

Inmunología

Publicación oficial de la Sociedad Española de Inmunología

SEI



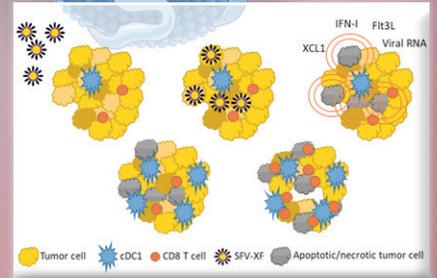
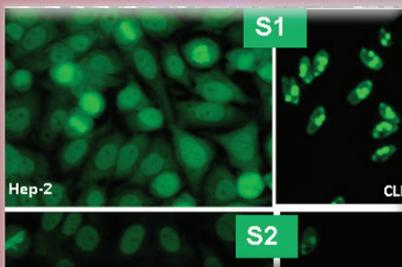
Nanoinmunoterapia que promueve la aceptación de órganos trasplantados



Anticuerpos anti-nucleosomas
y otras especificidades
nucleares

El páncreas en guerra.
Diabetes tipo I

Intratumoral immunotherapy
with XCL1 and sFlt3L





SEI
Sociedad
Española de
Inmunología

¿Por qué hacerse SOCIO de la SEI?



Docente

La SEI facilita la **INTERACCIÓN** entre **docentes** de Inmunología y es una fuente de información actualizada continua. Además está realizando una gran labor **DIVULGATIVA**.

Estar en la SEI mantiene la **CONEXIÓN** con la Inmunología que se hace en España y por lo tanto con las **OPORTUNIDADES** para volver.



Postdoctoral en el Extranjero

Entra en www.inmunologia.org en la sección **HACERSE SOCIO**.

Si eres profesional de la Inmunología, introduce tus datos y el nombre e e-mail de un socio en activo de la SEI que te avale. Nosotros contactaremos con el socio de referencia. Si no conoces socios en activo, introduce como socio "SEI" y el e-mail "gestionSEI@inmunologia.org" y nosotros te buscaremos referencia.

Inmunología

Publicación trimestral en línea de la Sociedad Española de Inmunología.
 ISSN (digital): 0213-9626 www.inmunologia.org



Coordinación: Rafael Sirera (General),
 M. Luisa Vargas (Clínica) y
 Jesús Gil (Divulgación)

Asistente editorial: Laura Grau

Comité editorial:

Carmen Cámara	Manuel Muro
Javier Carbone	Pedro Roda
Alfredo Corell	Jesús Sánchez
Fernando Fariñas	Silvia Sánchez-Ramón
Carmen Martín	David Sancho

Secretaría Técnica: C/ Melchor Fernández Almagro 3. 28029 Madrid
 (laura.grau@cnic.es) Tel: (+34) 91 4531200 ext. 1166

- Para futuras colaboraciones:
 1. Descarga las [instrucciones a los autores aquí](#).
 2. Puedes contactar directamente con los coordinadores pulsando en el enlace en su nombre al inicio de cada sección o subsección. ←
 3. Para comentarios, sugerencias o información sobre cómo anunciarse, contacta con la [Secretaría Técnica aquí](#).
- La responsabilidad del contenido de las colaboraciones publicadas en la revista Inmunología corresponderá a sus autores, quienes autorizan la reproducción de sus artículos e imágenes a la SEI exclusivamente para esta revista. La SEI no hace necesariamente suyas las opiniones o los criterios expresados por sus colaboradores.
- © **Sociedad Española de Inmunología, 2018**
 Reservados todos los derechos. El contenido de la presente publicación no puede ser reproducido, ni transmitido por ningún procedimiento electrónico o mecánico, incluyendo fotocopia, grabación magnética, ni registrado por ningún sistema de recuperación de información, en ninguna forma, ni por ningún medio, sin la previa autorización por escrito del titular de los derechos de explotación de la misma.

Con el patrocinio de:

Edición: Alicia Irurzun (Editorial Hélice)
Diseño y maquetación: Antonio Robles (675 651 107)



INDICE DEL CONTENIDO



SEI

Sociedad Española de Inmunología

CÁMARA: **Presentación de nuevos Planes estratégicos: Protocolo de...**

MELERO: **Héroes laureados y no laureados en...**

ÁLVAREZ-VALLINA: **Combinando evolución e imaginación para...**

SEI FELLOWSHIP RECIPIENTS: **5th European Congress of Immunology**

Premios “Constantes y Vitales”

CAMPANERO *et al.*: **Premio “Trayectoria científica 2018” a...**

SÁNCHEZ-MADRID y GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ: **Premio “Joven Talento 2017” a...**

