

Plasticidad de los Fenotipos T CD4+ Helper Modulación de la Respuesta Inmune

Ricardo Antonio Giuliani

E-mail ragjuly@yahoo.com.ar



ARTÍCULO
DE REVISIÓN

Fecha de recepción: 08/08/2012
Fecha de aprobación: 21/02/2013

HEMATOLOGIA, Vol. 17 N° 1: 37-45
Enero-Abril, 2013

RESUMEN

Luego del desafío antigénico, las Células T CD4+ Helper siguen el camino de diferenciación que marca el perfil microambiental de citocinas¹.

Dicho perfil es elaborado por Células Presentadoras de Antígeno, particularmente Células Dendríticas (CD), como reacción innata contra patógenos circundantes².

Los gérmenes intracelulares provocan diferenciación a fenotipo Th1 y los extracelulares a Th2, Th17 o Tfh. Sin embargo estas versiones T Helper no constituyen patrones terminales de diferenciación y pueden redireccionar sus programas genéticos para adoptar fenotipos alternativos³.

Por ejemplo Th17 puede cambiar a Th2 o Treg en función de las citocinas liberadas por DC, para control de determinado agente microbiano.

Esto brinda gran plasticidad fenotípica a las Células T Helper y amplifica fuertemente su capacidad de respuesta ante diversos insultos patogénicos.

Pero los reguladores de dichas transformaciones pueden fallar, por mutaciones o deleciones genéticas y habilitar el desarrollo de fenómenos autoreactivos.

Este artículo revisa las transformaciones adaptativas del sistema CD4+ T Helper. Se destacan en **negrita** algunos ejemplos de autoreactividad vinculada a deleción de Factores Transcripcionales o versiones fenotípicas T Helper.

Palabras clave: plasticidad Helper, fenotipos Helper T CD4+, autoinmunidad, Th17, Th2, Tfh, Th1, Th22

ABSTRACT

After the antigenic Challenge, the CD4+ T Cell follows the differentiation pathway that mark the microenvironmental Cytokine profile¹.

That profile is elaborated by Antigen Presenting Cells, particularly Dendritic Cells (DC), as innate reaction against surrounding pathogens².

Intracellular germs cause differentiation to Th-1 phenotype and the extracellular to Th2, Th17 o Tfh.

However these T Helper versions do not behave as terminal patterns of differentiation and may redirect its genetic programmes towards alternative phenotypes³.

For example Th17 can be transformed into Th2 or Treg, according to the cytokines released by DC in order to control a specific microorganism.

This provides better phenotypic plasticity to T Helper Cells and greatly amplifies its capacity against diverse pathogenic insults.

But the regulators of such transformations may fail by genetic mutations or deletions, activating the development of autoreactivity.

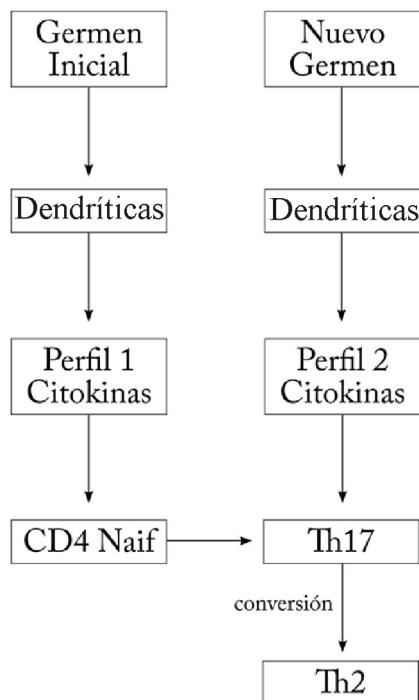
This paper reviews the adaptative transformations in the CD4+ T Helper system. See highlighted in **bold** some examples of autoreactivity related to deletion of Transcription Factors or Phenotypic Versions of T Helper Cells.

Key words: Helper plasticity, T cell phenotypes CD4+, autoimmunity, Th17, Th2, Tfh, Th1, Th22

INTRODUCCIÓN

Los Macrófagos y Células Dendríticas (DC) despliegan efectos antimicrobianos directos mediante fagocitosis y producción de un perfil de citocinas apropiado para cada tipo de germen^{2,3,4}.

Las citocinas estimulan la diferenciación de Células T Helper Naif hacia fenotipos CD4+ específicos y potencian la función citotóxica de Células T CD8+^{1,3}.



El perfil de Citokinas cambia en función del germen invasor y puede modificar el programa genético de diferenciación Helper.

Los gérmenes intracelulares habilitan la diferenciación CD4+ Helper hacia fenotipo Th1 y los extracelulares hacia fenotipos Th2, Tfh o Th17⁵.

Además, las citokinas modulan la reacción inmune a nivel periférico mediante inducción de Células T Reguladoras (iTreg)⁶.

Las citokinas activan receptores específicos acoplados a módulos JAK-STAT de transmisión de señales. Las kinasas JAK, ligadas a la proyección intracelular de receptores de citokinas, fosforilan sitios Tirosina en el receptor y estos atraen monómeros STAT, que también son fosforilados por JAKs^{7, 8}.

Los STATs fosforilados "dimerizan" y exponen dominios de señal nuclear para orientar su traslado al núcleo y activar la transcripción de genes blanco, involucrados en diferenciación de Células T Helper Naif y reacciones inflamatorias^{7, 8}.

Las señalizaciones JAK/STAT activadas por citokinas son balanceadas por "supresores de señales de citokinas" (SOCS), que inhiben la función JAK, bloquean los sitios de anclaje para monómeros STAT en receptores de citokinas y activan el proceso de poliubiquitinización y degradación proteosomal de Kinasas Janus (JAKs)^{9, 10}.

