reconocen antígenos únicamente si están presentados en moléculas de MHC de clase II. La distribución limitada de estas moléculas en tejidos sanos implica que la mayor parte de las moléculas órgano-específicas no se expresan junto al MHC de clase II, por lo que no son capaces de inducir la activación de los linfocitos Th. Por el contrario, en tejidos inflamados, las moléculas MHC de clase II se expresan como parte de la inflamación, por lo que se requieren otros procesos para prevenir o controlar la autorreactividad.

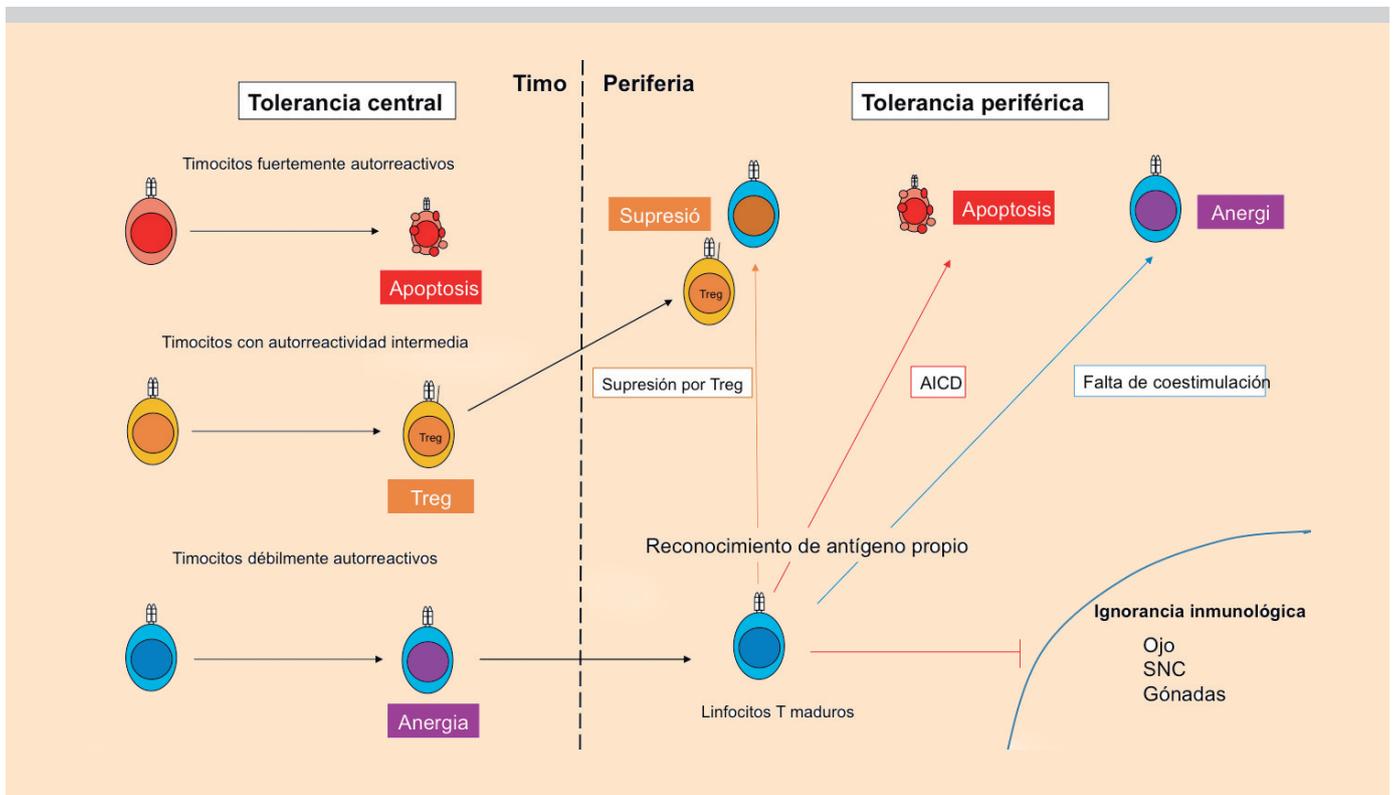


Fig. 1. Tolerancia central y periférica de los linfocitos T. Durante el desarrollo en el timo, los linfocitos T inmaduros (timocitos) con una elevada afinidad por complejos MHC/péptido-propio son eliminados por apoptosis (rojo). Los timocitos con una baja afinidad por los complejos MHC/péptido-propio son seleccionados positivamente y se convierten en linfocitos T maduros convencionales (azul). Algunos linfocitos autorreactivos con una afinidad intermedia por estos complejos se diferencian hacia el linaje de células T reguladoras (Treg) (en color naranja). En periferia, los linfocitos T autorreactivos pueden ser inactivados (anergia en azul) o eliminados (apoptosis en rojo) tras el encuentro con antígenos propios. También pueden ser suprimidos por las Treg. Además, estos linfocitos T autorreactivos son excluidos de determinados tejidos como el ojo, el sistema nervioso central (SNC) y las gónadas (tejidos con privilegio inmunológico).

Separación física entre células T autorreactivas y antígenos propios. Los autoantígenos y los linfocitos T también se mantienen separados por las vías restringidas de circulación que limitan a los linfocitos novatos, a los tejidos linfoides secundarios y a la sangre. Puesto que los antígenos, incluyendo los propios, drenan a los ganglios linfáticos locales y las células presentadoras de antígeno (APC) en condiciones normales no expresan moléculas coestimuladoras, no existe activación en ausencia de inflamación. Para que esto suceda, es necesario que la APC presente moléculas coestimuladoras que actúen como segunda señal de activación del linfocito T⁷. El que la APC que presenta un antígeno exprese o no las moléculas coestimuladoras CD80 y CD86 depende de diversos factores. En primer lugar, la APC solo presenta señales coestimuladoras cuando sus receptores para patrones moleculares asociados a patógenos (PRR) han sido estimulados por la presencia de sus ligandos específicos (ver actualización sobre la respuesta inmune innata en esta unidad temática). Este sistema permite responder ante los antígenos de patógenos y tolerar los antígenos propios. Sin embargo, la APC que presenta antígenos de un patógeno y aporta señales coestimuladoras no puede evitar presentar simultáneamente antígenos propios que ha fagocitado en el lugar de infección. Por tanto, la APC puede coestimular a linfocitos autorreactivos que de no ser controlados podrían iniciar una reacción autoinmune. Sin embargo, estos linfocitos autorreactivos se-

rán desactivados cuando reconozcan su antígeno presentado por APC que no les aportan las señales coestimuladoras. Este hecho explica el fuerte vínculo existente entre la infección y la aparición de una enfermedad autoinmune.