DOMÍNGUEZ-ANDRÉS: **The itaconate pathway is a central ...**

SÁNCHEZ-PAULETE: **Intratumoral immunotherapy with XCL1 and sFlt3L encoded...**

TERÁN-NAVARRO y CALDERÓN-GONZÁLEZ: **Pre-clinical development of Listeria...**

CARRILLO y CERUTTI: **Secreted IgD amplifies humoral T...**

CLEMENTE: **MT4-MMP deficiency increases...**

OCHANDO y MULDER: **Inhibiting inflammation with myeloid cell T...**

PRADA: **Utilidad de los autoanticuerpos antinucleares en...**

RODRIGUEZ-BAYONA *et al.*: **Taller de Autoinmunidad 2018: anticuerpos anti-nucleosomas...**

PLANELLES: **Taller de Histocompatibilidad 2018 del GETHIT-SEI ...**

MARTÍN: **Érase una vez la calidad (II): de Chicago a...**

PADRÓN-GONZÁLEZ *et al.*: **Becas Quincke: 7 años multiplicando ...**

GIL: **El páncreas en guerra**

Pregunta al experto: Federación Española de Diabetes

GIL: **Luz solar, suplementos y dieta. Hablemos claro de...**

GIL: **Entrevista a Marta Vives-Pi**

SÁNCHEZ: **Nº 16: Resfriado epitelial**

● PORTADA

● 2 Créditos

● Índice

● 4 **TRIBUNA**

● 4

● 5 **PANORAMA**

● 5

● 8

● 11

● 20

● 21

● 23

● 25 **INVESTIGACIÓN**

● 25 Visión del autor

● 26

● 27

● 28

● 29

● 31

● 33 **CLÍNICA**

● 33 Minirrevisión

● 36 Talleres

● 39

● 43 Calidad

● 46 **DOCENCIA**

● 46

● 49 **DIVULGACIÓN**

● 49 A pacientes

● 51

● 52 A todos los públicos

● 55 ¿Qué investigas?

● 57 Tira cómica



CARMEN CÁMARA

Secretaria- Junta Directiva de la SEI
Hospital Universitario La Paz, Madrid

Presentación de nuevos Planes estratégicos: Protocolo de Diagnóstico Precoz de la enfermedad celíaca y Plan de Abordaje de las Terapias Avanzadas en el SNS: medicamentos CAR

La redacción de la Tribuna de hoy me resulta especialmente agradable, porque creo que tenemos buenas noticias que transmitir. Dentro de las labores de la Junta Directiva, una de las labores que resulta más ingrata en ocasiones son las reuniones a las que se nos convoca en el Ministerio de Sanidad y Consumo por una gran variedad de temas. En muchas ocasiones, estos contactos no han sido nada productivos, como ocurrió con las infinitas ocasiones en que nos reunimos para el tema de la troncalidad. En cambio, en este trimestre ha habido dos reuniones que creemos que han conseguido logros que pueden beneficiar claramente a nuestra Sociedad.

En primer lugar, el 2 de octubre se nos convocó para la presentación del nuevo **"Protocolo para el diagnóstico precoz de la enfermedad celíaca"**. Se ha elaborado, impulsado por el Ministerio, por un equipo multidisciplinar (representantes de doce sociedades científicas, la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición, representantes de asociaciones de pacientes y el Servicio de Evaluación y Planificación del Servicio Canario de Salud como apoyo metodológico). Lo que queremos resaltar es que, por primera vez, se incluye el inmunofenotipo de linfocitos intraepiteliales por citometría de flujo dentro del algoritmo diagnóstico de celiaquía en un plan estratégico. Esta prueba nació dentro de Inmunología, os recuerdo que se desarrolló en el Hospital Ramón y Cajal por el equipo encabezado por Garbiñe Roy, formado por Pablo Eiras y Paco León. Desde entonces, hemos sido los inmunólogos los que la hemos implementado en las carteras de servicios de los hospitales españoles en los que trabajamos. Ojalá este avance consiga mejorar el diagnóstico y manejo de estos pacientes como objetivo fundamental, y además sirva como una nueva razón a esgrimir para que la Inmunología se extienda por el mayor número de hospitales posibles.

La segunda reunión tuvo lugar el 11 de noviembre y también, de nuevo, fue para la presentación de un nuevo plan estratégico. En este caso fue el **"Plan de Abordaje de las Terapias Avanzadas en el SNS: medicamentos CAR"**, aprobado dos días después en el Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud. Este plan ha sido elaborado por la Dirección General de Farmacia del Ministerio de Sanidad en colaboración con muchos interlocutores: AEMPS, ONT y Sociedades Científicas (Hematología, Inmunología, Oncología, Oncología Pediátrica, Farmacia y Farmacología). A la presentación con la ministra María Luisa Carcedo también fueron convocados representantes de las asociaciones de pacientes. En la redacción inicial de este plan, la Inmunología apenas estaba representada y fue en la fase de correcciones donde se consiguió incluir el concepto de multidisciplinariedad indispensable para este campo. Al final se