En suma, las citokinas activan la función JAK/STAT y las proteínas SOCS modulan dichas señalizaciones^{9, 10}.

Hay diverso tipo de moléculas STAT y SOCS, específicas para cada tipo de receptor de citokinas y ciertas mutaciones o deleciones pueden afectar sus funciones, dando lugar a fenómenos autoinmunes o deficiencias reactivas^{9, 10}.

La interacción entre el receptor (TCR) de Células T CD4+ y un antígeno afín exhibido en moléculas MHC-II de Células Dendríticas, inicia la activación de Células CD4+ Naif.

Se considera "naif" a la célula inmune, B o T, que permanece "virgen" de contacto con su antígeno específico.

La categoría de "antígeno" es otorgada por células presentadoras de antígeno (CPA), particularmente Células Dendríticas (DC), Macrófagos y Células B.

Mediante receptores Toll (TLR) las CPA detectan patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) y activan fuertes señales de alarma, caracterizadas por sobre expresión de Moléculas de Complejo Mayor de Histocompatibilidad tipo II (MHC-II), proteínas CD80/CD86 y presentación de fragmentos PAMP a Células T¹¹.

La activación de una Célula T Naif responde a dos señales básicas

Primero el receptor T (TCR) debe encontrar en el "surco presentador" de moléculas MHC-II, un péptido "afín" que ajuste exactamente en su "3er región determinante de complementaridad" (CDR3)³.

Luego las proteínas CD28 de la Célula T Naif deben encontrar suficiente cantidad de moléculas CD80/86 en la superficie de la CPA, para activar una "segunda señal" que advierta la presencia de "algo peligroso".

La reacción entre un receptor de Célula B (BCR) y una molécula PAMP culmina en "gen"eración de "anti"uerpos, por eso a dicha molécula se le llama "antígeno" (antibody generator). Trasladado a la respuesta T, antígeno es todo péptido afín al TCR que esté acompañado por una "segunda señal", indicadora de peligro biológico, que responde a la interacción CD28/CD80-86. En este caso el antígeno no produce anticuerpos pero activa Células T Citotóxicas o induce diferenciación T CD4+ Naif (inmunidad celular)³.

Cuando la interacción entre el TCR y el fragmento presentado en MHC-II es apropiada y la CPA expresa suficiente cantidad de CD80/86, la Célula T Naif queda habilitada para iniciar su diferenciación hacia fenotipos T "efectores" contra dicho fragmento. De lo contrario entra en "anergia" y es desactivada^{2, 3}.

Como vemos, el carácter "antigénico" de una molécula, propia o extraña, es conferido por el

sistema inmune innato, particularmente por DCs o Células B.

Pero el rumbo de diferenciación de la Célula T CD4+ Naif hacia cada fenotipo efector, depende del perfil de citocinas reinante en su microambiente.

Reiteramos: los patógenos intracelulares inducen diferenciación a Th1 y los extracelulares diferenciación a Th2, Tfh o Th17. Por otra parte, las respuestas Th1, Th2, Tfh o Th17 están balanceadas por células T reguladoras de origen tímico (nTregs) o "inducible" en periferia (iTregs), acorde también con el perfil de citocinas que predomine en el microambiente.

Las respuestas inmune humoral (Célula B) y celular (Célula T) deben ajustarse a la destrucción del germen agresor y la preservación de la integridad del huésped. En gran medida, los fenómenos autoinmunes ocurren por perpetuación indebida de la reacción B y/o T o por defectos en los mecanismos celulares o moleculares de modulación.

Cabe destacar que el fenotipo T helper "folicular" (Tfh) es crítico para el desarrollo de Folículos Linfoides, particularmente a nivel de placas de Peyer de Intestino. La producción de IgA intestinal depende precisamente de la adquisición de fenotipo Tfh^{12, 13}.

Es interesante recordar que los folículos linfoides son estructuras efímeras. Su vida media se extiende el tiempo que requiere el desarrollo de linfocitos B y T apropiados para la contención del evento agresor que activó su desarrollo.

En los últimos años fueron descritos fenotipos T intermedios y es probable que en el futuro inmediato se consoliden o modifiquen algunas ideas sobre diferenciación de células T Helper, porque gran parte de los conceptos actuales surgieron de observaciones in Vitro y estas no siempre coinciden con la realidad biológica in vivo.

De todas maneras es claro que la selección de la ruta diferenciativa a seguir, depende del perfil de citocinas del microambiente, de la fortaleza de la interacción entre el TCR (CD4+) y el Antígeno y de la reacción entre el CD28 y las moléculas CDC80/86. Es decir entre Células T Naif y CPAs, mayormente DCs.

Acorde con múltiples evidencias experimentales, los fenotipos T CD4+ Helper arriba mencionados están sujetos a reprogramación. Particularmente las Células Th17 y Treg, pueden redireccionar su diferenciación cuando cambia el perfil de citocinas de su medioambiente y esto también puede ocurrir con células Th2.

Obviamente la plasticidad en fenotipos T Helper CD4+ amplifica mucho la capacidad de respuesta

del sistema inmune ante diversas agresiones microbianas¹⁴.

Sobre biología de célula T, Célula B, señalizaciones y complejo mayor de histocompatibilidad sugiero la lectura del libro El Sistema Inmune y su literatura de respaldo¹⁵. Hay copias sin cargo de este libro para quienes estén interesados. Pueden retirarlas en Eritroferon: Rivadavia 2431, Entrada 2, Planta Baja 1, Tel.1544119327.

Polarización hacia diversos fenotipos T Helper

Como decíamos más arriba, las citocinas liberadas por DCs, Células T y Natural Killers, generan condiciones de polarización para diferenciación de Células T CD4+ Naif activadas por interacción TCR-Ag/CD28-CD80/86.