Para evitar que grandes cantidades de antígenos propios sean accesibles a las APC, el *debrís* (restos celulares) en los tejidos debe ser retirado y destruido rápidamente. Esto se logra mediante la muerte celular por apoptosis que evita la liberación del contenido celular al medio externo, o la autofagia que recicla componentes celulares. Como vimos en la actualización sobre respuesta inmune innata, existe una gran variedad de mecanismos de búsqueda y eliminación de restos celulares, entre los que se encuentran el sistema del complemento, ciertas proteínas de fase aguda (por ejemplo, la proteína C reactiva) y los receptores *scavenger* de los fagocitos. Defectos del complemento o de los fagocitos están asociados con el desarrollo de autoinmunidad contra las moléculas intracelulares.

Anergia, apoptosis y autofagia. Existen mecanismos activos de tolerancia periférica que también operan después del reconocimiento del antígeno. Estos implican la eliminación de la célula autorreactiva por apoptosis o la inducción de un estado de no respuesta funcional o anergia (fig. 1). Las células Th novatas necesitan dos señales para activarse e iniciar una respuesta inmune: una señal específica de an-

tígeno a través del TCR y, en segundo lugar, una señal de coestimulación no específica, generalmente a través de la unión de CD28 (en la célula de T) a un miembro de la familia B7 (CD80 o CD86) en la APC. Si la célula T recibe ambas señales se activa, prolifera y produce citoquinas. Si no hay señalización a través de las moléculas coestimuladoras, entonces la estimulación a través del TCR solo conduce a una larga anergia o a la muerte de la célula de T por apoptosis⁸.

Debido a su importancia, la expresión de estas moléculas coestimuladoras está muy controlada. La expresión restringida de las moléculas coestimuladoras significa que, incluso si una célula T reconoce un complejo péptido/MHC específico de un tejido (por ejemplo, un antígeno derivado de una célula de un islote pancreático), entonces es probable que esa célula sufra anergia en lugar de activación, pues en ese tejido sano la APC no expresará moléculas de coestimulación. La expresión de estas moléculas puede ser inducida en otras células por una variedad de estímulos, generalmente en asociación con inflamación o daño celular.

Además, el patrón de estimulación a través del TCR también puede ser importante en la determinación de si una célula se activa o se vuelve anérgica. La estimulación continua de baja intensidad de un pequeño número de receptores de antígeno de la célula T (como podría ocurrir con un antígeno propio) tiende a producir anergia; sin embargo, la estimulación fuerte y que aumenta rápidamente (como en la infección) favorece la activación.

Los linfocitos T maduros que reconocen antígenos propios con alta afinidad y que son estimulados repetidamente pueden morir por apoptosis. La apoptosis es un modo de muerte activo y fisiológico en el que una célula diseña y ejecuta el programa de su propia muerte. Existen dos tipos generales de vías de señalización que permiten el inicio de la activación de caspasas iniciadoras de la muerte por apoptosis. La primera de ellas depende de la participación de la mitocondria y la segunda implica a los receptores de muerte como son el receptor 1 del TNF (TNFR-1) y Fas (CD95). Los linfocitos T que reconocen antígenos propios sin coestimulación pueden activar la expresión de proteínas proapoptóticas como Bim, lo que puede dar lugar al inicio de la apoptosis por la vía mitocondrial (o intrínseca). La activación de esta vía se produce cuando la cantidad de proteínas proapoptóticas (por ejemplo, Bim o Bax) es mayor que la de antiapoptóticas (por ejemplo, Bcl-2). Por otro lado, la activación prolongada de linfocitos T da lugar a la coexpresión de receptores de muerte y de sus ligandos cuya unión a los receptores de muerte desencadena la muerte por la vía extrínseca de apoptosis. En los linfocitos Th, el receptor de muerte más importante es Fas (CD95) y su ligando es el ligando de Fas (FasL). Cuando los linfocitos T se activan de forma repetida, FasL se expresa en la superficie celular y se une al Fas de la superficie situado en los mismos linfocitos T o adyacentes, lo que da como resultado la denominada muerte celular inducida por activación (AICD —*activation-induced cell death*—)⁹. Este proceso es necesario para evitar respuestas inmunitarias excesivas y para eliminar las células T autorreactivas.

La autofagia es un proceso celular homeostático conservado durante la evolución a través del cual las células contro-

lan su biomasa citoplasmática, el número y distribución de los orgánulos, elimina agregados proteicos perjudiciales, patógenos y procesa proteínas extrañas o propias para ser presentadas. En los seres humanos, la autofagia está implicada en muchos estados de salud y enfermedad, incluyendo el cáncer, la neurodegeneración, la edad, la inmunidad y el mantenimiento de la homeostasis. Por ejemplo, ante la falta de apoptosis, la autofagia es inducida para prevenir la inflamación provocada por necrosis en un microambiente tumoral con moléculas de estrés. Además, se han encontrado alteraciones en la autofagia de los linfocitos T en muchas enfermedades autoinmunes como, por ejemplo, el lupus eritematoso sistémico (LES) y la artritis reumatoide^{10,11}.

Regulación de la supresión. La supresión de las respuestas inmunes no deseadas es tan importante que hay mecanismos adicionales de tolerancia periférica para ello, entre los que se incluye la supresión activa de las células T autorreactivas por Treg. Existen Treg inducidas, que son antígeno-específicas y que reconocen el mismo antígeno que las células T efectoras, así como Treg naturales, que son antígeno-inespecíficas. Las Treg las estudiaremos en profundidad más adelante.

