



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

TÍTULO:

**INMUNOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD
INFLAMATORIA INTESTINAL**

Autores: Cristina Cubero Cabañas

Tutor: Juan José García Rodríguez

Convocatoria: Junio

Resumen

Bajo el concepto de Enfermedad inflamatoria intestinal se incluye un grupo de enfermedades de etiología desconocida que se caracterizan por la inflamación crónica del intestino debido a procesos patogénicos autoinmunes, las principales presentaciones son la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa. Además de la influencia de los factores ambientales y la predisposición genética de los enfermos, se observa una mucosa intestinal con respuesta inmune alterada frente a antígenos de la dieta y de la propia microflora, activándose múltiples mecanismos mediados por diversas células y sustancias que conllevan daño tisular inflamatorio, y con su posterior mantenimiento y progresión, agravamiento y cronicidad. Los mecanismos involucrados en estos procesos son muy complejos y todavía no del todo bien conocidos. Se han identificado defectos tanto en la inmunidad innata como en la adaptativa así como en los sistemas reguladores encargados de contrarrestar la inflamación. El estudio de los componentes de la inmunidad innata y adaptativa involucrados en la patogenia abrirá nuevos horizontes en el conocimiento sobre los mecanismos inmunológicos implicados en la inflamación intestinal pudiendo acercarnos hacia una mayor comprensión y posibilitando el desarrollo de estrategias terapéuticas con mayor eficacia que las actuales.

Abstract

Under the concept of Inflammatory bowel disease are included a group of diseases of unknown etiology that are characterized by chronic inflammation of the intestine due to autoimmune pathogenic processes, the main presentations are Crohn's disease and ulcerative colitis. In addition to the influence of environmental factors and the genetic predisposition of the patients, an intestinal mucosa is observed with an altered immune response to antigens of the diet and to the own microflora, activating multiple mechanisms mediated by various cells and substances that cause inflammatory tissue damage, and with its subsequent maintenance and progression, aggravation and chronicity. The mechanisms involved in these processes are very complex and are not well known yet. Defects have been identified in both innate and adaptive immunity as well as in the regulatory systems, responsible for counteracting the inflammation. The study of the components of the innate and adaptive immunity involved in the pathogenesis, will open new horizons in the knowledge about the immunological

mechanisms involved in the intestinal inflammation, being able to approach towards a greater understanding and enabling the development of therapeutic strategies with greater effectiveness than the current ones.

Introducción y antecedentes

Las mucosas, entre ellas la mucosa intestinal, representan la mayor superficie del organismo expuesta al medio ambiente y, por tanto, a antígenos externos. Por ello cuentan con un sistema inmunitario que carga con la responsabilidad de ser capaz de discernir eficazmente entre patógenos invasivos, potencialmente perjudiciales y reaccionar frente a ellos, y antígenos inocuos, no perjudiciales, y tolerarlos. De esto se encarga en la mucosa intestinal el tejido linfoide asociado al intestino (GALT) que establece una delicada y compleja interconexión entre los elementos que lo constituyen y que supone la parte más extensa y compleja del sistema inmunitario. El GALT se puede subdividir funcional y morfológicamente en dos partes principales: tejido organizado, inductor de la respuesta inmunitaria (placas de Peyer y ganglios linfáticos mesentéricos), y tejido difuso, efector de la respuesta inmunitaria (linfocitos intraepiteliales y células mononucleares de la lámina propia como linfocitos T y B, macrófagos y células dendríticas) ^[1,2].

Las células inmunitarias no están solas en la tarea de prevención de la infección de la mucosa intestinal. En primer lugar encontramos la microbiota intestinal que compite por el espacio y los nutrientes contra patógenos. Recubriendo al epitelio hay una capa de moco, péptidos antimicrobianos e IgA que contribuyen a la defensa del mismo. Por su parte el epitelio intestinal se compone de enterocitos y células especializadas, como células M, células de Paneth o células caliciformes que además de suponer una barrera física son capaces de detectar la presencia de patógenos a través de receptores tipo Toll (TLR) o Nod (NLR), sintetizar o responder a citoquinas y sintetizar péptidos con capacidad antimicrobiana (defensinas) ^[2,3].

En condiciones normales el intestino es capaz de mantener la inflamación controlada mediante diferentes mecanismos moleculares y celulares, lo que tiene como resultado que la barrera intestinal funcione de manera adecuada, es decir, que sea permeable a nutrientes e iones, e impermeable a los microorganismos del lumen ^[4].

La enfermedad inflamatoria intestinal (EII) representa un grupo de enfermedades caracterizadas por una inflamación crónica del intestino. A grandes rasgos se podría explicar como resultado de una activación desequilibrada y exacerbada de la respuesta inmune en la mucosa intestinal, en sujetos genéticamente predispuestos, jugando un papel relevante los factores ambientales. En esta patología se ha evidenciado que a nivel inmunitario el factor desencadenante puede ser una respuesta exagerada frente a la microbiota intestinal, generándose un proceso de hipersensibilidad, aunque también se sugiere un proceso contrario, de hiposensibilidad, hacia ella. Se han encontrado evidencias mediante diversos estudios para ambas condiciones siempre en combinación con la predisposición genética y los factores ambientales ^[4].

La EII engloba dos formas de enfermedad bien definidas, la enfermedad de Crohn (EC) y la colitis ulcerosa (CU), aunque no obstante ninguna presenta signos ni síntomas específicos patognomónicos lo cual en ocasiones da lugar a confusión diagnóstica. Cuando la EII no puede clasificarse de forma consistente en ninguna de estas dos patologías debido a ciertas incongruencias en el diagnóstico clínico, endoscópico e histológico, hablamos de colitis indeterminada ^[5].

El proceso inflamatorio en la EC es transmural por lo que su extensión a áreas más profundas puede dar lugar a fístulas y abscesos intraabdominales, y presenta un patrón parcheado, es decir, encontramos áreas preservadas entre las afectadas. Puede afectar a cualquier parte del tracto gastrointestinal, siendo zonas preferentemente afectadas el íleon terminal y el colon. En el caso de la CU dicha inflamación se encuentra prácticamente restringida a la mucosa del colon y al recto (en casos de enfermedad grave puede afectar parcialmente al íleon terminal), caracterizándose por ser un proceso inflamatorio continuo de predominio mucoso. En ambos casos la enfermedad cursa en brotes que pueden ser más o menos frecuentes ^[6,7].