Cada programa de desarrollo se caracteriza por fuerte producción de un factor transcripcional (TF) crítico, que funciona como regulador maestro. Dicho TF coordina la expresión de diversos grupos de genes de citocinas u otros genes involucrados en la adquisición de cada fenotipo específico^{16,17,18}.

Fenotipo Th1

El fenotipo Th1 se caracteriza por fuerte producción de IFN- γ , expresión de Receptor de IL-12 (IL-12R) y factor transcripcional T-bet.

La interacción IL-12/IL-12R activa la fosforilación de monómeros STAT4 y STAT1 e induce su dimerización y migración al núcleo. Los heterodímeros STAT1/STAT4 activan programas genéticos que culminan en expresión de T box transcription factor (T-bet), que es la llave maestra para diferenciación a Th1. También la interacción entre IL-12 y IL-18 parece ser necesaria para expresión de T-bet^{5, 19}.

Las citocinas Th-1 reprimen la diferenciación a Th2 mediante un mecanismo feedback: IFN- γ induce Runx3 y este coopera con T-bet en la promoción ulterior de IFN- γ y silenciamiento del gen de IL-4^{20, 21, 22}.

Es importante remarcar que la presencia de gérmenes intracelulares activa la diferenciación de Células T CD4+ Naif hacia fenotipo Th1.

Las Células Dendríticas (DC), mediante liberación de IL-12 y las Células NK y T, mediante secreción de IFN γ , contribuyen a polarizar la diferenciación de Células T CD4+ Naif hacia Th1.

Las células de fenotipo Th1 segregan gran cantidad de Interferon gamma (IFN- γ) e Interleukina-2 (IL-2) y destruyen patógenos intracelulares o desencadenan reacciones autoinmunes^{19, 23}.

Para el montaje inicial de la respuesta Th1 es necesaria la presencia del receptor WSX-1, que es un homólogo del receptor beta 2 de IL-12 (IL12Rβ2).

El receptor WSX-1 se expresa solamente en tejido linfoide y su concentración es particularmente alta en Células T Helper Naif y Natural Killers^{24, 25}.

Los murinos knockout (KO) WSX-1 (-/-) exhiben mayor susceptibilidad a la infección por *Leishmania* Mayor y menor producción de IFNγ²⁶.

Es claro entonces que WSX-1 desempeña un rol esencial en la iniciación de la respuesta Th1.

La IL-27, un homólogo de IL-12 es el ligante específico de WSX-1²⁷.

La fuente de IL-27 parece ser la Célula Dendrítica (DC) y su interacción con WSX-1 induce fosforilación de STAT1, ulterior expresión de T-bet en Células T CD4+ Naif e incremento en la producción de IFNγ inducida por IL-12²⁸.

Las señalizaciones vía IL-27/WSX-1 constituyen un paso previo a la estimulación del sistema IL-12R y son necesarias para dar inicio a la diferenciación a Th1.

Pero recientemente fue demostrado que las señalizaciones vía IL-27/WSX-1 son así mismo críticas para regulación negativa de procesos inflamatorios²⁹.

De hecho, las señalizaciones vía WSX-1 limitan la duración e intensidad de activación de la Célula T, provocada por infecciones a *Toxoplasma Gondii* y *Tripanosoma Cruzi*.

En murinos WSX-1/- (KO), dichos microbios provocan enfermedad inflamatoria letal, por sobreproducción de citocinas inflamatorias³⁰.

Fenotipo Th2

La proteína 3 ligante de GATA (GATA3) es el Factor Transcripcional (TF) que controla el desarrollo de linaje Th2¹⁹.

Las proteínas de familia GATA están adornadas con dos Dominios Zinc Finger de fuerte afinidad por la secuencia (A/T)GATA(A/G) del DNA. De las seis versiones de factores transcripcionales GATA, solo GATA3 está involucrada en programación de linaje Th2.

Las Células Th2 se caracterizan por secreción de IL-4, IL-5 e IL-13, que son citocinas críticas en inmunidad contra Helminthos y otros patógenos extracelulares.

La IL-4 reprime las señalizaciones vía IL-12 mediante inhibición de la expresión de IL-12R2. De esta manera IL-4 antagoniza con la diferenciación a Th1^{19, 31, 32}.

Dichas citocinas están además involucradas en fenómenos de tipo alérgico, como asma y dermatitis atópica³³.

Por eso uno de los objetivos de la inmunoterapia con alérgenos, consiste en alterar el balance entre Th2 y Th1, mediante reprogramación del compromiso con linaje Th2^{34, 35}.

Exclusión mutua de patrones Th1/Th2

Acorde con los datos experimentales recogidos en los últimos años, los programas T-bet (Th1) y GATA-3 (Th2) son excluyentes. La expresión de T-bet (Th1) neutraliza el programa GATA-3 (Th2) de diferenciación y viceversa^{36, 37, 38, 39}.

T-bet es un TF de familia T-box, que regula la expresión de numerosos genes vinculados al sistema inmune. T-bet activa el programa genético responsable de diferenciación a Th1 e influye en el desarrollo de células NK y NKT y tráfico de estos linfocitos mediante CxCR3. Las moléculas IFNγ, CD122 y CxCR3, críticas para diferenciación a Th1, se encuentran bajo directa regulación de T-bet⁴⁰.

Por otra parte, la transducción retroviral del gen T-bet en células Th2 redirecciona dichas células hacia fenotipo Th1. Esto se evidencia en expresión de IFNγ y represión de IL-4 e IL-5.

En suma, T-bet activa los programas genéticos que conducen a fenotipo Th1 y reprime los programas responsables de fenotipo Th2²³.

Este concepto surgió de estudios in Vitro sobre refuerzo e inhibición recíproca entre ambos programas de diferenciación.