Las células T activadas también pueden expresar moléculas de superficie celular estructuralmente similares a las moléculas coestimuladoras, pero que ejercen un efecto negativo en la activación de células T. En particular, CTLA-4 (*Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4*) tiene una estructura similar a CD28 y se une a los mismos ligandos, aunque con mayor afinidad, para prevenir o limitar la activación. La unión de CTLA-4 a CD80 o CD86 induce anergia o la muerte por apoptosis, como una contraparte negativa a la coestimulación que puede ser importante en el «apagado» de las respuestas inmunes. Esta característica se ha aprovechado para el desarrollo de una terapia basada en inducir una «autoinmunidad» beneficiosa en pacientes con melanoma mediante el uso de anticuerpos monoclonales que bloquean la señal reguladora de CTLA4. La eliminación de esta inhibición en estos pacientes, que podría estar evitando el rechazo del tumor, permite a los linfocitos Tc destruir las células de melanoma maligno¹².

Tolerancia periférica en los linfocitos Tc. La mayor parte del conocimiento que existe actualmente sobre la tolerancia periférica se centra en los linfocitos Th. Es probable que, si los linfocitos Tc reconocen péptidos asociados a MHC de clase I sin coestimulación ni colaboración del linfocito Th, los linfocitos CD8+ se vuelvan anérgicos. También, los receptores inhibidores como PD-1 suprimen la activación de los linfocitos Tc y pueden participar en la finalización de sus respuestas, en un fenómeno denominado agotamiento. Por último, los linfocitos Tc que se exponen a elevadas concentraciones de antígenos propios también pueden sufrir una muerte celular por apoptosis.

Hay evidencias en ratones de una subpoblación de células T reguladoras CD8+ específicas (conocidas como CD8+Ti) que contribuyen a la tolerancia periférica y tienen características particulares (activación de genes de interferón y apoptosis) que sugieren un fenotipo protector¹³. Sin embargo, tiene que definirse su función en seres humanos.

Tolerancia de los linfocitos B

La tolerancia de los linfocitos B es necesaria para mantener la falta de respuesta a antígenos propios independientes del timo, como los polisacáridos y los lípidos, aunque también interviene en el bloqueo de las respuestas de anticuerpos a antígenos proteínicos.

Tolerancia central

Los mecanismos de tolerancia central en los linfocitos B son muy similares a los de los linfocitos T, en el hecho de que reconocen el antígeno sin procesar y sin estar presentado en moléculas MHC. Los linfocitos B inmaduros que se están diferenciando en la médula ósea y que reconocen antígenos propios con alta afinidad o son editados y cambian su especificidad o son eliminados.

La edición de receptores autorreactivos permite la reprogramación genética de la célula B para que genere otro receptor no autorreactivo mediante reordenamientos adicionales de los genes que codifican para el receptor, cambiando así la especificidad antigénica de la célula B. Si la edición fracasa, los linfocitos B inmaduros pueden morir por apoptosis. Estos mecanismos de eliminación aún no están bien definidos.

Los linfocitos B en desarrollo que presentan una afinidad baja por antígenos propios y no entrecruzan muchos receptores (antígenos solubles, generalmente), pierden su capacidad de respuesta funcional (anergia) y salen a la periferia en ese estado refractario.

Tolerancia periférica

La tolerancia de los linfocitos B está menos afinada que la mediada por los linfocitos T. Los linfocitos B maduros que reconocen antígenos propios en los tejidos periféricos sin linfocitos Th específicos pueden perder su capacidad de respuesta funcional o morir por apoptosis. Esto implica que la regulación de la tolerancia de los linfocitos B está al menos parcialmente dirigida por los linfocitos Th. Generalmente, para activar a un linfocito B autorreactivo se requiere la activación previa de un linfocito T específico del mismo autoantígeno. Por ello, la producción de anticuerpos autorreactivos está limitada principalmente por la falta de colaboración de células T específicas de esos antígenos propios.

Por otro lado, la hipermutación somática que se produce en los centros germinales tiene el riesgo de generar linfocitos B autorreactivos. Estos linfocitos B activados y autorreactivos pueden ser eliminados por la interacción de FasL expresado por los linfocitos Th con el Fas expresado en la célula B activada. Además, si una nueva célula B hipermutada se une a un antígeno propio, la ausencia de colaboración de la célula T antígeno-específica induce entonces la apoptosis o la anergia en la célula B. Por todo lo dicho, hay algunas similitudes entre la activación de células T y B y la tolerancia como, por ejemplo, que se requieran dos señales para su activación y que la presencia única de la señal específica de antígeno conduzca a la muerte celular o a la anergia.

Las células B también presentan funciones inmunosupresoras a través de diversos mecanismos. Existe una subpoblación de células B conocida como células B reguladoras (Breg) que contribuye al mantenimiento de la tolerancia, principalmente por medio de la producción de IL-10¹⁴. Se han descrito alteraciones, tanto en las cifras absolutas en sangre periférica como en su función, en diversas enfermedades autoinmunes, incluyendo LES y artritis reumatoide^{15,16}.

Las Breg pueden alterar la función efectora de las células T al disminuir la diferenciación Th1 y Th17, mientras aumenta la presencia de Treg¹⁷. Este efecto parece que depende de la producción de TGF- β por las Breg¹⁸. En presencia de Breg, las células dendríticas (DC) disminuyen su capacidad de presentación antigénica y aumentan su producción de IL-4, mientras que disminuyen su producción de IL-12¹⁹. Finalmente, la estimulación de las Breg da como resultado la sobreexpresión de FasL que puede matar a las células diana que expresen Fas.