Las tasas de incidencia y prevalencia han tenido un gran aumento en las últimas décadas y se presume que este hecho se debe a cambios ambientales como por ejemplo la dieta y los estilos de vida entre otros ^[8]. El diagnóstico de la EII se realiza principalmente en adultos jóvenes, es más común en raza blanca, con gran incidencia en judíos y compromiso igual para ambos sexos ^[9].

La etiopatogenia de las EII no está esclarecida por lo que actualmente se considera de etiología multifactorial y desconocida, centrándose las investigaciones en tres focos principales: genética, microbiota y sistema inmunológico.

La EII representa un problema de salud pública importante, ya que afecta a las actividades laborales, educativas y sociales, así como a la calidad de vida de la población que la padece, además de que afecta cada vez más a los grupos de menor edad ^[4]. No existe cura por lo que el tratamiento pretende controlar las manifestaciones clínicas y espaciar las recidivas lo máximo posible en el tiempo disminuyendo asimismo su duración. Teniendo todo esto en cuenta, es de vital importancia seguir avanzando en las investigaciones que pretenden elucidar los procesos etiopatogénicos, logrando alcanzar el suficiente conocimiento que nos permita llegar a un tratamiento eficaz y definitivo.

Objetivos

Reunir la información más relevante sobre algunos de los aspectos fundamentales relacionados con el papel que juega el sistema inmunológico en la patogenia de la EII.

Metodología

Para la realización de la presente revisión bibliográfica se realizó una búsqueda sistemática con el objetivo de localizar artículos, revisiones, libros y tesis sobre el tema de interés. Para ello se acudió a bases de datos tales como PubMed, editoriales comerciales como Elsevier, accediendo a través del buscador especializado científico-académico Google Académico y el gestor bibliográfico Mendeley. Asimismo para asentar ciertos conocimientos básicos sobre la EII se contó con revistas, folletos y libros facilitados por la ACCU (Asociación de enfermos de Crohn y colitis ulcerosa).

Se completó la búsqueda acudiendo a las bibliotecas de Medicina y Enfermería de la Universidad Complutense de Madrid, además se pudo acceder a diversos libros de dichas facultades a través de su biblioteca virtual.

Algunas de las palabras clave que se usaron en dicha búsqueda fueron: inmunología, enfermedad inflamatoria intestinal, citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias, inmunorregulación, respuesta Th1, respuesta Th2, respuesta Th17, células T reguladoras, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa.

Resultados y discusión

La **inmunidad innata** supone la primera defensa contra patógenos en el intestino y se compone en primer lugar de una serie de barreras físicas y químicas que consiguen que los microorganismos potencialmente perjudiciales para el organismo se mantengan aislados con el fin de evitar el contacto con células inmunológicas reactivas de la lámina propia del intestino. Alteraciones en los distintos componentes y células implicadas en el mantenimiento de dicha barrera parecen estar involucradas en procesos patogénicos de la EII ya que el aumento de la permeabilidad de la mucosa intestinal supone la pérdida de la homeostasis inmunológica hacia antígenos que encontramos normalmente en el intestino.

La primera línea de defensa con la que cuenta la mucosa intestinal frente a microorganismos y antígenos es una doble **capa de moco** que recubre todo el epitelio intestinal. Se produce por la polimerización de mucinas formadoras de gel (secretadas por las células caliciformes) que son un tipo de glucoproteína altamente hidrófila que puede unirse a carbohidratos complejos del glicocáliz de la superficie de las células epiteliales ^[10]. Se divide en una capa externa en la que encontramos las bacterias comensales, IgA, mucinas y péptidos antimicrobianos, y a continuación otra interna, que es normalmente estéril ^[11, 12]. Esta capa de moco juega un papel crucial en la homeostasis intestinal ya que bajos niveles de células productoras de mucinas son un indicador de la enfermedad y diversos estudios han demostrado que en ratones *knockout* para la MUC2 se desarrolla colitis y aumenta el riesgo de cáncer colorrectal asociado con la presencia de bacterias en contacto directo con el epitelio intestinal ^[12, 13]. En algunos estudios se comprobó que la capa de moco era más delgada de lo normal en pacientes con EII viéndose facilitada por tanto la penetración de antígenos bacterianos a la mucosa intestinal mientras que en otros se demostró una mayor adhesión de las bacterias en dichos pacientes, no quedó claro si como consecuencia de un cambio en la composición del moco o en las propiedades de adhesión de la flora microbiana ^[6].

Para el mantenimiento de la homeostasis inmunológica en el intestino también es necesario mantener una **barrera epitelial** intacta que constituye la segunda línea de defensa. Esto ha sido probado por diversos estudios en los que la administración oral de DSS (sulfato de dextrato sódico) a ratones implicó una alteración de la permeabilidad conduciendo a una gran entrada de antígenos a la lámina propia lo cual activó en primer lugar mecanismos de la inmunidad innata y posteriormente, con una administración

prolongada de DSS, mecanismos de la respuesta adaptativa resultando en una inflamación crónica ^[6]. El DSS es un polímero sulfatado con capacidad citotóxica sobre las células epiteliales intestinales y los macrófagos que además favorece el aumento de bacterias anaeróbicas gram negativas, lo que junto con el potencial erosivo sobre la barrera intestinal y la inapropiada respuesta de los macrófagos propicia la aparición de las lesiones intestinales ^[14].

El paso de moléculas pequeñas solubles en agua a través del epitelio intestinal se realiza mediante las **uniones estrechas (tight junctions)** que sellan los espacios entre las células epiteliales. Son las uniones intercelulares más apicales y su función es primordial en el mantenimiento de la barrera limitando la translocación de antígenos luminales, se componen de complejos multiproteicos constituidos por distintas familias de proteínas transmembrana ^[15]. Se han identificado defectos en las uniones estrechas en pacientes con EII relacionados con cambios en la regulación de las proteínas que las componen debido a la acción de factores inflamatorios tales como IL-13, IFN γ y TNF α . Tanto la IL-13 como el TNF α aumentan la expresión de la proteína que facilita la formación de poros, claudina-2, lo cual aumenta directamente la permeabilidad ^[10]. Otro ejemplo de la importancia de estas uniones en la función barrera es que en ratones *knockout* para la N-cadherina, molécula de adhesión que conecta las células epiteliales entre sí, se encontraron enterocitos anormales con un gran número de células apoptóticas y huecos en el epitelio desarrollando de forma espontánea colitis ^[6].