Por ejemplo, las Células Th2 pierden sensibilidad a IL-12 cuando se suprime la expresión del receptor β2 de IL-12 (IL-12Rβ2) y proteína STAT4^{19, 41}.

En células Th1, las proteínas T-bet y Runx3 cooperan en la represión de IL-4, que es crítica para inducción de fenotipo Th2^{42, 43}.

Estas características diferenciales entre Células Th1 y Th2 probablemente contribuyan a brindar estabilidad a los respectivos linajes de diferenciación.

Las Células Th2 son particularmente estables y resistentes a la reprogramación hacia linaje Th1^{16, 17, 18}.

Las Células T CD4+ Memoria que permanecen en estado de reposo, libres de desafío antigénico, exhiben niveles respectivamente estables y elevados de expresión de GATA3 (Th2) o T-bet (Th1). Estas células mantienen durante varios meses su perfil específico de expresión de citocinas.

Programación Th2 y Exclusión de fenotipos Th17 e iTreg

El represor transcripcional Gfi1 se expresa al inicio de la activación de Células T CD4+ Naif y la IL-4

fortalece su expresión, dando lugar a expansión plena de Células CD4+ con fenotipo Th2.

A nivel tímico Gfi1 es necesario para la progresión madurativa de los precursores timocitarios y actúa básicamente regulando señalizaciones vía IL-7R, pero siendo un represor transcripcional el mecanismo exacto resta por dilucidar.

Por otra parte Gfi1 inhibe la diferenciación de Células T Helper Naïf hacia fenotipo Th17 o fenotipo inducible Treg (iTreg) e impide que el fenotipo Th2 transite vías alternativas de diferenciación.

Gfi1 es acrónimo de Factor 1 Independiente de Diferenciación. El fortalecimiento de Gfi1 es crítico para evitar alternativas de diferenciación Th17 e iTreg. Por otra parte, TGF γ reprime la expresión de Gfi1 y habilita de esta manera la diferenciación a Th17 e iTreg⁴⁴.

Los murinos con delección Gfi1 (-/-) exhiben fuerte retraso en el desarrollo de encefalitis experimental y esto tiene correlato con incremento en Células iTreg/Foxp3+.

En definitiva, Gfi1 desempeña un rol crítico en el fortalecimiento de la diferenciación Th2 y represión de fenotipos Th17 e iTreg. En células Th2 Gfi-1 (-/-), los locus Rorc, Il23r y Cd103 exhiben trimetilación en Histona 3 Lisina 4. Esto implica que dicho factor es crítico para la regulación epigenética de genes involucrados en diferenciación a Th17 e iTreg⁴⁵.

Destaquemos que la trimetilación H3K4me3 (K=Lisina) es patrón epigenético activador, la trimetilación H3K27me3 patrón represor y la coexistencia patrón neutro⁴⁴.

Las células Th2 sometidas a microambiente de polarización Th17 no pueden expresar Th17, a menos que tengan delección de Gfi-1: esto demuestra que dicha proteína reprime la expresión de Th17⁴⁴.

Reprogramación de Th2

Sin embargo, el compromiso con linaje Th2/GATA-3+ exhibe mayor plasticidad y puede reprogramarse in vivo mediante estímulo antigénico del TCR, en el contexto de una infección por Virus de Coriomeningitis Linfocitaria (LCMV). Lo mismo ocurre mediante estímulo vitro con la combinación de IFN e IL-12⁴⁶.

Tanto in vivo como in Vitro la reprogramación de linaje Th2 fue enteramente dependiente de T-bet y produjo células que coexpresaban GATA-3, T-bet y Citocinas Th2 y Th1. Estas células pudieron mantenerse in vivo de manera estable y, conservar su capacidad de protección contra infecciones por LCMV⁴⁶.

Es evidente entonces que la combinación de señalizaciones de inmunidad innata y adaptativa, involucradas en respuestas antivirales, pueden reprogramar el compromiso Th2/GATA3+ e inducir la adquisición de fenotipo Th1, con expresión de T-bet y perfil específico de Citocinas.

En suma, lo importante es que la infección con un germen intracelular puede redireccionar el programa genético de una Célula Th2 y convertirla en Th1, que es más eficaz para el control de dicho patógeno.

La flexibilidad del linaje Th2 se evidencia también en la detección de estado epigenético bivalente no silenciado, en el locus genético Tbx21 de Células Th2⁴⁷.

Mediante modificación de histonas es posible controlar la expresión genética e influir en procesos biológicos fundamentales. Es interesante remarcar también que algunas modificaciones epigenéticas pueden transmitirse a la progeñe^{48, 49, 50}.

La trimetilación de Histona 3 a nivel de Lisina (K) H3K4, H3k36 y H3K 79 está vinculada a genes activos o "marcas permisivas", mientras que las di o tri metilaciones H3k27, H3K9 y H3K20 se encuentran asociadas a silenciamiento genético o "marcas represivas".

Estas modificaciones epigenéticas pueden ocurrir como respuesta rápida a señales exógenas^{51, 52, 53}.

Fenotipo Th17

Las células Th17 se caracterizan por fuerte expresión de IL-17A, IL-17F e IL-22 y desempeñan un rol destacado en destrucción de Hongos y Bacterias extracelulares, particularmente a nivel de superficies mucosas.

Para la adquisición de este fenotipo es crítica la expresión del receptor "huérfano" relacionado a retinoides (ROR γ t). Este es inducido por TGF γ asociado a citocinas proinflamatorias IL-6, IL-21 e IL-23, que son activadoras de STAT3⁵⁴.

ROR γ t es el regulador maestro responsable de la adquisición de fenotipo Th17. ROR γ t es necesario y suficiente para inducción de IL-17 y otros genes involucrados en el desarrollo de células Th17.