Tolerancia mediada por células T reguladoras

Uno de los actores principales en el mantenimiento del equilibrio entre respuesta inmune y tolerancia inmunológica es la acción de un linaje de células T con propiedades inmunosupresoras conocidas como Treg. Estas células constituyen del 5 al 10% del compartimento linfocitario Th circulante²⁰ y se identifican por una expresión estable del factor de transcripción FOXP3 y elevadas cantidades de la cadena α del receptor de IL-2 (CD25) y desempeñan un papel fundamental en el mantenimiento de la tolerancia periférica (fig. 1). Una reducción en el número o en la capacidad funcional de las Treg puede dar como resultado patologías asociadas a la respuesta inmune y autoinmunidad²¹. La manipulación clínica de las Treg está siendo investigada en trasplantes, terapia antitumoral y autoinmunidad²².

El factor de transcripción FOXP3. Entre los muchos marcadores celulares que se asocian con el desarrollo y función de las células Treg, la expresión del factor de transcripción FOXP3 es la característica más específica que distingue las células Treg de otros linajes de linfocitos cooperadores²³. FOXP3 evita además que se activen genes de citoquinas efectoras que son propias de otros linajes de linfocitos Th e inhibe la función del factor de transcripción ROR γ t, necesario para la diferenciación de células Th17²⁴. Sin embargo, a pesar de la importancia de FOXP3, no se puede considerar un marcador único de células Treg, ya que su sola expresión no es suficiente para conferir una función reguladora y una proporción considerable de células T activadas pueden expresar FOXP3 de manera intermitente sin adquirir propiedades supresoras²⁵.

Mecanismos de acción de las Treg. La característica central de las células Treg es su función supresora. El conocimiento del mecanismo de acción tiene especial relevancia, ya que puede dar información sobre posibles dianas terapéuticas.

Se han descrito varios posibles mecanismos de regulación que pueden agruparse en cuatro modos de acción que incluyen la producción de citoquinas inhibitorias, la citolisis,

la modulación de CD y la disrupción metabólica²⁶. Las Treg pueden producir diversas proteínas con función inmunomoduladora como las citoquinas IL-10, TGFβ e IL-35²⁷ o granzimas y perforina capaces de causar la citólisis de las células efectoras²⁸. La expresión de CTLA-4 en las células Treg puede suprimir la expresión de moléculas coestimuladoras en CD²⁹. Las células Treg expresan además las ectoenzimas CD39 y CD73. Estas enzimas facilitan la conversión del ATP extracelular en adenosina, lo que inhibe la función de las células efectoras a través de receptores de adenosina³⁰. Por último, el consumo de IL-2 por parte de las células Treg puede inducir apoptosis mediada por privación de citoquinas. El consumo de IL-2 parece tener un papel esencial en el control de las respuestas de células Tc, pero es prescindible en el control de células Th. Aunque las células Treg pueden usar múltiples mecanismos de supresión y ninguno de ellos cubre por completo el espectro de la función supresora, la señalización a través del TCR e IL-2 son indispensables para la actividad supresora³¹.

Inmunoterapia mediante Treg. Existen evidencias de que alteraciones en el número o una pérdida de función de células Treg causa o perpetúa la autoinmunidad, y su manipulación ha demostrado ejercer potentes efectos inmunosupresores en modelos preclínicos de diversas patologías. Numerosas estrategias para modificar estas células con un objetivo terapéutico están siendo desarrolladas.

El requerimiento único de las células Treg de IL-2 exógena, la expresión constitutiva de CD25 y la asociación de una pobre respuesta a IL-2 con autoinmunidad hacen de la señalización a través de IL-2 una diana ideal para la manipulación terapéutica. Mientras que altas concentraciones de IL-2 *in vivo* potencian a las células T efectoras, bajas concentraciones parecen estimular específicamente la supervivencia y el crecimiento de las células Treg. En un ensayo con bajas concentraciones de IL-2 en diabetes tipo 1 se halló un aumento de Treg y una supresión de la respuesta de células T efectoras contra antígenos de células beta pancreáticas³². Esta estrategia se ha probado con éxito en el LES³³ y está siendo utilizada en otras enfermedades de origen autoinmune.

Otra estrategia prometedora es la transferencia de células Treg. En dos ensayos en diabetes tipo 1 las células Treg fueron expandidas policlonalmente *in vitro* y transferidas de nuevo a los pacientes sin efectos adversos²². El tratamiento mejoró la supervivencia de células beta pancreáticas y se ha observado que las células Treg permanecen presentes al menos un año sin pérdida de su fenotipo regulador.