La secreción de **defensinas**, proteínas con propiedades bactericidas, se induce como parte de la respuesta inmunitaria innata. En el intestino son secretadas principalmente por las células epiteliales y las células de Paneth. Debido a sus propiedades, las defensinas pueden generar poros de conductancia en las células epiteliales y activar la secreción de IL-8, que recluta a los leucocitos al sitio de infección ^[4]. Encontramos diferentes clases de defensinas, incluyendo las α y β -defensinas, que difieren en su distribución, así como en su regulación. Las α -defensinas se producen principalmente por células de Paneth dentro de las criptas del intestino delgado, mientras que las β -defensinas se producen de forma más amplia y, en particular por las células epiteliales del intestino grueso ^[10]. Varios estudios han demostrado que en la EII existe una disminución de la capacidad de las células de Paneth para secretar defensinas, favoreciéndose así la colonización intestinal por parte de las bacterias patógenas y produciéndose un desequilibrio de citoquinas, lo que ha

llevado a plantear que dicho desequilibrio pueda llegar a provocar la activación constante e inadecuada del sistema inmunitario ^[4, 10, 13]. Asimismo las células de Paneth expresan NOD2, cuyos polimorfismos representan la asociación genética más fuerte con la enfermedad de Crohn hasta la fecha. La reducción de la expresión de las α -defensinas 5 y 6 es aún más pronunciada en los pacientes portadores de una mutación de NOD2, lo que sugiere que un defecto en la producción de defensinas puede representar al menos uno de los mecanismos responsables del riesgo a padecer EC asociado a mutaciones de NOD2 ^[10, 13].

Existen más evidencias que asocian mutaciones genéticas al desarrollo de la EII y que afectan al papel que juega la barrera epitelial. Esto incluye mutaciones de ciertos genes como dos miembros de la familia de **transportadores de cationes orgánicos** (OCT), OCTN1 y OCTN2, que se cree que desempeñan papeles críticos en la eliminación de cationes orgánicos, fármacos y toxinas ambientales. También el gen de resistencia a múltiples fármacos (MDR1), que está implicado en la eliminación de productos bacterianos ^[10, 16].

Otro gran grupo de genes desvelado como importante para el desarrollo de EII es el involucrado en la regulación de la **autofagia**, proceso relacionado con la inflamación por el cual las células secuestran orgánulos citoplasmáticos dentro de autofagosomas que después se fusionan con lisosomas, lo que promueve la destrucción de dichos orgánulos. La autofagia se activa en respuesta a distintos tipos de estrés. ATG16L1, IRGM y PTPN2 son tres genes implicados en la autofagia que por los estudios de asociación de genoma completo han sido asociados con mayor susceptibilidad a sufrir EC. Ratones *knockout* para PTPN2 presentan anomalías en la formación de los autofagosomas y por tanto una autofagia disfuncional, además PTPN2 es un importante inhibidor de la respuesta a citoquinas proinflamatorias como IFN γ o IL-6, debido a su capacidad de defosforilar a STAT1 y STAT3 por lo que su silenciamiento genera una inflamación sistémica. Es, por lo tanto, una proteína implicada en la conexión entre la respuesta inflamatoria y la autofagia y que podría estar también implicada en el mantenimiento de la integridad del epitelio. Existe además una clara asociación entre el receptor NOD2 y el proceso de autofagia ya que este receptor en variantes mutadas no puede desencadenar la formación de vacuolas autofágicas en células dendríticas y epiteliales como sí hace en condiciones normales ^[17]. Varios experimentos indican que las distintas variantes que encontramos en los genes de la autofagia en la EII, como los

que se han comentado anteriormente, se relacionan con una menor secreción de defensinas por parte de las células de Paneth. Dicha conexión también la encontramos en las variantes de los genes que codifican para las **respuestas a proteínas sin plegar**. El estrés del retículo endoplasmático se produce, sobre todo, cuando se acumulan dentro de él proteínas sin plegar. Esto lleva a la activación de XBP-1, que actúa bloqueando la traducción de la proteína y aumentando la expresión de las chaperonas que promueven el plegado adecuado de dicha proteína. Las células de Paneth, al igual que otras células secretoras como las células caliciformes, dependen de la respuesta a las proteínas sin plegar para mantener su función secretora de proteínas y por lo tanto se van a ver afectadas ^[17,18].

Presentan un importantísimo papel en la inmunidad innata los **receptores de reconocimiento de patrones (RRP)**, expresados en muchos tipos celulares incluyendo células epiteliales, macrófagos, células dendríticas y células B. Se encargan de reconocer un número limitado de estructuras altamente conservadas en microorganismos denominadas patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP). La activación de los RRP supone en primera instancia la activación de la actividad fagocítica por parte de macrófagos, buscando disminuir la exposición a patógenos, y asimismo la liberación de quimioquinas y citoquinas proinflamatorias por células epiteliales. En segundo lugar implica la activación de la actividad presentadora de antígenos de las células dendríticas a células T vírgenes. Esto último culmina con la inducción de células efectoras tales como Th1, Th2 y Th17 de las que se hablará más adelante, o bien con la inducción de tolerancia a través de células T reguladoras sobre las que también se discutirá posteriormente ^[6]. Por tanto estos receptores juegan un papel crucial en el mantenimiento de la relación de equilibrio entre la inmunidad y la tolerancia en condiciones normales, y posibilitan la transición entre mecanismos de la respuesta innata y mecanismos de la respuesta adaptativa en caso de que sea necesario combatir algún agente invasor.