También en este caso ocurre regulación cruzada entre Th17 y Th1 y/o Th2, porque IFN- γ e IL-4 inhiben la expresión de IL-17⁵⁵ y la delección de T-bet promueve fuertemente la expresión de IL-17, tanto en Células CD4+ como CD8+⁵⁶.

Por otra parte, **la IL-27 funciona como regulador negativo del desarrollo de IL-17 y por esta vía limita el desarrollo de enfermedad inflamatoria crónica del Sistema Nervioso Central**^{57, 58, 59}.

Las señalizaciones vía STAT3 controlan la expresión de diversos genes críticos para adquisición de fenotipo Th17. Entre estos se destacan los genes de IL-17 α , ROR α , IL-6R e IL-21.

Por otra parte la activación de STAT3 promueve la expresión de ROR γ t y la represión de Foxp3, que es un TF imprescindible para el desarrollo de fenotipo Treg (61,62, 63, 64).

STAT3 activa un extenso espectro de citocinas y desempeña funciones críticas en diversos tejidos, pero la delección específica de STAT3 en células T afecta mayormente la expresión de IL-17 e IL-21.

La delección de STAT3 decreta la severidad de diversos modelos de enfermedades autoinmunes. Por otra parte la delección de SOCS3 incrementa la activación de STAT3 y la cantidad de células Th17 circulantes^{64, 65, 66, 67, 68, 69, 70}.

Es importante remarcar que TGF γ e IL-6 son indispensables para adquisición de fenotipo Th17. **Sin embargo, la estimulación con dichas citocinas a células T reactivas contra mielina elimina totalmente su rol patogénico (anti-mielina), a pesar de producir gran cantidad de IL-17.**

Por otra parte, la estimulación con IL-23 promueve la expresión de IL-17 y quimiocinas proinflamatorias, pero no IL-10. Por lo tanto, TGF γ e IL-6 habilitan inicialmente el compromiso de diferenciación a linaje Th17, pero a la vez restringen su potencialidad patogénica.

En suma, la adquisición de función patogénica por efectores Th17 es mediada más por IL-23 que por TGF γ e IL-6^{71, 72, 73, 74, 75}.

El "factor (transcripcional) 4 regulado por interferon" (IRF4) es crítico para la adquisición de fenotipo Th17 tanto in Vitro como in vivo^{76, 77}.

La delección del gen IRF4 en murinos resulta en baja expresión de ROR γ t, incremento en Foxp3 y pérdida de IL-17. Los animales IRF4-/- no desarrollan encefalomiелitis autoinmune experimental (EAE).

El gen Irf4 es blanco directo de Foxp3 y su pérdida en células Treg bloquea la supresión de respuestas Th2^{76, 77}.

Fenotipo Tfh

El fenotipo Tfh regula la maduración de Células B en el Folículo Linfóide y la IL-21 desempeña un rol crítico en la adquisición de este fenotipo^{12, 13, 78} y es probable que Bcl-6 también intervenga en dicho proceso.

Las células T Helper Foliculares (Tfh) expresan característicamente el receptor de Quimiocinas

CXCR5, desempeñan un rol crítico en inmunidad humoral, exhiben un singular perfil de expresión genética in vitro e in vivo y un desarrollo independiente respecto de linajes Th1 y Th2.

Los ligantes de ICOS (ICOS-L), que se expresan en células B, regulan la generación de células Tfh de manera independiente respecto de IL-21, IL-6 y STAT3.

A diferencia de lo que ocurre en células Th17, las proteínas TGF γ , ROR α y ROR γ no intervienen en el proceso de diferenciación a Tfh.

En microambientes caracterizados por presencia de IL-21 y ausencia de TGF γ , las células T naíf adquieren in Vitro patrón de expresión genética típica de Tfh e in vivo promueven reacciones de tipo centro-germinal. Esto demuestra que Tfh constituye un linaje Helper singular^{12, 13, 79}.

Fenotipo Treg

Las Células T CD4+CD25+ (Tregs) se desempeñan como reguladores de la actividad de Células T Efectoras.

Las Tregs evitan que la actividad antimicrobiana de los fenotipos Th1, Th2 y Th17 se exceda o perpetúe y provoquen fenómenos autoreactivos.

De hecho, es frecuente observar Células Th1 y Th17 involucradas en fenómenos autoinmunes organo-específicos y Células Th2 en alergia y asma bronquial⁸⁰.

Las Células Treg se caracterizan por expresión del factor transcripcional forkhead 3 (Foxp3), que desempeña un rol crítico en especificación y mantenimiento del programa genético que conduce a fenotipo Treg⁸¹.

La expresión del factor transcripcional IRF4 confiere a las Células Treg la habilidad de suprimir respuestas Th2.

Hay dos versiones de Células Foxp3+Tregs: las originadas en el Timo o "naturales" (nTreg) y las inducidas en periferia por efecto de TGF γ (iTreg)⁸².

Ambas versiones, nTreg e iTreg, están habilitadas para el mantenimiento de la tolerancia periférica y el control de los fenómenos autoinmunes.

De hecho, la delección de Tregs en el ratón provoca catastróficos eventos autoinmunes por exceso de citocinas Th1 y/o Th2^{83, 84}.

La estimulación de Células CD4+ Naíf en presencia de TGF γ , activa programas de diferenciación a Th17 o iTreg, acorde con el tipo de Citocinas que predomine en el microambiente.

Las Células nTreg producen TGF γ y este, en presencia de citocinas proinflamatorias, activa la transformación de CD4+ Naíf en Células Th17⁸⁵.

No queda claro si las Tregs también suprimen las respuestas Th17.

En definitiva, TGF γ es una citokina “bisagra” que puede reprogramar la diferenciación Helper hacia diferentes subtipos, mediante interacción con otras citocinas⁸⁶.