ha conseguido que haya un representante de la SEI tanto en el Grupo de Expertos en la utilización de medicamentos CART a nivel del SNS como en el Grupo de Expertos para la definición de criterios para la designación de centros. Este Plan Estratégico se ha realizado muy orientado a terapias en patologías hematológicas porque los dos medicamentos aprobados tienen dicha indicación (Kymriah® para leucemia linfoblástica aguda B y linfoma difuso de célula grande; Yescarta® para linfoma difuso de célula grande y para linfoma mediastínico de células grandes), siempre en casos refractarios o en recaída. Sin embargo, también aparecen en el Plan la regulación de los CART académicos (es decir, los no comerciales) tanto a nivel de uso (es decir, centros administradores de los mismos) como a nivel de producción (centros productores). Esto es especialmente relevante para nosotros, dado que los jefes de producción de los dos principales centros españoles están a cargo de inmunólogos: Manel Juan, en el Hospital Clínic de Barcelona, e Ignacio Melero en la Clínica Universitaria de Navarra. De hecho, el Hospital Clínic es el único centro en España con un ensayo clínico en fase II. El modelo organizativo que se propone para los centros administradores es la designación de centros de referencia (CSUR). Cada comunidad autónoma (CC. AA.) solicitará la designación de los centros que considere y estos deberán cumplir los requisitos que haya establecido previamente el Comité de Expertos. Para la designación de un centro como productor, este deberá cumplir el RD 477/2014 para la autorización de medicamentos de terapia avanzada de fabricación no industrial. Estos centros se propondrán por las CC. AA. y tendrán que ser autorizados por la Comisión Permanente de Farmacia.

Para terminar esta Tribuna, solo recordaros un par de fechas importantes que deberíais reservar en vuestras agendas: del 30 de mayo al 1 de junio de 2019 para el 41.º Congreso de la SEI; y del 26 al 30 de agosto, para el Curso de Inmunoterapia de la SEI en la Universidad Internacional Menéndez Pelayo.

Un abrazo para toda la Comunidad SEI

Carmen Cámara



Protocolo disponible para descarga desde la web del MSCBS.

Héroes laureados y no laureados en inmunoterapia del cáncer



IGNACIO MELERO

CIMA y Clínica Universidad de Navarra

El Premio Nobel de Medicina o Fisiología en 2018 honra a dos científicos excepcionales en inmunoterapia del cáncer, que hicieron descubrimientos fundamentales en los años 90 y que nos han conducido a una revolución en la forma en que tratamos el cáncer en la segunda década del siglo XXI. **James P. Allison** descubrió al CTLA-4 como un receptor coinhibitorio paradigmático de linfocitos T y demostró que la manipulación de su función con anticuerpos monoclonales incrementaba la intensidad de las respuestas inmunes antitumorales. **Tasuku Honjo** descubrió el receptor PD-1 en las células T, una molécula que también transmitía señales inhibitorias y demostró que la interferencia de esta vía daba como resultado una inmunidad más intensa frente a un modelo transplantable de tumor. Lieping Chen y Gordon Freeman identificaron los ligandos de PD-1 y descubrieron su potencial para eliminar la represión de la inmunidad antitumoral inhibiendo este par de ligandos y receptores. Los trabajos de estos dos investigadores indudablemente también hubieran merecido el reconocimiento Nobel. El tremendo éxito de la inhibición de PD-1 / PD-L1 en la clínica solo puede explicarse por la participación pionera posterior de biotecnólogos y clínicos que han llevado a buen término esta estrategia. La inhibición combinada de CTLA-4 y PD-1 está logrando una eficacia sinérgica en una lista creciente de indicaciones malignas. La inmunoterapia contra el cáncer tal vez merezca más reconocimiento Nobel para honrar los avances de la terapia adoptiva con células T y la terapia con anticuerpos citotóxicos en el tratamiento de tumores malignos hematológicos. Los héroes laureados y los no reconocidos por el

comité del Premio Nobel deben estar orgullosos de sus contribuciones a la investigación para aliviar y curar a los pacientes con cáncer.

Héroes laureados en inmunoterapia del cáncer

El profesor James Allison, cuando trabajaba en la Universidad de California, Berkeley, llegó a la sorprendente conclusión de que la proteína CTLA-4, altamente homóloga al receptor CD28 coestimulador canónico de células T y que también compartía sus ligandos, era, en realidad, una molécula inhibitoria para la activación de células T. La controversia sobre el tema se resolvió definitivamente a favor de la interpretación del Dr. Allison cuando dos grupos publicaron simultáneamente autoinmunidad letal grave y de inicio temprano en ratones *knock-out* para CTLA-4. Sobre la base de esta hipótesis, el Dr. Allison desarrolló anticuerpos dirigidos contra CTLA-4 de ratón y los probó contra un modelo de cáncer de colon transplantable, logrando rechazos completos como resultado de la desrepresión de respuestas inmunitarias mediadas por linfocitos T citotóxicos. También tuvo la suficiente visión traslacional para colaborar con los doctores Alan Korman y Nils Lonberg de la compañía de biotecnología de California Medarex para producir anticuerpos monoclonales anti-CTLA-4 completamente humanos y desarrollarlos para pacientes con melanoma metastásico en colaboración con Bristol-Myers Squibb (BMS).