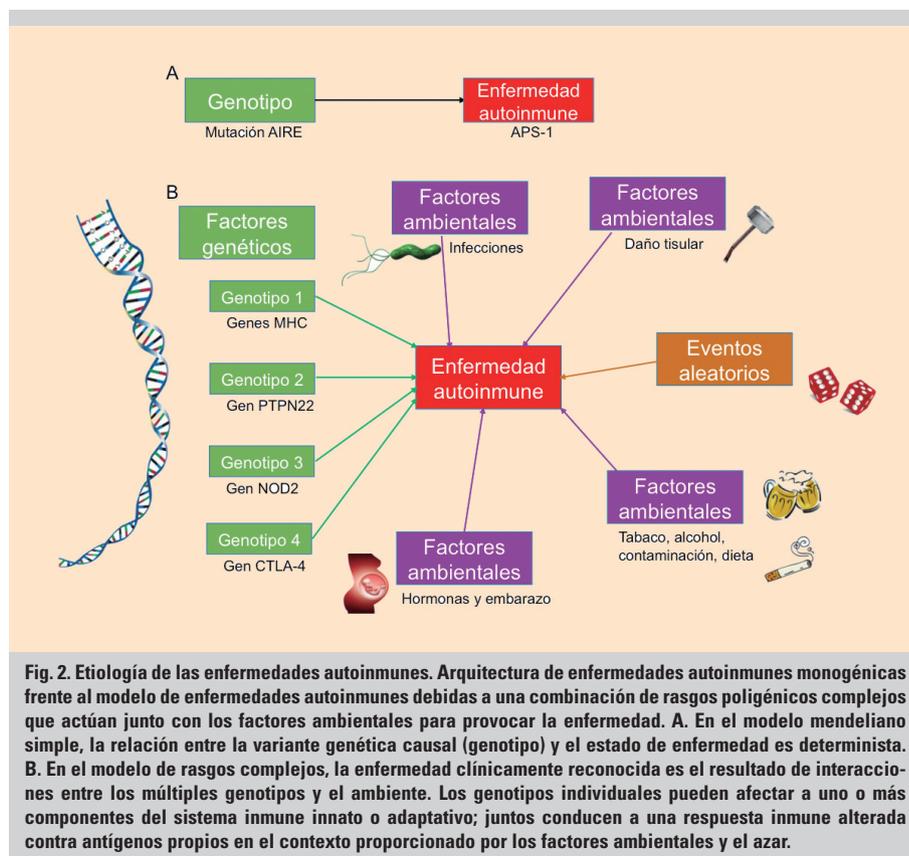


Fig. 2. Etiología de las enfermedades autoinmunes. Arquitectura de enfermedades autoinmunes monogénicas frente al modelo de enfermedades autoinmunes debidas a una combinación de rasgos poligénicos complejos que actúan junto con los factores ambientales para provocar la enfermedad. **A.** En el modelo mendeliano simple, la relación entre la variante genética causal (genotipo) y el estado de enfermedad es determinista. **B.** En el modelo de rasgos complejos, la enfermedad clínicamente reconocida es el resultado de interacciones entre los múltiples genotipos y el ambiente. Los genotipos individuales pueden afectar a uno o más componentes del sistema inmune innato o adaptativo; juntos conducen a una respuesta inmune alterada contra antígenos propios en el contexto proporcionado por los factores ambientales y el azar.

Etiología de las enfermedades autoinmunes

Los mecanismos por los que los linfocitos autorreactivos escapan a la tolerancia y son activados, así como el desarrollo y la aparición de la enfermedad autoinmune no están esclarecidos³⁴. Sin embargo, el desarrollo de una enfermedad autoinmune es multifactorial (fig. 2). La propensión genética es un factor importante y determinados conjuntos de alelos de genes pueden predisponer a la enfermedad. Los factores ambientales como la infección y la lesión tisular parecen fundamentales en su desarrollo, pues se han encontrado asociaciones claras entre infecciones por determinados patógenos y la aparición de una enfermedad autoinmune. Los mecanismos subyacentes a este proceso los detallaremos más adelante. El estado y la historia reproductiva de la mujer también se han postulado como factores ambientales que promueven o bloquean el desarrollo de determinadas enfermedades autoinmunes. Otros factores ambientales como el tabaco, el alcohol, la contaminación, los tóxicos, etc. también se han relacionado, aunque más indirectamente, con la aparición de enfermedades autoinmunes. Otros factores de riesgo, como los cambios en el microbioma del huésped y las alteraciones epigenéticas en las células de sistema inmune pueden desempeñar funciones importantes en la patogenia, pero los estudios sobre estos temas están en sus comienzos.

Factores genéticos

El componente genético es un factor importante en el desarrollo de la mayoría de las enfermedades autoinmunes pero no es determinista. Al realizar estudios de concordancia se observó que los gemelos homocigóticos presentaban unas ratios de concordancia entre el 15-30% y los dicigóticos entre el 5-10%³⁴.

La mayoría de las enfermedades autoinmunes se deben a una combinación de rasgos poligénicos complejos, en los que los sujetos afectados heredan múltiples polimorfismos génicos que contribuyen a la propensión a la enfermedad, y estos genes actúan junto con los factores ambientales para favorecer el desarrollo de la enfermedad.

Perfiles genéticos simples asociados con autoinmunidad

Existen algunos defectos en genes individuales que conducen a la autoinmunidad, si bien son muy poco prevalentes. Estos genes son muy importantes en el mantenimiento de la tolerancia a lo propio y suelen heredarse de manera autosómica dominante (fig. 2).

Un ejemplo citado anteriormente es el gen AIRE, situado en el cromosoma 21. Este gen es esencial en los mecanismos de tolerancia central. Mutaciones con pérdida de función en este gen provocan el APS-1 debido a la baja expresión de antígenos propios en el timo, que da como resultado una selección negativa defectuosa de células T autorreactivas³⁵.

Hay otros defectos monogénicos que causan una enfermedad autoinmune como IPEX (*Dysregulation immune, Polyendocrinopathy, Enteropathy, X-Linked*) donde la mutación que causa la enfermedad está en el gen *FOXP3*, produciendo una ausencia de Treg que provoca una autoinmunidad multiorgánica.

Otras mutaciones afectan a la anergia de linfocitos autorreactivos y a la función de los linfocitos Treg como pueden ser las mutaciones de CTLA-4, así como a la regulación de la apoptosis de los linfocitos T y B periféricos como mutaciones en Fas y FasL.

Grupos de genes de susceptibilidad a la autoinmunidad

Los trastornos monogénicos son útiles para el estudio de cómo variaciones genéticas (polimorfismos) en diversos genes, cada uno en sí mismo incapaz de producir autoinmunidad por cuenta propia, y los factores ambientales podrían interactuar para permitir el desarrollo de enfermedades autoinmunes poligénicas³⁴ (fig. 2). Los Estudios de Asociación del Genoma Completo (GWAS —*Genome-Wide Association Studies*—) han proporcionado mucha información en el papel de toda una serie de genes.

El nexo más firme con la predisposición a enfermedad autoinmunitaria corresponde al MHC³⁶. La tipificación del MHC en grandes grupos de pacientes con varias enfermedades autoinmunes ha mostrado que algunos alelos del MHC aparecen con mayor frecuencia en estos pacientes que en la población general. A partir de estos estudios, podemos calcular la razón de probabilidades del desarrollo de una enfermedad autoinmune en sujetos que heredan varios alelos del MHC (referido habitualmente como riesgo relativo). Analizando también la frecuencia relativa de esos alelos en una población

particular, podemos estimar el riesgo atribuible a la población (PAR —*Population Attributable Risk*—). La asociación más fuerte se da entre la espondilitis anquilosante y el alelo HLA-B27. Los sujetos que presentan el HLA-B27 poseen una probabilidad 100 veces mayor de sufrir espondilitis anquilosante que los que no lo tienen. Si bien es cierto que la mayoría de los pacientes con espondilitis anquilosante son HLA-B27+, lo contrario no lo es, ya que el hecho de poseer dicho alelo no garantiza el desarrollo de la enfermedad, y solo un bajo porcentaje de los individuos que presentan el alelo desarrollan la enfermedad. No se conoce el mecanismo de esta enfermedad ni la base de su asociación al HLA-B27, si bien parece que las infecciones con determinadas especies de bacterias podrían ser un desencadenante como veremos más adelante.