El intestino mediante la localización espacial y funcional de los RRP mantiene un estado de inflamación controlada que en caso de EII tornará a inflamación crónica persistente y descontrolada en respuesta a la flora normal y a las bacterias patógenas. Se han descrito dos familias de RRP, los receptores tipo Toll (TLR), que son proteínas transmembrana, y las proteínas NOD (dominios de oligomerización de nucleótidos) que se localizan en el citoplasma reconociendo por tanto productos bacterianos

intracelulares. Se ha demostrado que tanto las variantes genéticas de los PRR como la fisiología de la respuesta derivada de la activación de los mismos participan en el desarrollo y la susceptibilidad a padecer EII. A nivel celular, estos receptores transducen la señal, activando diferentes vías de señalización, donde participan factores de transcripción cruciales en la inducción de la respuesta innata, entre los que se encuentra el NF- κ B^[4]. El NOD2 despierta gran interés dado que sus mutaciones se han asociado a un aumento del riesgo de desarrollar EC por distintos mecanismos, alguno ya comentado anteriormente.

Se ha demostrado que ratones deficientes en **TLRs** como TLR2, TLR4, TLR5 o TLR9, o bien deficientes en la proteína adaptadora MyD88 (utilizada por casi todos los TLRs para activar el factor de transcripción NF- κ B), presentan una susceptibilidad aumentada a la colitis provocada por DSS ya que carecían de tejido reparador. Las señales producidas por los TLRs tienen efectos protectores sobre las células epiteliales del intestino ya que inducen varios factores proliferativos y anti-apoptóticos promoviendo la restitución epitelial y fortaleciendo las uniones intercelulares. Asimismo las señales intrínsecas de los TLRs sobre las células epiteliales juegan también un papel central al limitar la colonización y translocación bacteriana debido a que estimulan la producción de péptidos antimicrobianos por parte de estas células^[10, 12, 16].

La activación de los receptores citosólicos **NLRs** también es importante para mantener la funcionalidad de la barrera ya que cuando se suprimen los genes NOD1 o NOD2 en ratones, éstos presentan carencias en la secreción de defensinas y una susceptibilidad incrementada en la colitis provocada por DSS. Además recientemente se ha descubierto, gracias a estudios en ratones deficientes en determinados NLRs, que la activación de inflamasomas mediada por dichos receptores intracelulares contribuye a la protección del epitelio después de producirse daño^[12].

En el caso del gen **NOD2** entre los polimorfismos con asociación más fuerte a la EC encontramos el R675W, el G881R y el 3020insC. Las mutaciones más habituales de este gen determinan una reducción en la capacidad de unión de la proteína a los muramil dipéptido originando un descenso en la activación de NF- κ B. En el caso de 3020insC la activación basal de NF- κ B es normal pero se encuentra dañada tras la unión a su ligando. Otras mutaciones como R702W y G908R determinan una actividad baja de NF- κ B tanto basal como inducida viéndose por tanto deteriorada la limpieza de

bacterias intestinales por parte de los macrófagos. De esta forma los invasores van a entrar en la mucosa del intestino promoviendo la liberación de citoquinas estimulantes de perfil Th1 dándose inflamación crónica ^[6]. Sin embargo, este hallazgo genera controversia, ya que la EC se caracteriza en parte por niveles elevados de NF-κB. Una posible explicación es que este error en el sistema inmune innato permite que las bacterias intracelulares escapen de esta primera línea defensiva lo que conduciría a una respuesta adaptativa mejorada. Otros grupos han sugerido que, en circunstancias normales, el NOD2 actúa como un regulador negativo después de la estimulación bacteriana, y que las mutaciones asociadas a la EC dan como resultado una pérdida de este "freno" en el sistema inmune lo que resultaría en una respuesta que conduce a niveles de NF-κB elevados. A día de hoy, debido a las diversas y en algunos casos contrapuestas teorías sobre cómo NOD2 aumenta la susceptibilidad a sufrir EC, ninguna ha sido aceptada, pero se asume que las mutaciones en el gen del NOD2 están asociadas con ciertas características clínicas de la EC, como el diagnóstico a edades tempranas, la localización ileocecal y el desarrollo de estenosis ^[21, 22]. Desde un punto de vista clínico, estos polimorfismos confieren a los individuos portadores de un alelo un riesgo relativo para desarrollar EC entre dos y cuatro veces mayor que el de la población general y, cuando son homocigotos o heterocigotos compuestos, un riesgo relativo entre quince y cuarenta veces superior ^[23]. Cabe destacar que no se ha demostrado ninguna asociación entre NOD2 y CU.

Un componente indispensable de la respuesta innata para dirigir la respuesta inmunitaria adaptativa es la secreción de **citoquinas** que son polipéptidos producidos en respuesta a microorganismos y en la inflamación regulan la inducción de muchos procesos asociados con la misma ^[4]. Se han descrito alteraciones en la producción de muchas citoquinas en los pacientes con EII activa aunque el significado de estos hallazgos continúa siendo solo comprendido en parte y existe controversia acerca de si estos cambios representan un defecto primario en su regulación, una consecuencia o un efecto secundario de la activación del sistema inmune ^[20].

A diferencia de la respuesta inmune innata, la **respuesta inmune adaptativa** presenta una elevada especificidad ya que es resultado de una maduración compleja de células inmunes, además confiere protección duradera gracias a la memoria inmunitaria. Los protagonistas de esta respuesta son las células T. Normalmente, los diferentes componentes de la respuesta adaptativa cooperan entre sí y con los de la respuesta

innata logrando montar una respuesta eficaz capaz de eliminar a los patógenos invasores. Las células Th0 pueden activarse y diferenciarse en distintos tipos de células o linfocitos T efectores (o *helper*): Th1, Th2 o Th17. Las células Th1 van a ser esenciales en la eliminación de patógenos intracelulares mientras que las células Th2 son protectoras contra los parásitos y median las reacciones alérgicas, finalmente las células Th17 contribuyen en la eliminación de bacterias extracelulares y hongos. Además existen células T reguladoras (Treg), caracterizadas por la expresión de FOXP3, que pueden definirse como células T capaces de suprimir la proliferación de células Th0. Las células Treg están implicadas de manera crucial en el mantenimiento de la homeostasis de la mucosa intestinal mediante la supresión de respuestas inmunes anormales contra los microorganismos habituales del intestino. Van a ejercer su función produciendo citoquinas antiinflamatorias, IL-10 y TGF- β , y previniendo tanto la activación como la función efectora de los linfocitos T que han escapado a otros mecanismos de tolerancia ^[13].