El profesor Tasuku Honjo se propuso comprender la apoptosis de las células T activadas buscando

Los trabajos de estos dos investigadores indudablemente también hubieran merecido el reconocimiento Nobel



James P. Allison, catedrático en la Universidad de Texas y director ejecutivo de la plataforma de inmunoterapia en el M. D. Anderson Cancer Center (Foto tomada por Gerbil, 2015; CC BY-SA 3.0).



Tasuku Honjo, catedrático en la Universidad de Kioto y presidente de la Shizuoka Prefectural Public University Corporation (Fuente: Ministerio de Educación, Cultura, Deportes, Ciencia y Tecnología, Japón; Recursos humanos, 2013; CC BY 4.0).

los receptores que podrían participar en este proceso y así descubrió una molécula de la superfamilia de inmunoglobulinas expresada en la superficie de las células T activadas. Después de denominar al receptor como PD-1 (muerte celular programada uno), no está claro si su función principal es promover la apoptosis, sino que su función principal consiste en reprimir la activación de las células T mediante el reclutamiento de tirosina fosfatasas a la membrana plasmática y de esta forma interferir en la señalización de los receptores activadores. En el caso de ratones *knock-out* para PD-1, no se observó un fenotipo de autoinmunidad manifiesta, si bien los animales sí desarrollaron en algunos casos autoinmunidad a una edad relativamente avanzada. También descubrió que un modelo de mieloma transplantable era rechazado en ratones *knock-out* para PD-1. La patente resultante fue licenciada por la empresa japonesa ONO Pharmaceuticals. Sin duda, estos descubrimientos sembraron las semillas de la llamada “revolución PD-1” en el tratamiento contra el cáncer, en la que los anticuerpos anti-PD-1 o anti-PD-L1 benefician la supervivencia de los pacientes que sufren un amplio espectro de enfermedades malignas.

La terapia de agente único con anti-CTLA-4 solo ha sido aprobada por la FDA

y la EMA para el melanoma metastásico, pero en los últimos años una combinación de agentes anti-PD-1 y CTLA-4 dio como resultado efectos sinérgicos y ha sido aprobada para el melanoma metastásico y el carcinoma renal, lo que de alguna manera conlleva conjuntamente las contribuciones de Allison y Honjo.

Héroes no laureados en inmunoterapia del cáncer

La última voluntad de Alfred Nobel solo permite honrar a un máximo de tres personas cada año. Esta regla debe haber significado una dificultad especial este año porque al menos otros dos investigadores hubieran merecido el reconocimiento.

El profesor Lieping Chen (actualmente en la Universidad de Yale) y el profesor Gordon Freeman (DANA-Farber Cancer Institute, Harvard) han hecho contribuciones absolutamente fundamentales sin las cuales es difícil imaginar que las terapias basadas en PD-1 hubieran llegado a buen término.

Lieping Chen y Gordon Freeman descubrieron simultáneamente los ligandos para el receptor PD-1 y se dieron cuenta del papel de este sistema para inhibir las respuestas inmunitarias, incluidas aquellas dirigidas frente a tumores. De hecho, en el momento en que Lieping Chen estaba en la Johns Hopkins colaborando con Drew Pardoll, se instó a los investigadores de Medarex a producir anticuerpos contra PD-L1 (B7-H1) o su receptor PD-1. Hay que decir que, sin Medarex produciendo los anticuerpos y BMS desarrollando esta estrategia, no lo estaríamos celebrando hoy este éxito.

Posteriormente, muchos científicos clínicos han contribuido con importantes avances en el campo. Esta revolución también ha sido impulsada por la épica carrera entre las compañías farmacéuticas, incluida la competición ya desde el principio entre BMS y MSD, que pasará a la historia.

Esta revolución también ha sido impulsada por la épica carrera entre las compañías farmacéuticas, incluida la competición ya desde el principio entre BMS y MSD

¿Y esto es todo para inmunoterapia del cáncer?

Al menos otras dos áreas de la inmunoterapia tumoral han permitido avanzar enormemente la forma en que tratamos y mantenemos vivos a los pacientes con tumores malignos hematológicos. El uso de anticuerpos monoclonales citotóxicos para CD20 en combinación con quimioterapia ciertamente ha revolucionado el tratamiento del linfoma y constituye una estrategia en evolución que fue desarrollada de forma pionera por el profesor Ronald Levy en Stanford, California.