Se ha propuesto que el vínculo entre el genotipo del MHC y la enfermedad autoinmune se encuentra en la diferente capacidad de las distintas variantes alélicas de las moléculas del MHC para presentar los péptidos autoantigénicos a los linfocitos T autorreactivos. Una hipótesis alternativa señala la trascendencia de los alelos del MHC en la configuración del repertorio de los linfocitos T durante la ontogenia de estos linfocitos en el timo. Asimismo, determinados productos de los genes del MHC pueden ser el origen de péptidos que serían reconocidos por los linfocitos T. La reactividad cruzada entre los péptidos del MHC y los péptidos derivados de las proteínas producidas por los microbios comunes puede desencadenar la autoinmunidad por mimetismo molecular. No obstante, el genotipo del MHC, por sí solo, no determina el desarrollo de autoinmunidad. Los gemelos idénticos tienen mucha más probabilidad de padecer la misma enfermedad autoinmunitaria que los hermanos no gemelos con idéntico MHC, lo cual sugiere la existencia de otros factores genéticos, aparte del MHC, que también influyen en la predisposición a la enfermedad. Estudios recientes sobre la genética de la diabetes tipo 1, el LES y la esclerosis múltiple en el ser humano y el ratón han puesto de manifiesto la existencia de varios *loci* de predisposición a la enfermedad, además del MHC, que actúan independientemente.

Existen otros muchos polimorfismos de genes que se asocian al desarrollo de diversas enfermedades autoinmunes. Por ejemplo, PTPN22 (*protein tyrosine phosphatase, nonreceptor type*) codifica para una fosfatasa que está relacionada con el desarrollo de artritis reumatoide y diabetes tipo I, aparentemente al estar implicada en la traducción de señales a través del TCR y del BCR. Las frecuencias alélicas del alelo de riesgo PTPN22 son más altas en el norte de Europa (Países Nórdicos y Reino Unido), donde estas enfermedades autoinmunes son más prevalentes. También, polimorfismos de NOD2 (ver actualización sobre respuesta inmune innata) se han asociado con la enfermedad de Crohn, quizás debido a que su función reducida no proporcione una defensa eficaz contra determinados microbios intestinales³⁷.

Factores ambientales. Papel de las infecciones en el desarrollo de enfermedades autoinmunes

Las infecciones, tanto víricas como bacterianas, pueden contribuir al desencadenamiento y exacerbación de las enferme-

dades autoinmunes³⁸ (fig. 2). En la mayoría de las ocasiones, el microorganismo infeccioso no está presente en las lesiones y no es siquiera detectable en el sujeto cuando surge la enfermedad autoinmune. Por tanto, las lesiones de la autoinmunidad no se deben al propio microorganismo infeccioso, sino a las respuestas inmunitarias que se inducen contra él o que están reguladas inadecuadamente.

La infección de un órgano provoca la expresión de moléculas coestimuladoras en las APC y la inducción de patrones de ataque al patógeno, así como la presentación de antígenos propios en un contexto inflamatorio. Esto puede conducir al desarrollo de autoinmunidad como vimos anteriormente. Se han hecho muchos intentos en algunas enfermedades autoinmunes, especialmente la artritis reumatoide y la esclerosis múltiple, para identificar las infecciones desencadenantes, pero hasta ahora sin éxito.

La similitud estructural entre proteínas propias y de microorganismos también puede desencadenar una respuesta autoinmune³⁹. Esta reactividad cruzada puede causar expansión de determinadas poblaciones de células T respondedoras. Estas células T pueden reconocer entonces péptidos propios si las condiciones locales permiten la migración de estas células autorreactivas y la presentación de este péptido en moléculas MHC de clase II. Este proceso se conoce como mimetismo molecular. El mimetismo molecular se produce cuando los patógenos imitan moléculas del huésped para beneficiarse de la tolerancia a antígenos propios y eludir de este modo la respuesta inmune. Así, el sistema inmune tiene que «decidir» si responde eficazmente contra el patógeno, con la posibilidad de desarrollar colateralmente una enfermedad autoinmune, o si no lo agrede con virulencia con la posible victoria del patógeno. Existen ejemplos clínicos en los que el mimetismo molecular puede inducir respuestas inmunes que provocan autoinmunidad. En algunos casos la asociación causal es muy clara. Por ejemplo, en la fiebre reumática la reacción cruzada entre antígenos de la proteína M del estreptococo grupo A, y la miosina del huésped desencadena procesos inflamatorios en tejidos musculares (miocardio). Las espondiloartropatías se producen tras infecciones por *Yersinia*, *Klebsiella* o *Shigella*, si bien la relación causal no está tan clara.

Por otro lado, la infección también puede ejercer una influencia totalmente diferente en el desarrollo de las enfermedades autoinmunes. Las enfermedades autoinmunes tienden a ser menos frecuentes en las partes del mundo con una alta carga de enfermedades parasitarias y otras infecciones⁴⁰. Curiosamente, en algunos modelos animales de autoinmunidad (por ejemplo, en ratones NOD) el desarrollo de la enfermedad puede ser drásticamente inhibido manteniendo los animales en un entorno con una alta prevalencia de infección. El mantenimiento de los mismos animales en condiciones libres de gérmenes promueve el desarrollo de la autoinmunidad. Los mecanismos subyacentes a esta protección inespecífica de la autoinmunidad por infección (y posiblemente otros factores ambientales) no están aún esclarecidos.