En la inflamación crónica la respuesta adaptativa se ve alterada con una importante participación de las células presentadoras de antígenos (CPA) activadas (células dendríticas y macrófagos) sobre la diferenciación de células T hacia linajes mayoritariamente proinflamatorios. Por tanto, una respuesta de células T desequilibrada con un desarrollo anormal de subconjuntos de células T activadas puede conducir al inicio de la inflamación por una liberación excesiva de citoquinas y quimiocinas que tienen múltiples efectos patógenos sobre los componentes de la respuesta inmune innata y adaptativa. Basándose principalmente en los niveles de citoquinas derivadas de linfocitos T detectadas en la mucosa del intestino de pacientes con EII, varios estudios han asociado la EC y la CU con diferentes subtipos de respuestas inmunitarias ^[4, 14]. La exacerbada respuesta Th1 que se observa en los pacientes con EC difiere de la respuesta de tipo Th2 de la CU. Por tanto, un evento común inicial como es la pérdida de tolerancia hacia antígenos intestinales, puede dar lugar a dos enfermedades diferentes mediadas por el sistema inmune a través de una activación distinta de la inmunidad adaptativa ^[6]. La mayoría de los modelos Th1 de inflamación intestinal crónica muestran una inflamación transmural como se observa en pacientes con EC. Por el contrario, al menos algunos de los modelos Th2 se caracterizan por una inflamación colónica más superficial y una hiperplasia epitelial, como se observa en pacientes con CU ^[25].

Después de la migración a los órganos inmunes periféricos, los linfocitos T CD4⁺ son funcionalmente inmaduros. La activación y diferenciación de estas células requiere por lo menos dos señales separadas. La primera se caracteriza por la unión del complejo receptor TCR-CD3 después de su interacción con el complejo péptido antigénico/molécula CMH de la CPA. La segunda señal es producida por moléculas coestimuladoras de la CPA que interaccionan con sus ligandos en las células T (por ejemplo CD28/B7). Van a ser las citoquinas las que desempeñen el papel más crítico en la polarización hacia uno u otro subconjunto de linfocito T *helper*.

La función principal de los linfocitos Th1 se relaciona con la defensa mediada por fagocitos frente a las infecciones, especialmente por microorganismos intracelulares. La respuesta Th1 se caracteriza por la producción de IFN- γ , TNF- α , IL-12, IL-18, IL-21 e IL-23 lo cual ha sido demostrado mediante numerosos estudios descriptivos que han sido realizados aislando células monoclonales de la lámina propia de pacientes con EC. Tradicionalmente se considera que la vía de diferenciación de Th0 a Th1 se inicia en respuesta a los microorganismos que infectan o activan los macrófagos y las células NK. En la EII, y en particular en la EC, las células Th1 son muy importantes en los mecanismos que conducen a formas más graves de esta enfermedad. Aunque en la CU se encuentran linfocitos de este tipo, su concentración es mucho menor que la observada en la EC.

La función efectora principal de los linfocitos Th2 se relaciona con las reacciones inmunitarias mediadas por la inmunoglobulina E y los eosinófilos/mastocitos. Estas reacciones son inducidas por la producción de IL-4, IL-5 e IL-13, y tradicionalmente se consideran una respuesta inmunomoduladora. En la CU la respuesta de los linfocitos T cooperadores es predominantemente de tipo Th2 ya que las principales citoquinas que se producen son la IL-5 y la IL-13. Debido a que la expresión de IL-4 no se encuentra aumentada según varios estudios, la respuesta Th2 en la CU sería atípica. En biopsias de pacientes con CU se ha observado que estos linfocitos Th2 son hiperreactivos ^[4,6].

En la EII el infiltrado inflamatorio es de predominio linfocitario, de células T cooperadoras, que se consideran responsables de la destrucción tisular que acontece en la mucosa inflamada, dada su capacidad de secreción de citoquinas y respuesta frente a los antígenos locales ^[4].

La actividad inflamatoria va a estar regulada por el balance de citoquinas producidas por los linfocitos T de la lámina propia con actividad proinflamatoria como

el IFN- γ , el TNF- α y la IL-4 y sus contrapuestas moléculas antiinflamatorias, TGF- β e IL-10, obteniéndose una respuesta eficaz frente a las agresiones en el ámbito local, a la vez que se mantiene el nivel de actividad inflamatoria dentro de los valores fisiológicos. Pero en el caso de EII, tanto en EC como en CU, se encuentra un aumento en las concentraciones de citoquinas proinflamatorias IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IL-15, IL-18, IFN- γ , TNF- α y los miembros de la familia de la IL-12 (IL-12, IL-23, IL-27), entre otros. También van a aumentar los mediadores antiinflamatorios, TGF- β e IL-10, pero el equilibrio entre ambos grupos es lo que finalmente determina el curso de la enfermedad. Como se ha dicho anteriormente existen diferencias entre el perfil de citoquinas de las células T activadas de la EC y la CU aunque una vez que se produce el reclutamiento de macrófagos y linfocitos de sangre periférica, muchos de los mediadores inflamatorios van a ser comunes [22].

Los diferentes perfiles de citoquinas producidos por los distintos subconjuntos de células T y la regulación transcripcional en la diferenciación de dichos subconjuntos constituyen una parte fundamental para la comprensión de la inmunidad intestinal tanto en condiciones normales como en estados patológicos.

Destacando varios de los papeles de algunas de las citoquinas proinflamatorias, el IFN- γ es generado en la respuesta innata por células NK y en la adaptativa por células T (en ambos casos la IL-12 estimula su producción). Es el principal inductor de la actividad bactericida de los macrófagos y estimula la expresión de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad, así como de moléculas coestimuladoras en CPA. Además induce la diferenciación de células T CD4⁺ vírgenes hacia el fenotipo Th1 e inhibe la proliferación de las Th2. Los valores del IFN- γ se encuentran elevados en EII, existiendo un incremento en el número de células que lo producen siendo superior en la EC (enfermedad con perfil de citoquinas Th1) e inferior la CU [18, 22].