Podría haber más avances radicales y es probable que lo mejor esté todavía por llegar

Se han realizado grandes progresos para cultivar y reinfundir linfocitos autólogos con la capacidad de reconocer y destruir células tumorales en una línea de investigación liderada por el profesor Steve Rosenberg y su equipo de investigadores en el National Cancer Institute, Bethesda. Los resultados más eficaces de la estrategia globalmente considerada provienen de la capacidad de *ingenierizar* genéticamente células T con receptores quiméricos capaces de reconocer un antígeno de superficie en las células tumorales. La idea propuesta

por el profesor Zelig Eshhar (Instituto Weizmann, Israel) ha logrado resultados sobresalientes en la clínica contra la leucemia linfoblástica aguda acoplando la señalización intracelular que imita el reconocimiento de antígenos y la coestimulación como resultado del trabajo del profesor Carl June y sus colaboradores en la Universidad de Pensilvania.

También se realizaron trabajos similares en el centro de cáncer Memorial Sloan Kettering, bajo el liderazgo del profesor Michael Sadelain, que probablemente transformarán el tratamiento del linfoma no Hodgkin. Ciertamente, las aprobaciones de estas estrategias por parte de la

FDA y la EMA están cambiando la forma en que los médicos abordan el tratamiento de las neoplasias malignas hematológicas refractarias al tratamiento convencional.

Todos estos descubrimientos y desarrollos pueden muy bien merecer el reconocimiento del premio Nobel en un futuro próximo. La investigación preclínica y clínica del cáncer es más activa que nunca. Podría haber más avances radicales y es probable que lo mejor esté todavía por llegar.



Combinando evolución e imaginación para fabricar las medicinas del futuro



LUIS ÁLVAREZ-VALLINA

Immunotherapy and Cell Engineering Laboratory, Department of Engineering, Aarhus University, Dinamarca

Cancer Immunotherapy Unit (UNICA), Department of Immunology Hospital Universitario 12 de Octubre

Immuno-Oncology and Immunotherapy Group Instituto de Investigación Sanitaria 12 de Octubre (i+12) Madrid

La Real Academia Sueca de las Ciencias ha otorgado el Premio Nobel de Química 2018 a tres científicos pioneros en el desarrollo de métodos, que reproducen los mecanismos de la evolución natural *in vitro*, para crear sistemas con utilidad biotecnológica o biomédica. Estos “domadores o escultores del poder de la evolución” como se les ha denominado en algunos medios de comunicación, son **Frances H. Arnold**,

investigadora estadounidense del Instituto de Tecnología de California, que recibe la mitad del premio Nobel por sus trabajos sobre “evolución dirigida” para generar enzimas con funciones nuevas o más efectivas que las enzimas naturales; la otra mitad del premio Nobel es compartida por el científico estadounidense **George P. Smith**, profesor emérito en la Universidad de Missouri-Columbia, y el investigador británico **Sir Gregory P. Winter** del Laboratorio de Biología Molecular (LMB) del Medical Research Council (MRC) de Cambridge, por el desarrollo de la tecnología de “presentación de péptidos y anticuerpos en la superficie de fagos filamentosos”, conocida universalmente como “*phage display technology*”, por su denominación en lengua inglesa. Esta tecnología ha sido fundamental en el desa-

rollo de los anticuerpos monoclonales completamente humanos, que han representado un cambio de paradigma en la medicina moderna y han revolucionado completamente la industria farmacéutica.

Esta apasionante historia se inicia en 1975 en el LMB de Cambridge cuando George Köhler y César Milstein desarrollaron la tecnología del hibridoma que permitió la generación de anticuerpos monoclonales. En 1986 la agencia reguladora norteamericana Food and Drug Administration (FDA) aprobó el muromonab-CD3, un anticuerpo monoclonal de ratón dirigido frente al CD3, para el tratamiento del rechazo agudo de trasplantes de órganos sólidos. Sin embargo, hubo que esperar ocho años para que el siguiente anticuerpo terapéutico fuese aprobado por la FDA. El factor que determinó ese retraso fue la inmunogenicidad de los anticuerpos de ratón y la generación de respuesta de anticuerpos humanos anti-inmunoglobulinas murinas, que provocaban la pérdida de eficacia y, en ocasiones, reacciones infusionales potencialmente muy graves. Para minimizar estos riesgos se desarrollaron las técnicas de ingeniería de proteínas que han permitido generar anticuerpos monoclonales menos inmunogénicos, como los anticuerpos quiméricos y los humanizados.

Estos tres científicos son pioneros en el desarrollo de métodos, que reproducen los mecanismos de la evolución natural *in vitro*, para crear sistemas con utilidad biotecnológica o biomédica



Frances Arnold, catedrática “Linus Pauling” de ingeniería química, bioingeniería y bioquímica en el Instituto de Tecnología de California (Foto tomada por Bengt Nyman, 2018; CC BY 2.0).