En diversos experimentos se demostró que la transformación de Células T CD4+ Naif en Células Th1 o Th2, no podía revertirse con su transferencia a un microambiente polarizante diferente⁸⁷.

Bajo condiciones polarizantes, la producción estable de citocinas fue observada solo después de un cierto número de divisiones celulares. Este fenómeno parece responder a la instalación de un programa transcripcional estable⁸⁸.

CONCLUSIONES

Los diversos fenotipos helper CD4+ no constituyen patrones terminales de diferenciación. Las Células Dendríticas y/o Macrófagos liberan un perfil de citocinas apropiado para cada germen invasor. Esto pone en marcha programas genéticos específicos, que habilitan la diferenciación hacia cada versión fenotípica de Células T Helper CD4+. Sin embargo, el ingreso de un nuevo germen puede modificar el perfil de citocinas y activar un programa genético alternativo. Por ejemplo, Treg o Th17 pueden cambiar a Th2 y viceversa. Dicha plasticidad genética permite expandir enormemente el marco de respuesta del sistema inmune adaptativo.

REFERENCIAS

1. Giuliani RA. Las Citocinas y sus Receptores. El Sistema Inmune. 2011; 125-158.
2. Giuliani RA. Biología de las Células Dendríticas. El Sistema Inmune. 2011; 125-158.
3. Giuliani RA. Biología de la Célula T. El Sistema Inmune. 2011; 303-354.
4. Giuliani RA. Granulocitos y Macrófagos. El Sistema Inmune. 2011; 355-362.
5. Zhu J, Paul WE. Peripheral CD4+ T-cell differentiation regulated by networks of cytokines and transcription factors. *Immunol Rev* 2010; 238: 247-62.
6. Curotto MA, Lafaille JJ. Natural and Adaptive Foxp3+ Regulatory T Cells: More of the Same or a Division of Labor? *Immunity* 2009; 626-635
7. Rawlings JS, Rosler KM, Harrison DA. The JAK/STAT signaling pathway. *J Cell Sci* 2004; 117Pt 8: 1281-3.
8. Giuliani RA. Señalizaciones. El Sistema Inmune. 2011; 63-106.
9. Alexander WS, Hilton DJ. The role of suppressors of cytokine signaling SOCS; proteins in regulation of the immune response. *Annu Rev Immunol* 2004; 22: 503-529.
10. Ilangumaran S, Ramanathan S, Rottapel R et. Regulation of

the immune system by SOCS family adaptor proteins. *Semin Immunol* 2004; 16, 351-365.

11. Takeda K, Kaisho T, Akira S Toll-like receptors. *Annu Rev Immunol* 2003; 21: 335-76.
12. Nurieva RI, Chung Y, Hwang D, et al. Generation of T follicular helper cells is mediated by interleukin-21 but independent of T helper 1, 2, or 17 cell lineales. *Immunity* 2008; 29: 138-149.
14. Fazilleau N, Mark L, McHeyzer-Williams LJ, McHeyzer-Williams MG Follicular helper T cells: Lineage and location *Immunity* 30: 2009; 324-335.
14. Boyton RJ, Altmann DM. Is selection for TCR affinity a factor in cytokine polarization? *Trends Immunol* 2002; 23: 526-529.
15. Giuliani RA. El Sistema Inmune. 2011; Editorial Eritroferon.
16. Glimcher LH, Murphy KM. Lineage commitment in the immune system: The T helper lymphocyte grows up. *Genes Dev* 2000; 14: 1693-1711.
17. Mosmann TR, Coffman RL. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol* 1989; 7: 145-173.
18. Wilson CB, Rowell E, Sekimata M. Epigenetic control of T-helper-cell differentiation. *Nat Rev Immunol* 2009; 9: 91-105.
19. Szabo SJ, Dighe AS, Gubler U, Murphy KM. Regulation of the interleukin IL-12R beta 2 subunit expression in developing T helper 1 Th1; and Th2 cells. *J Exp Med* 1977; 185: 817-824.
20. Djuretic IM, Levanon D, Negreanu V, et al. Transcription factors T-bet and Runx3 cooperate to activate Ifng and silence Il4 in T helper type 1 cells. *Nat Immunol* 2007; 8: 145-153.
21. Mullen AC, High FA, Hutchins AS, et al. Role of T-bet in commitment of TH1 cells before IL-12-dependent selection *Science* 2001; 292: 1907-1910.
22. Afkarian M, Sedy JR, Yang J, et al. T-bet is a STAT1-induced regulator of IL-12R expression in naive CD4+ T cells. *Nat Immunol* 2002; 3: 549-557.
23. Szabo SJ, Kim ST, Costa GL, et al. A novel transcription factor, T-bet, directs Th1 lineage commitment. *Cell* 2000; 100, 655-669.
24. Sprecher CA, Grant FJ, Baumgartner JW, et al. Cloning and characterization of a novel class I cytokine receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 246: 82-90.
25. Chen Q, Ghilardi N, Wang H, et al. Development of Th1-type immune responses requires the type I cytokine receptor TCCR. *Nature* 2000; 407: 916-920.
26. Yoshida H, Hamano S, Senaldi G, et al. WSX-1 is required for the initiation of Th1 responses and resistance to L. major infection. *Immunity* 2001; 15: 569-578.
27. Pflanz S, Timans JC, Cheung J, et al. IL-27, a heterodimeric cytokine composed of EB13 and p28 protein, induces proliferation of naive CD4+ T cells. *Immunity* 2002; 16: 779-790.
28. Takeda A, Hamano S, Yamanaka A, et al. Role of IL-27/WSX-1 signaling for induction of T-bet through activation of STAT1 during initial Th1 commitment. *J Immunol* 2003; 170: 4886-4890.
29. Villarino A, Hibbert L, Lieberman L, et al. The IL-27R WSX-1; is required to suppress T cell hyperactivity during infection. *Immunity* 2003; 19: 645-655.
30. Hamano S, Himeno K, Miyazaki Y, et al. WSX-1 is required for resistance to Trypanosoma cruzi infection by regulation of proinflammatory cytokine production. *Immunity* 2003; 19: 657-667.
31. Zhang DH, Cohn L, Ray P, et al. Transcription factor GATA-3 is differentially expressed in murine Th1 and Th2 cells and controls Th2-specific expression of the interleukin-5 gene. *J Biol Chem* 1997; 272: 21597-21603.
32. Zheng W, Flavell RA. The transcription factor GATA-3 is necessary and sufficient for Th2 cytokine gene expression in CD4 T cells. *Cell* 1997; 89: 587-596.