Otro mediador proinflamatorio es el TNF- α , cuya principal fuente productora son los macrófagos y presenta múltiples actividades como la acumulación de neutrófilos y formación de granulomas, además de presentar sinergismo con el IFN- γ . El RNAm del TNF- α en pacientes con EC en remisión es superior al de los controles sanos mientras que los resultados encontrados en pacientes con CU en remisión son similares a los de individuos sanos [22, 23]. Asimismo, la producción de este mediador se correlaciona con los niveles de IL-1 β con la cual comparte muchos de sus efectos. La expresión de esta interleucina va a ser especialmente intensa en ulceraciones observándose tanto en EC

como en CU una correlación entre el grado de afectación de la mucosa y la cantidad de IL-1 β detectada [18, 22]. En el caso de la **IL-18**, con importante papel en el mantenimiento de la respuesta Th1, se encuentra presente en EC y CU con valores superiores en la primera [24, 25].

La **IL-12**, heterodímero formado por las subunidades p35 y p40 (sólo las células presentadoras de antígeno y las células T sintetizan esta última subunidad y por tanto la citoquina biológicamente activa), es un factor inductor clave de las respuestas de tipo Th1 (considerando que los ratones que carecen de la subunidad p40 o de la cadena β 2 del receptor de IL-12 tienen respuestas Th1 defectuosas) además de proporcionar una importante conexión entre la respuesta innata y la adaptativa ya que se produce durante la primera y estimula la segunda. Su presencia es reducida en CU mientras que en EC se puede encontrar tanto en zonas afectadas del intestino como en zonas no afectadas. La IL-12 se relaciona con la **IL-23** debido a que comparten la subunidad p40 aunque presentan grandes diferencias respecto a sus funciones. La IL-23 actúa preferentemente en linfocitos T de memoria activados y se ha descubierto que también estimula a la subpoblación de linfocitos productores de IL-17 (vía proinflamatoria independiente de IFN- γ que se verá más adelante). Tanto en EC como en CU encontramos el RNAm de la IL-23 aumentado aunque con valores bastante más elevados en la primera, además de encontrarse estos valores en correlación con el grado de lesión. Finalmente la **IL-27** presenta gran similitud estructural con la IL-12 debido a que se encuentra formada por dos subunidades similares a las que conforman la estructura de esta última. Se encarga de sensibilizar a las células T vírgenes hacia la polarización Th1 producida por IL-12 y se encuentra elevada tanto en zonas afectadas como no afectadas del intestino en EII [22, 25, 26].

Por su parte la **IL-4** induce la generación de células Th2 y simultáneamente inhibe la producción del subconjunto Th1. Ratones que carecen de IL-4 o su receptor no desarrollan células Th2 en respuesta a diversos estímulos. Otra citoquina relacionada con esta anterior es la **IL-13** que puede impulsar el desarrollo de una respuesta Th2 así como la síntesis de IgE de manera independiente a IL-4 en determinadas situaciones [25].

Como vemos la respuesta inmune se polariza hacia Th1 en EC mientras que en CU lo hace hacia Th2. T-bet y GATA-3 son factores de transcripción asociados al desarrollo de las respuestas Th1 y Th2, respectivamente. Estudios sobre la expresión de dichos factores de transcripción apoyan esta hipótesis que relaciona las respuestas Th1 y

Th2 con EC y CU, respectivamente. Se ha descrito que T-bet y GATA-3 poseen acción antagonista, inactivándose mutuamente. T-bet logra secuestrar a GATA-3 impidiendo que se una al ADN, e inversamente, GATA-3 inhibe la función de T-bet ^[27].

La IL-12 producida por las células dendríticas y por los macrófagos en respuesta a los microbios, y el IFN- γ producido por las células NK, activan los factores de transcripción **T-bet, STAT1 y STAT4**, que estimulan la diferenciación de los linfocitos T vírgenes CD4⁺ hacia el subgrupo Th1. El IFN- γ producido por los linfocitos Th1 amplifica esta respuesta e inhibe el desarrollo de los linfocitos Th2 y Th17 ^[18]. Debido a este mecanismo, los anticuerpos que neutralizan la IL-12 suprimen la inflamación intestinal crónica mediada por Th1, presuntamente por la prevención del desarrollo de células Th1 y la inducción de la apoptosis de células T. Por otro lado, las células T deficientes en STAT4 no logran inducir colitis mediada por Th1. Sin embargo, no está claro si los efectos de STAT4 pueden atribuirse completamente a la IL-12, ya que recientemente se ha demostrado que la IL-23 activa STAT4 en células T. La IL-18 es también importante para la respuesta Th1 del intestino por la activación de distintos factores como el NF- κ B en células T. La importancia funcional de la IL-18 es subrayada por estudios recientes que demuestran la supresión de la inflamación intestinal mediada por Th1 al bloquear la expresión o la función de dicha citoquina. Todos estos datos van a tener importantes repercusiones para la enfermedad de Crohn, de hecho, entre alguno de los métodos terapéuticos para esta enfermedad se encuentra la neutralización de IL-12 con anticuerpos ^[25, 28].

Por su parte, la IL-4 producida por los propios linfocitos T activados o por los mastocitos y eosinófilos, activa los factores de transcripción **GATA-3 y STAT6**, que estimulan la diferenciación de los linfocitos T vírgenes CD4⁺ hacia el subgrupo Th2. La IL-4 producida por los linfocitos Th2 amplifica esta respuesta e inhibe el desarrollo de los linfocitos Th1 y Th17 ^[18]. Los esplenocitos diferenciados a un fenotipo Th2 presentan niveles altos de GATA-3 mientras que los diferenciados a Th1 no. Asimismo los linfocitos de la lámina propia de pacientes con EC expresan GATA-3 en niveles muy bajos o ausentes. GATA-3 controla directamente la expresión del gen de IL-5 e induce la producción de IL-4 e IL-13, en linfocitos T y células NK. Se ha visto que la IL-13 producida por células NK es crucial en la patogenia de CU y en respuestas Th2 atípicas con IL-4 disminuida como es el caso esta enfermedad, y que el bloqueo de su expresión disminuye este tipo de respuesta inflamatoria ^[27, 28].