George P. Smith, profesor emérito de Ciencias Biológicas en la Universidad de Missouri-Columbia (Foto tomada por Bengt Nyman, 2018; CC BY 2.0)



Gregory P. Winter, investigador del Laboratorio de Biología Molecular (LMB, del inglés Laboratory of Molecular Biology) del Medical Research Council (MRC) de Cambridge, Reino Unido (Foto tomada por Aga Machaj, 2016; CC BY-SA 4.0)

Sin embargo, la producción de anticuerpos “tomando prestado” el sistema inmune de un animal, a través de procedimientos de inmunización *in vivo* y de generación de hibridomas, presenta algunos inconvenientes ya que el sistema inmune dispone de numerosos mecanismos de control, tanto a nivel central como periférico, cuyo objetivo es preservar los componentes propios (tolerancia inmunológica), por lo que la generación de anticuerpos frente a estructuras muy conservadas evolutivamente es muy difícil o imposible.

Los anticuerpos son un producto de la evolución natural cuya misión fundamental es proteger al huésped frente a microorganismos patógenos. Los mecanismos básicos de la evolución natural son la diversificación génica, la selección natural de aquellos genes que mejoran la capacidad de supervivencia y la adaptación al ambiente. Desde este punto de vista evolutivo, el sistema inmune es relativamente simple, centrado en el linfocito B (o T) que podríamos definir como un “escaparate de anticuerpos (o TCR)” con las moléculas funcionales presentadas en la superficie y los genes que los codifican protegidos en el interior. Desde el inicio de esta “carrera para generar anticuerpos artificiales”, tanto César Milstein como Greg Winter teorizaron sobre la creación de anticuerpos completamente humanos que pudieran reco-

nocer componentes propios y tratar de forma segura y eficaz patologías no infecciosas, como el cáncer y las enfermedades inflamatorias. Es más, en su célebre e histórico artículo publicado en *Nature* en el año 1991 (“Man-made antibodies”), ambos autores ya especulaban sobre el futuro desarrollo de anticuerpos terapéuticos sin necesidad de inmunizar animales.

A finales de los años 80 del pasado siglo, uno de los principales obstáculos era el aislamiento de los genes de las regiones variables de los anticuerpos. Greg Winter y su grupo diseñaron una estrategia muy elegante basada en el empleo de colecciones de oligonucleótidos cebadores complementarios de regiones conservadas situadas en los extremos de los dominios variables, lo que permitía su aislamiento mediante la reacción en cadena de la polimerasa. Esto metodológicamente significó un gran avance y permitió el aislamiento de los genes de las regiones variables de los anticuerpos, a partir de muestras biológicas diversas, así como la demostración de que era posible secretar e identificar anticuerpos funcionales en bacterias a partir de repertorios recombinantes de dominios variables, obtenidos de animales inmunizados.

A finales de los años 80 del pasado siglo, uno de los principales obstáculos era el aislamiento de los genes de las regiones variables de los anticuerpos

En el transcurso de la carrera, se evidenció la necesidad de desarrollar métodos de selección que permitiesen identificar anticuerpos con las propiedades físicoquímicas adecuadas para su potencial aplicación terapéutica. En la búsqueda de este “escaparate alternativo de anticuerpos” que garantizase la asociación física entre genotipo y fenotipo, se barajaron muchas opciones como diferentes tipos de células eucarióticas, bacterias y fagos filamentosos; por razones estratégicas y de recursos, Greg Winter se decantó por los bacteriófagos. En 1985 George P. Smith había demostrado que el genoma de los fagos podía ser manipulado para obtener partículas con péptidos fusionados a las proteínas de la envoltura, y que estos péptidos podían ser reconocidos mediante anticuerpos específicos. En 1990, el grupo de

Winter demostró por primera vez que era posible “presentar” anticuerpos funcionalmente activos en la superficie de un fago filamentoso. Como resultado de esta combinación se producen fagos recombinantes, cada uno de los cuales presenta un único anticuerpo en su cápside. Mediante la generación de genotecas de regiones variables (colecciones de genes o repertorios) a partir de animales inmunizados, era posible obtener anticuerpos con afinidades similares a las obtenidas empleando la tecnología del hibridoma; pero, cuando se generaban a partir de animales no inmunizados, las afinidades de los anticuerpos obtenidos se situaban en el rango micromolar, muy lejos de lo necesario para desarrollar un anticuerpo terapéuticamente útil.