33. Hashimoto T, Akiyama K, Kawaguchi H, et al. Correlation of allergen-induced IL-5 and IL-13 production by peripheral blood T cells of asthma patients. *Int Arch Allergy Immunol* 2004; 134 Suppl 1: 7-11.
34. Hawrylowicz CM, O'Garra A. Potential role of interleukin-10-secreting regulatory T cells in allergy and asthma. *Nat Rev Immunol* 2005; 5: 271-283.
35. Holgate, S.T., and Polosa, R. Treatment strategies for allergy and asthma. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 218-230.
36. Loehning M, Richter A, Radbruch A. Cytokine memory of T helper lymphocytes. *Adv Immunol* 2002; 80: 115-181.
37. Mariani L, Loehning M, Radbruch A, Hofer T. Transcriptional control networks of cell differentiation: Insights from helper T lymphocytes. *Prog Biophys Mol Biol* 2004; 86: 45-76.
38. Murphy KM, Reiner SL. The lineage decisions of helper T cells. *Nat Rev Immunol* 2002; 2: 933-944.
39. Zhou L, Chong MM, Littman DR. Plasticity of CD4+ T cell lineage differentiation. *Immunity* 2009; 30: 646-655.
40. Matsuda JL, George TC, Hagman J, Gapin L. Temporal Dissection of T-bet Functions: The Journal of Immunology 2007; 178: 3457-3465.
41. Usui T, Nishikomori R, Kitani A, Strober W. GATA-3 suppresses Th1 development by downregulation of Stat4 and not through effects on IL-12Rbeta2 chain or T-bet. *Immunity* 2003; 18: 415-428.
42. Djuretic IM, Levanon D, Negreanu V. et al. Transcription factors T-bet and Runx3 cooperate to activate Ifng and silence Il4 in T helper type 1 cells. *Nat Immunol* 2007; 8: 145-153.
43. Naoe Y, Setoguchi R, Akiyama K. et al. 2007;. Repression of interleukin-4 in T helper type 1 cells by Runx/Cbf beta binding to the Il4 silencer. *J Exp Med* 2007; 204: 1749-1755.
44. Zhu J, Davidson TS, Wei G, et al. Down-regulation of Gfi-1 expression by TGF-beta is important for differentiation of Th17 and CD103+ inducible regulatory T cells. *J Exp Med* 2009; 206: 329-41.
45. Ichiyama K, Hashimoto M, Sekiya T, et al. Gfi1 negatively regulates Th17 differentiation by inhibiting RORgamma activity. *Int. Immunol* 2009; 217: 881-889.
46. Hegazy AN, Peine M, Helmstetter C. et al. Interferons direct Th2 cell reprogramming to generate a stable GATA-3+;T-bet+; cell subset with combined Th2 and Th1 cell functions. *Immunity* 2010; 32: 116-28.
47. Wei G, Wei L, Zhu J. et al. Global mapping of H3K4me3 and H3K27me3 reveals specificity and plasticity in lineage fate determination of differentiating CD4+ T cells. *Immunity* 2009; 30: 155-167.
48. Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. *Cell* 2007; 128: 693-705.
49. Jenuwein T, Allis CD. Translating the histone code. *Science* 2001; 293: 1074-80.
50. Heintzman ND, Ren B. Finding distal regulatory elements in the human genome. *Curr Opin Genet Dev* 2009; 19: 541-9.
51. Mohammad HP, Baylin SB. Linking cell signaling and the epigenetic machinery. *Nat Biotechnol* 2010; 28: 1033-8.
52. Liefke R, Oswald F, Alvarado C, et al. Histone demethylase KDM5A is an integral part of the core Notch-RBP-J repressor complex. *Genes Dev* 2010; 24: 590-601.
53. Zhang X, Edwards JP, Mosser DM. Dynamic and transient remodeling of the macrophage IL-10 promoter during transcription. *J Immunol* 2006; 177: 1282-8.
54. Z. Chen, A. Laurence, Y. Kanno et al. Selective regulatory function of Socs3 in the formation of IL-17-secreting T cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006; 103: 8137-8142.
55. Harrington LE, Hatton RG, Mangan PR, et al. Interleukin 17-producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat Immunol* 2005; 6: 1123-1132.
56. Intlekofer AM, Banerjee A, Takemoto N. et al. Anomalous type 17 response to viral infection by CD8+ T cells lacking T-bet and eomesodermin. *Science* 2008; 321: 408-411.
57. Takeda A, Hamano S, Yamanaka A. et al. Cutting edge: role of IL-27/WSX-1 signaling for induction of T-bet through activation of STAT1 during initial Th1 commitment. *J Immunol* 2003; 170: 4886-4890.
58. Stumhofer JS, Laurence A, Wilson EH. et al. Interleukin 27 negatively regulates the development of interleukin 17-producing T helper cells during chronic inflammation of the central nervous system. *Nat Immunol* 2006; 7: 937-945.
59. Batten M, Li J, Yi S et al. Interleukin 27 limits autoimmune encephalomyelitis by suppressing the development of interleukin 17-producing T cells. *Nat Immunol* 2006; 7: 929-936.
60. Durant L, Watford WT, Ramos HL et al. Diverse targets of the transcription factor STAT3 contribute to T cell pathogenicity and homeostasis. *Immunity* 2010; 32: 605-15.
61. Nurieva R, Yang XO, Martinez G, et al. Essential autocrine regulation by IL-21 in the generation of inflammatory T cells. *Nature* 2007; 448: 480-3.
62. Zhou L, Ivanov II, Spolski R, et al. IL-6 programs Th17 cell differentiation by promoting sequential engagement of the IL-21 and IL-23 pathways. *Nat Immunol* 2007; 8: 967-74.
63. Yang XO, Panopoulos AD, Nurieva R, et al. STAT3 regulates cytokine-mediated generation of inflammatory helper T cells. *J Biol Chem* 2007; 282: 9358-63.
64. Chen Z, Laurence A, Kanno Y, et al. Selective regulatory function of Socs3 in the formation of IL-17-secreting T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 8137-42.
65. Mathur AN, Chang HC, Zisoulis DG. et al. Stat3 and Stat4 direct development of IL-17-secreting Th cells. *J Immunol* 2007; 178: 4901-7.
66. Durant L, et al. Diverse targets of the transcription factor STAT3 contribute to T cell pathogenicity and homeostasis. *Immunity* 2010; 32: 605-15.
67. Nishihara M, et al. IL-6-gp130-STAT3 in T cells directs the development of IL-17+ Th with a minimum effect on that of Treg in the steady state. *Int Immunol* 2007; 19: 695-702.
68. Harris TJ, et al. Cutting edge: An in vivo requirement for STAT3 signaling in TH17 development and TH17-dependent autoimmunity. *J Immunol* 2007; 179: 4313-7.
69. Liu X, Lee YS, Yu CR, Egwuagu CE. Loss of STAT3 in CD4+ T cells prevents development of experimental autoimmune diseases. *J Immunol* 2008; 180: 6070-6.
70. McGeachy MJ, Bak-Jensen KS, Chen Y et al. TGF-beta and IL-6 drive the production of IL-17 and IL-10 by T cells and restrain TH17 cell-mediated pathology. *Nat Immunol* 2007; 8: 1390-7.
71. Hirahara K, Ghoreschi K, Laurence A et al. Signal transduction pathways and transcriptional regulation in Th17 cell differentiation. *Cytokine Growth Factor Rev* 2010; 21: 425-34.
72. Stumhofer JS, Laurence A, Wilson EH et al. Interleukin 27 negatively regulates the development of interleukin 17-producing T helper cells during chronic inflammation of the central nervous system. *Nat Immunol* 2006; 7: 937-45.
73. Tanaka K, Ichiyama K, Hashimoto M et al. Loss of suppressor of cytokine signaling 1 in helper T cells leads to defective Th17 differentiation by enhancing antagonistic