Más recientemente se ha descubierto una nueva población de células T, las **células Th17**, que junto a las células Th1 también juega un papel importante en la patogénesis de la EC. Este tipo de linfocitos también es efector como se ha explicado (al igual que los Th1 y los Th2), y promueve la respuesta inflamatoria, la patología autoinmune y el rechazo a trasplantes. El número de células de este subgrupo se encuentra inversamente asociado al de células Treg. La diferenciación hacia Th17 requiere un inicio de señalización por IL-6 junto a expresión de TGF- β . La concentración de esta última citoquina es crucial en la regulación del desarrollo de células Treg o de células Th17. En la diferenciación también intervendrán la IL-21 y la IL-23 que junto a la IL-6 activarán a STAT3. Mutaciones en este factor originan una ausencia de células Th17. Además ratones deficientes en IL-21 no desarrollan colitis por respuesta Th1/Th17 y la producción de IFN- γ por la activación de las células mononucleares de la lámina propia se inhibe al bloquearse la IL-21. Este subgrupo de células Th17 va a ejercer sus efectos a través de la secreción de IL-17 que muestra actividades pleiotrópicas, incluyendo la estimulación de la producción de citoquinas proinflamatorias y quimioquinas, las cuales causan la infiltración del tejido y su destrucción^[13, 17].

Desde el descubrimiento de las **células Treg** se ha asumido que las respuestas inmunes son mucho más complejas de lo que se pensaba además de colocar a dichas células en una posición central con respecto al mantenimiento de la homeostasis del sistema inmune. Estas células van a participar en el mantenimiento de la autotolerancia eliminando los linfocitos autorreactivos mediante mecanismos de contacto célula-célula y con la producción de citoquinas antiinflamatorias como el TGF- β y la IL-10. Defectos en su número o función también se han asociado a un mayor riesgo de padecer EII^[17]. La mayoría de estas células Treg CD4⁺ expresan cantidades altas de la cadena α del receptor para la IL-2 (CD25), pero no otros marcadores de activación del linfocito T. Asimismo, el factor de transcripción FOXP3, es fundamental para el desarrollo y función de la mayoría de este tipo de células. Las pruebas que apoyan esta hipótesis proceden de modelos murinos en los que la eliminación de los genes de la IL-2 o del IL-2R, o la anulación del gen FOXP3, conlleva el desarrollo de EII debido a la deficiencia en células Treg. En los seres humanos, las mutaciones de FOXP3 dan lugar a una carencia de células Treg y causan una enfermedad que presenta alteración de la regulación inmunitaria que abarca una inflamación intestinal acentuada, así como autoinmunidad en muchos tejidos. Aunque todas estas observaciones son compartibles

con la necesidad de las Treg para mantener la homeostasis intestinal, no se sabe si los defectos de los Treg subyacen a la mayoría de los casos humanos de EII [6, 11, 13].

Como se ha explicado las células Treg van a ejercer parte de su función produciendo citoquinas antiinflamatorias, IL-10 y TGF- β . El **TGF- β** estimula la restitución del epitelio intestinal tras producirse daño en la mucosa además de ser relevante en el recambio de la matriz extracelular. Sus niveles van a aumentar en la mucosa inflamada tanto en la EC como en la CU mientras que en pacientes en remisión se encuentra en valores similares a los encontrados en la mucosa normal. Por otro lado la **IL-10** es una importante citoquina inmunorreguladora que actúa en las CPA mediante la inhibición tanto de la síntesis de citoquinas como de moléculas coestimuladoras y moléculas HLA de clase II. Además va a actuar directamente en la proliferación y diferenciación de células T ya que en la activación de células T CD4⁺ con CPA alogénicas en presencia de esta citoquina, se produce anergia de larga duración específica de antígeno. También induce la proliferación de más células Treg. En EC y CU hay un incremento de la expresión de esta interleucina en células mononucleares de la lámina propia pero este aumento podría no ser suficiente para llegar a controlar la inflamación [22].

En la EII la **inmunidad humoral** también se va a ver alterada ya que las células B producen y secretan una cantidad exagerada de anticuerpos, especialmente IgG, IgM e IgA. En EC y en comparación con individuos sanos, los niveles de IgG-1, IgG-2 e IgG-3 son elevados tanto en suero como en la mucosa intestinal. Asimismo, en la EII, se han identificado varios autoanticuerpos (anticuerpos específicos frente a un antígeno propio por lo que dañan a células y tejidos) y anticuerpos contra microorganismos específicos. Los más conocidos son el anticuerpo contra el citoplasma del neutrófilo (ANCA) cuya producción es desencadenada por antígenos bacterianos, y el anticuerpo contra *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA). El anticuerpo ASCA es positivo en el 55-70% de los pacientes con EC mientras que la producción de autoanticuerpos ANCA está presente en el 65-70% de los pacientes con CU, constituyendo uno de los pocos marcadores de la enfermedad ya que los otros anticuerpos son marcadores más eficaces para la EC [11].

Conclusiones

Aunque en la EII hay varios aspectos clave que no se conocen todavía en profundidad, se han comenzado a dilucidar y comprender algunos de los defectos inmunológicos que caracterizan a esta enfermedad y sus consecuencias, las cuales son responsables de la inflamación crónica que se observa en la mucosa intestinal de los enfermos. Queda totalmente demostrada la relevancia de diversos componentes de la inmunidad innata y adaptativa así como de varios mecanismos reguladores de esta respuesta en la patogenia de la EII, no obstante muchos de ellos son sólo parcialmente entendidos. Es necesario continuar con las investigaciones debido a que el aumento del conocimiento sobre los procesos patogénicos y el posterior descubrimiento de la etiología de la EII, podría dar lugar al desarrollo de estrategias terapéuticas de gran eficacia ya que se conseguiría que estuviesen dirigidas a atacar la enfermedad en el origen de su patogenia.