Por último, el microbioma intestinal y cutáneo puede influir en el desarrollo de las enfermedades autoinmunes. Los microbios comensales ejercen efectos significativos sobre la maduración y activación del sistema inmunitario, si bien los

mecanismos por los que esto sucede no están bien comprendidos actualmente⁴¹.

Otros factores implicados en enfermedades autoinmunes

El sexo es un factor importante en el desarrollo de enfermedades autoinmunes. La mayoría de los enfermos con autoinmunidad son mujeres (80%) y actualmente se desconoce la base inmunológica de este hecho⁴² (fig. 2). Las influencias hormonales desempeñan cierto papel en algunas enfermedades autoinmunes y parecen la causa más obvia. La alta incidencia de enfermedades autoinmunes durante los años reproductivos y la presencia de brotes frecuentes durante el embarazo al igual que, por ejemplo, el aumento de los niveles plasmáticos de estrógenos en pacientes con LES, así lo apuntan. Además, ratones tratados con estradiol tienden a desarrollar LES. Sin embargo, los estudios que comparan los perfiles de hormonas sexuales entre los pacientes con enfermedad autoinmune y los controles demuestran una ausencia de correlación.

Se ha postulado también que la patogénesis de las enfermedades autoinmunes y el predominio en el sexo femenino pueden ser secundarias a la presencia en las mujeres afectadas de células fetales masculinas alogénicas décadas después del embarazo (microquimerismo fetal). Una hipótesis es que podría responderse contra antígenos de estas células, que no deja de ser alogénico, y esto colateralmente podría provocar una respuesta contra antígenos propios. Sin embargo, otros estudios han demostrado también que el microquimerismo fetal y materno adquirido naturalmente son comunes en individuos sanos.

Además, existen muchos genes implicados en la tolerancia a lo propio que se encuentran en el cromosoma X como, por ejemplo, FoxP3. Las mujeres con síndrome de Turner presentan características autoinmunes y las mujeres con enfermedades autoinmunes presentan una frecuencia significativamente mayor de células de sangre periférica con un solo cromosoma X (monosomía X) en comparación con las mujeres sanas.

El uso de determinados medicamentos puede desencadenar la aparición de una enfermedad autoinmune en una baja proporción de los individuos tratados. Los mecanismos autoinmunes que subyacen a la autoinmunidad inducida por medicamentos pueden involucrar mecanismos similares al mimetismo molecular, o depender de la capacidad del medicamento para unirse directamente a la hendidura de unión al péptido de las moléculas de MHC y, por lo tanto, inducir directamente respuestas de células T anormales. Los medicamentos también pueden tener efectos inesperados como adyuvante intrínseco o efectos inmunomoduladores que perturben los mecanismos normales de tolerancia, por ejemplo, la autoinmunidad contra la tiroides puede aparecer tras el tratamiento de interferón- α .

Por último, las alteraciones en los tejidos causadas por la inflamación, la lesión isquémica o el traumatismo pueden provocar la exposición de antígenos propios que normalmente están ocultos al sistema inmunitario (tejidos privile-

giados). Como vimos anteriormente, estos antígenos secuestrados pueden no haber inducido tolerancia frente a lo propio. Por tanto, si se liberan estos antígenos propios que antes estaban ocultos, y lo hacen en un contexto de señales de daño, pueden interactuar con linfocitos maduros autorreactivos e inducir respuestas inmunitarias específicas. Ejemplos de antígenos secuestrados en zonas anatómicas son las proteínas intraoculares y el espermatozoide. Se cree que la uveítis y la orquitis postraumáticas se deben a respuestas autoinmunitarias contra antígenos propios que se liberan de sus localizaciones normales por traumatismos.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Bibliografía

● Importante ●● Muy importante

- ✓ Metaanálisis
- ✓ Ensayo clínico controlado
- ✓ Epidemiología
- ✓ Artículo de revisión
- ✓ Guía de práctica clínica

1. Root-Bernstein R, Fairweather D. Complexities in the relationship between infection and autoimmunity. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2014;14(1):407.
2. ● Rosenblum MD, Remedios KA, Abbas AK. Mechanisms of human autoimmunity. *J Clin Invest.* 2015;125(6):2228-33.
3. McCombe PA, Greer JM, Mackay IR Sexual dimorphism in autoimmune disease. *Curr Mol Med.* 2009;9(9):1058-79.
4. ●● Bluestone JA, Bour-Jordan H, Cheng M, Anderson M. T cells in the control of organ-specific autoimmunity. *J Clin Invest.* 2015;125(6):2250-60.
5. ●● Bluestone JA. Mechanisms of tolerance. *Immunol Rev.* 2011;241(1):5-19.
6. Anderson MS, Venzani ES, Klein L, Chen Z, Berzins SP, Turley SJ, et al. Projection of an immunological self shadow within the thymus by the aire protein. *Science.* 2002;298(5597):1395-401.
7. Mills KH1. TLR-dependent T cell activation in autoimmunity. *Nat Rev Immunol.* 2011;11(12):807-22.
8. Strasser A, Bouillet P. The control of apoptosis in lymphocyte selection. *Immunol Rev.* 2003;193:82-92.
9. Zhang J, Xu X, Liu Y. Activation-induced cell death in T cells and autoimmunity. *Cell Mol Immunol.* 2004;1(3):186-92.
10. Alessandri C, Barbati C, Vacirca D, Piscopo P, Confalonni A, Saánchez M, et al. T lymphocytes from patients with systemic lupus erythematosus are resistant to induction of autophagy. *FASEB J.* 2012;26(11):4722-32.
11. Xu K, Xu P, Yao JF, Zhang YG, Hou WK, Lu SM. Reduced apoptosis correlates with enhanced autophagy in synovial tissues of rheumatoid arthritis. *Inflamm Res.* 2013;62(2):229-37.