En este momento Winter y sus colegas se dan cuenta de que el contexto de presentación del anticuerpo era tan importante como la diversidad del repertorio y el procedimiento de selección. Las primeras genotecas se habían desarrollado con el sistema de un solo gen, que permitía la producción de fagos que presentan el anticuerpo en todas las copias (3-5) de la proteína III de la cápside. En este formato los fagos son multivalentes, presentan más de una copia del anticuerpo, y el *efecto avidéz* favorece la selección de anticuerpos de baja afinidad. El desarrollo del sistema de dos genes, que permite la producción de fagos que contienen una mezcla de las proteínas naturales de la cápside, con un número limitado de copias con la secuencia del anticuer-

El desarrollo del sistema de dos genes, que permite la producción de fagos que contienen una mezcla de las proteínas naturales de la cápside, con un número limitado de copias con la secuencia del anticuerpo fusionada, fue una aportación fundamental

po fusionada, fue una aportación fundamental. Este sistema se basa en el uso de vectores plasmídicos llamados “fagómidos” que contienen la región intergénica del fago filamentoso M13, que permite su empaquetamiento como ADN de cadena simple. En este sistema, la infección con un fago *helper* aporta los genes necesarios para la síntesis de todas las proteínas virales y la formación de fagos. La composición de los fagos resultantes es mixta: combinan las proteínas naturales provenientes del fago *helper* con la proteína de fusión codificada en el fagómido. En este escenario, la mayoría de los fagos no presentan anticuerpo o presentan solo

una copia del mismo. Actualmente este formato de presentación, combinado con las nuevas genotecas de genes variables humanos con diversidades $\geq 10^{11}$ permiten la generación de anticuerpos humanos con afinidades significativas potencialmente frente a cualquier diana. Actualmente se han aprobado para uso clínico ocho anticuerpos humanos generados con esta tecnología, y el número de moléculas similares en ensayo clínico es aún mayor.

Con sus trabajos, los galardonados han “moldeado los primeros esbozos evolutivos” y han demostrado la enorme utilidad biomédica de estas aproximaciones. Pero, lo que es más importante, han abierto la puerta a nuevas áreas de investigación que en un futuro no muy lejano aportarán soluciones a problemas médicos aun no resueltos.



Amsterdam,
September 2-5, 2018

Report on the 5th European Congress of Immunology



Reported by the indicated SEI fellowship recipients
Compiled by **LAURA GRAU** and reviewed by **RAFAEL SIRERA**

This summary covers the main sessions of the Meeting and has been elaborated by the SEI fellows indicated in italics, who were awarded a grant by the SEI.

Sunday, September 2

KEYNOTE LECTURE KL.02 - "Trained immunity: reprogramming innate immunity to protect against infections" –*María Velasco de Andrés*

Mihai Netea discussed about a controversial issue: the exclusive attribution of developing "immunological memory" to the adaptive immune cells. He explained that mammalian innate immunity exhibits "trained immunity". After exposure to a pathogen, it can undergo functional reprogramming, promoting a faster and enhanced response during a reinfection with another microorganism. The underlying mechanism of trained immunity involves an important reprogramming at metabolic, epigenetic and transcriptional levels.

Symposium S.E1 - VISUALIZING IMMUNE RESPONSES –*Miriam San José Cascón*

Gillian Griffith explained that during immune synapse formation, rapid depletion of PIP5K at the synapse triggers subsequent changes in membrane composition and actin dynamics to establish a zone of localized granule secretion. **Henrique Veiga-Fernandes** explained the neural regulation of innate lymphoid cells (ILC). Emerging evidence indicates that ILC are controlled both genetically and by complex environmental signals such as nutritional and neuronal cues. **Matteo Iannaccone** talked about the spatiotemporal dynamics of CD8⁺T cell undergoing intrahepatic priming that can lead to both effective or dysfunctional CD8⁺ T cell responses to hepatitis B virus (HBV). The dysfunctional CD8⁺T cells can be rescued by interleukin-2 what suggests potential strategies for the therapeutic restoration of dysfunctional CD8⁺ T cells during chronic HBV infection.

Monday, September 3

Symposium S.B1 - TUMOR VACCINATION PRINCIPLES AND IMMUNOTHERAPY
–*Laura Sanz Ortega*

Johanna Olweus discussed about the donor-derived T-cell receptors in the cancer immunotherapy field. She showed, among other things, T cells from healthy donors can respond to a repertoire of neoantigens that are neglected by patient tumor-infiltrating T cells. Then, **Eric Vivier** talked about the heterogeneity in

Natural Killer cells in humans and mice by high-throughput single-cell RNA sequencing. He presented that NK cells exhibit an organ specific reprogramming and transcriptomic profile and showed diverse similarities between Humans and mice and the differences between the NK cell subsets in blood and spleen. Finally, **Dmitriy Chudakov** spoke about the immunoglobulin repertoires intratumorally produced. He showed a patient stratification based on immunoglobulin repertoire that could be a predictive biomarker for vaccination efficacy.

Symposium S.A1 - MYELOID LINEAGE SPECIFICATION –*Silvia Medina*.