Bibliografía

1. Castro Sánchez, P., Martín Villa, J.M. (2015). Sistema inmunitario de la mucosa intestinal. Revista Reduca (Biología), Serie Fisiología Animal, 8(2).
2. Ramiro-Puig, E., Pérez-Cano, F., Castellote, C., Franch, A. and Castell, M. (2008). El intestino: pieza clave del sistema inmunitario. Revista Española de Enfermedades Digestivas, 100(1).
3. Martínez Chamorro, A. (2016). INMUNOPATOGENÍA. Mucosa intestinal y sistema inmunitario asociado a la mucosa en ausencia de enfermedad. Licenciatura. Granada.
4. Yamamoto, FJK (2010). Enfermedad inflamatoria intestinal: aspectos básicos y clínicos. Editorial Alfil, S. A. de C. V., México, D.F., MX. Available from: ProQuest ebrary. [21 May 2017].
5. Marín Jiménez, I., Menchén Viso, L. and Gomollón García, F. (2012). Diagnóstico diferencial de la enfermedad inflamatoria intestinal. 1st ed. Madrid: Elsevier Doyma, p.153.
6. Gassull, M., Gomollón, F., Obrador, A. and Hinojosa, J. (2007). Enfermedad inflamatoria intestinal. 3rd ed. Madrid: Arán. Pp.82-102.
7. Añez, M., Fuenmayor, M. and Romero, G. (2017). Enfermedad Inflamatoria Intestinal: Rectocolitis Ulcerosa Idiopática y Enfermedad de Crohn. [online] Scielo.org.ve Available at: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0016-35032012000300013 [Accessed Mar. 2017].
8. César Paulsen, M., Carmen Gloria Rostion, A. (2007). Epidemiología y Etiopatogenia de las Enfermedades Inflamatorias Intestinales en niños. Revista Pediatría Electrónica. Vol 4, N°2.
9. Uribe Arango, W. (1994). Enfermedad Inflamatoria Intestinal. Revista CES Medicina. Vol 8, N°1.
10. Kelsall, B. (2008). Innate and adaptative mechanisms to control of pathological intestinal inflammation. The Journal of Pathology, 214(2), pp.242-259.

11. Silva, F., Rodrigues, B., Ayrizono, M. and Leal, R. (2017). The immunological Basis of Inflammatory Bowel Disease. [online] Available at: <https://www.hindawi.com/journals/grp/2016/2097274/>
12. Maloy, K. and Powrie, F. (2011). Intestinal homeostasis and its breakdown in inflammatory bowel disease. *Nature*, 474(7351), pp.298-306.
13. Geremia, A., Biancheri, P., Allan, P., Corazza, G.R., Di Sabatino, A. (2014). Innate and adaptative immunity in inflammatory bowel disease. *Autoimmunity Reviews*, 13:3-10.
14. Almero, J. (2007). Modelos experimentales in vivo de enfermedad inflamatoria intestinal y cáncer colorrectal. Conceptos, modelos actuales y aplicabilidad. *Nutr Hosp*. 22(2):178-89.
15. Salvo, E., Alonso, C., Pardo, C., Casado, M., Vicario, M. (2015). Función barrera intestinal y su implicación en enfermedades digestivas. *Rev Esp Enferm Dig (Madrid)* Vol. 107, N.º 11, pp. 686-696.
16. Packey, C. and Sartor, R. (2008). Interplay of commensal and pathogenic bacteria, genetic mutations, and immunoregulatory defects in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Journal of Internal Medicine*, 263(6), pp.597-606.
17. Díaz, R., Valdés, E., Cofré, C., Castro, P. (2015). Respuesta Th17 y autofagia: principales vías implicadas en enfermedad inflamatoria intestinal por los estudios de asociación de genoma completo. Nuevos factores implicados en la susceptibilidad a enfermedad inflamatoria intestinal. *Rev Esp Enferm Dig (Madrid)* Vol. 107, N.º 9, pp. 560-566.
18. Geremia, A., Biancheri, P., Allan, P., Corazza, G.R., Di Sabatino, A. (2014). Innate and adaptative immunity in inflammatory bowel disease. *Autoimmunity Reviews*, 13:3-10.
19. Emedicine.medscape.com. (2017). Crohn Disease and NOD2/CARD15: Association of NOD2/CARD15 With Crohn Disease, Possible Clinical Role of NOD2/CARD15 in Crohn Disease. [online] Available at: <http://emedicine.medscape.com/article/1790325-overview#showall> [Accessed Mar. 2017].
20. Abdo, FJM (2011). Actualización de la enfermedad inflamatoria intestinal, Editorial Alfil, S. A. de C. V., México, D.F., MX. Available from: ProQuest ebrary. [21 May 2017].
21. Balanzó Tintoré, J. and Ricart, E. (2006). Enfermedad inflamatoria intestinal. 1st ed. Barcelona: ICG Marge, pp.20-34.
22. León, A.J., Garrote, J.A., Arranz, E. (2006). Citocinas en la patogenia de la enfermedad inflamatoria intestinal. *Med Clin (Barc.)*; 127(4):145-52.
23. Akazawa A, Sakaida I, Higaki S, Kubo Y, Uchida K, Okita K. (2002). Increased expression of tumor necrosis factor-alpha messenger RNA in the intestinal mucosa of inflammatory bowel disease, particularly in patients with disease in the inactive phase. *J Gastroenterol*. 37:345-53.
24. Monteleone G, Trapasso F, Parrello T, Biancone L, Stella A, Iuliano R, et al. (1999). Bioactive IL-18 expression is up-regulated in Crohn's disease. *J Immunol*. 163:143-7.
25. Neurath MF, Finotto S, Glimcher LH. (2002). The role of Th1/Th2 polarization in mucosal immunity. *Nat Med*. 8:567-73.
26. Hunter CA. (2005). New IL-12-family members: IL-23 and IL-27, cytokines with divergent functions. *Nat Rev Immunol*. 5:521-31.
27. Sepúlveda, S., Beltrán, C., Peralta, A., Rivas, P., Rojas, N., Figueroa, C., Quera, R. and Hermoso, M. (2008). Enfermedad inflamatoria intestinal: Una mirada inmunológica. *Revista médica de Chile*, 136(3).
28. Chakir H, Wang H, Lefebvre DE, Webb J, Scott FW. (2003). T-bet/GATA-3 ratio as a measure of the Th1/Th2 cytokine profile mixed cell populations: predominant role of GATA-3. *J Immunol Methods* 278:157-69.