12. Caspi RR. Immunotherapy of autoimmunity and cancer: the penalty for success. *Nat Rev Immunol.* 2008;8(12):970-6.
13. ● Singh RP, Waldron RT, Hahn BH. Genes, tolerance and systemic autoimmunity. *Autoimmun Rev.* 2012;11(9):664-9.
14. Kim JI, Rothstein DM, Markmann JF. Role of B cells in tolerance induction. *Curr Opin Organ Transplant.* 2015;20(4):369-75.
15. Blair PA, Noreña LY, Flores-Borja F, Rawlings DJ, Isenberg DA, Ehrenstein MR, et al. CD19(+) CD24(hi)CD38(hi) B cells exhibit regulatory capacity in healthy individuals but are functionally impaired in systemic lupus erythematosus patients. *Immunity.* 2010;32:129.
16. Flores-Borja F, Bosma A, Ng D, et al. CD19+CD24hiCD38hi B cells maintain regulatory T cells while limiting TH1 and TH17 differentiation. *Sci Transl Med.* 2013;5:173ra23.
17. Gray M, Miles K, Salter D, Gray D, Savill J. Apoptotic cells protect mice from autoimmune inflammation by the induction of regulatory B cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(35):14080-5.
18. Lee KM, Stott RT, Zhao G, SooHoo J, Xiong W, Lian MM, et al. TGF-beta-producing regulatory B cells induce regulatory T cells and promote transplantation tolerance. *Eur J Immunol.* 2014;44(6):1728-36.
19. Matsushita T, Horikawa M, Iwata Y, Tedder TF. Regulatory B cells (B10 cells) and regulatory T cells have independent roles in controlling experimental autoimmune encephalomyelitis initiation and late-phase immunopathogenesis. *J Immunol.* 2010;185(4):2240-52.
20. ● Baecher-Allan C, Viglietta V, Hafler DA. Human CD4+CD25+ regulatory T cells. *Semin Immunol.* 2004;16(2):89-98.
21. Long SA, Buckner JH. CD4+FOXP3+ T regulatory cells in human autoimmunity: more than a numbers game. *J Immunol.* 2011;187(5):2061-6.
22. Bluestone JA, Buckner JH, Fitch M, Gitelman SE, Gupta S, Hellerstein MK, et al. Type 1 diabetes immunotherapy using polyclonal regulatory T cells. *Sci Transl Med.* 2015;7(315):315ra189.
23. Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY. Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Nat Immunol.* 2003;4(4):330-6.
24. Zhou L, Lopes JE, Chong MM, Ivanov II, Min R, Victora GD, et al. TGF-beta-induced Foxp3 inhibits T(H)17 cell differentiation by antagonizing RORgamma function. *Nature.* 2008;453(7192):236-40.
25. Wang J, Ioan-Facsinay A, van der Voort EI, Huizinga TW, Toes RE. Transient expression of FOXP3 in human activated nonregulatory CD4+ T cells. *Eur J Immunol.* 2007;37(1):129-38.
26. ●● Vignali DA, Collison LW, Workman CJ. How regulatory T cells work. *Nat Rev Immunol.* 2008;8(7):523-32.
27. Rubtsov YP, Rasmussen JP, Chi EY, Fontenot J, Castelli L, Ye X, et al. Regulatory T cell-derived interleukin-10 limits inflammation at environmental interfaces. *Immunity.* 2008;28(4):546-58.
28. Grossman WJ, Verbsky JW, Tollefsen BL, Kemper C, Atkinson JP, Ley TJ. Differential expression of granzymes A and B in human cytotoxic lymphocyte subsets and T regulatory cells. *Blood.* 2004;104(9):2840-8.
29. Wing K, Onishi Y, Prieto-Martin P, Yamaguchi T, Miyara M, Fehervari Z, et al. CTLA-4 control over Foxp3+ regulatory T cell function. *Science.* 2008;322(5899):271-5.
30. Deaglio S, Dwyer KM, Gao W, Friedman D, Usheva A, Erat A, et al. Adenosine generation catalyzed by CD39 and CD73 expressed on regulatory T cells mediates immune suppression. *J Exp Med.* 2007;204(6):1257-65.
31. Chinen T, Kannan AK, Levine AG, Fan X, Klein U, Zheng Y, et al. An essential role for the IL-2 receptor in Treg cell function. *Nat Immunol.* En prensa. 2016.
32. Rosenzweig M, Churlaud G, Mallone R, Six A, Dérian N, Chaura W, et al. Low-dose interleukin-2 fosters a dose-dependent regulatory T cell tuned milieu in T1D patients. *J Autoimmun.* 2015;58:48-58.
33. von Spee-Mayer C, Siegert E, Abdiramad D, Rose A, Klaus A, Alexander T, et al. Low-dose interleukin-2 selectively corrects regulatory T cell defects in patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* 2016;75(7):1407-15.
34. ●● Rioux JD, Abbas AK. Paths to understanding the genetic basis of autoimmune disease. *Nature.* 2005;435(7042):584-9.
35. Abramson J, Husebye ES. Autoimmune regulator and self-tolerance-molecular and clinical aspects. *Immunol Rev.* 2016;271(1):127-40.
36. ● Gregersen PK, Olsson LM. Recent advances in the genetics of autoimmune disease. *Annu Rev Immunol.* 2009;27:363-91.
37. Lauro ML, Burch JM, Grimes CL. The effect of NOD2 on the microbiota in Crohn's disease. *Curr Opin Biotechnol.* 2016;40:97-102.
38. ● Kivity S, Agmon-Levin N, Blank M, Shoenfeld Y. Infections and autoimmunity--friends or foes? *Trends Immunol.* 2009;30(8):409-14.
39. Doria A, Sarzi-Puttini P, Shoenfeld Y. Infections, rheumatism and autoimmunity: the conflicting relationship between humans and their environment. *Autoimmun Rev.* 2008;8(1):1-4.
40. Romani L. Parasites and autoimmunity: the case of fungi. *Autoimmun Rev.* 2008;8(2):129-33.
41. Honda K, Littman DR. The microbiota in adaptive immune homeostasis and disease. *Nature.* 2016;535(7610):75-84.
42. ● Lleo A, Battezzati PM, Selmi C, Gershwin ME, Podda M. Is autoimmunity a matter of sex? *Autoimmun Rev.* 2008;7(8):626-30.