- effects of IFN- γ on STAT3 and smads. **J Immunol** 2008; 180: 3746-56.
74. Chen Z, Laurence A, Kanno Y et al. Selective regulatory function of Socs3 in the formation of IL-17-secreting T cells. **Proc Natl Acad Sci USA** 2006; 103: 8137-42.
 75. Chen Q, Yang W, Gupta S et al. IRF-4-Binding Protein Inhibits Interleukin-17 and Interleukin-21 Production by Controlling the Activity of IRF-4 Transcription Factor Immunity, 2008; 29 6; 899-911.
 76. Brustle A, Heink S, Huber M et al. The development of inflammatory TH-17 cells requires interferon-regulatory factor 4. **Nat Immunol** 2007; 8: 958-966.
 77. Vogelzang A, McGuire HM, D. Yu et al. A fundamental role for interleukin-21 in the generation of T follicular helper cells. **Immunity** 2008; 29: 127-137.
 78. Yu D, Batten M, Mackay CR, King C. Lineage specification and heterogeneity of T follicular helper cells. **Curr Opin Immunol** 2009; 21: 619-25.
 79. Vignali DA, Collison LW, Workman CJ. How regulatory T cells work **Nat Rev Immunol** 2008; 8: 523-532.
 80. Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY. Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells. **Nat Immunol** 2003; 4: 330-336.
 81. Josefowicz and Rudensky. Control of regulatory T cell lineage commitment and maintenance. **Immunity** 2009; 30: 616-625.
 82. J.M. Kim, J.P. Rasmussen, A.Y. Rudensky. Regulatory T cells prevent catastrophic autoimmunity throughout the lifespan of mice **Nat Immunol** 2007; 8: 191-197.
 83. Kanangat S, Blair P, Reddy R et al. Disease in the scurfy sf; mouse is associated with overexpression of cytokine genes **Eur J Immunol** 1996; 26: 161-165.
 84. Veldhoen M, Hocking RJ, Flavell RA, Stockinger B. Signals mediated by transforming growth factor- γ initiate autoimmune encephalomyelitis, but chronic inflammation is needed to sustain disease. **Nat Immunol** 2006; 7: 1151-1156.
 85. Veldhoen M, Uyttenhove C, van Snick J et al. Transforming growth factor-beta 'reprograms' the differentiation of T helper 2 cells and promotes an interleukin 9-producing subset. **Nat Immunol** 2008; 9: 1341-6.
 86. Murphy E, Shibuya K, Hosken N et al. Reversibility of T helper 1 and 2 populations is lost after long-term stimulation. **J Exp Med** 1996; 183: 901-913.
 87. Grogan JL, Mohrs M, Harmon B et al. Early transcription and silencing of cytokine genes underlie polarization of T helper cell subsets **Immunity** 2001; 14: 205-215.