Muzlifah Haniffa talked about antigen presenting cell networks in the skin. These cells are a highly heterogeneous population with different functional specificities that are modulated by local tissue microenvironmental. She reviewed new results with single cell sequencing that has refined understanding of APCs in skin. **Ido Amit** talked about immunology in the age of single cell genomics. This technology holds the potential to revolutionize the way to characterize complex immune cell assemblies. As an example, he described a novel microglia type associated with neurodegenerative diseases which may have important implications for future treatments. **Martin Guilliams** talked about the plasticity of macrophages and their important role in maintaining tissue homeostasis. Novel tools like single cell sequencing have revealed the presence of multiple macrophage progenitors. Therefore, their immense functional plasticity could be due to the presence of different macrophage subsets performing distinct functions. He focused on sciatic nerve macrophages as example.

KEYNOTE LECTURE KL.03 - “Centrosomes and exosomes: Molecular pacemakers of immune synapse and T cell activation” –*José Ignacio Fernández Velasco*

The keynote lecture of **Francisco Sánchez-Madrid** about cell-cell communication through the immune synapse was divided into three main sections. First of all, he talked about the role of Chaperonin-containing TCP1 complex (CCT complex) in controlling the dynamics of tubulin, nanovesicle and mitochondria during T cell activation. Subsequently, he showed the importance of exosomes containing miRNAs in T-B cell communication with examples of survival, proliferation and class switch selected targets. The third part of his talk was dedicated to show functions of mitochondrial constituents in exosomes, concluding that mitochondrial DNA is transferred between dendritic and T cells during immune synapse formation which could modulate inflammation by triggering antiviral responses

KEYNOTE LECTURE KL.04 - “Co-ordination of the local and systemic immune response to infection and injury” –*María Velasco de Andrés*

Judi Allen explained the role of type 2 immune responses in host protection during helminth infections. Macrophages, with an IL-4-dependent phenotype, are recruited to the site of infection where they promote tissue repair. In this context, Ym1/ Chi3l3, Fizz1/Relm- α and arginase 1 expression seem to be important markers of the alternative macrophage activation necessary to wound healing following injury.

Joint Symposium with the International Union of Immunological Societies (IUIS) JS.01 - TRENDS IN VACCINOLOGY –*Raquel Sánchez Díaz*

In this session there were two main talks in which it was intended to give an overview of the advances in the field of vaccines. The first talk “Novel vaccines against old foes: Dengue, Zika, Ebola & Co”. **Franz X. Heinz** gave us a vision of how advances in the field of vaccines and knowledge of diseases can help to develop new

vaccination strategies to eradicate old diseases. The second one "New generation of adjuvants: each target group its own adjuvant?" **Ed Lavelle** addressed the importance of adjuvants in the effectiveness of vaccines.

Finally, the awards were also granted for Excellence in Vaccines Research and Development in Europe. The winners were **Christiane Maier** and **Cantaert Tineke** for their work in the adaptive immune response study in individuals exposed to vaccination of different diseases such as Dengue or Rhabdovirus.

Joint Symposium JS.03 - ANTIGEN PRESENTATION IN HEALTH AND DISEASE

–*M^a del Carmen Ochoa Nieto*

In the session of antigen presentation in health and disease, **Laura Santambrogio** talked about lymph composition, circulation and its immunological role. She showed a method to quantify lymph nodal filtration based on the measurement of fluorophore-labeled particles infused at physiological flow rates into lymphatic collectors and collected by post-nodal cannulation. **Robert Binder** spoke about antigen processing and presentation in cancer immunosurveillance. He remarked the intracellular functions of heat shock proteins as chaperones initiating and modulating immune responses to tumors. Whereas **Nilabh Shastri** explained the modulation of the mechanism of generating peptide-MHC ligands for immune surveillances of the foreign and self by the endoplasmic reticulum aminopeptidase associate with antigen processing protein (ERAAP).

Symposium S.C2 - IMMUNE SIGNALLING AND THERAPY IN AUTOINMUNITY

–*Sandra Pascual García*

Trevor Owens explained that myeloid cells play a key role in multiple sclerosis, where microglia are protective, but infiltrative macrophages produce demyelination. So, he wanted to know how to induce protective myeloid cells in the CNS. He discovered that CD11c⁺ microglia emerge during postnatal neurodevelopment producing IGF1 and protecting against EAE. **Attila Mocsai**'s laboratory studied the role that neutrophils have in autoantibodies-induced inflammation. These cells release LTB4 and chemokines that act on other PMN. In addition, src is necessary to release LTB4 and CD18 so neutrophils can cross the endothelium. Finally, CARD9 is required for NF- κ B activation and chemokines release. **David Wraith** is interested in the antigen-specific immunotherapy and has performed some clinical testing of antigen-specific immunotherapy with T-cell epitopes to study Grave's disease. After taking the drug ATX-GD-459, 75% of patients were euthyroid and they maintained their condition for three months, after the end of phase 1 clinical trial.

Symposium S.D1 - MICROBIOME, METABOLITES AND THE IMMUNE SYSTEM

–*Estibaliz Glaría*

Kevin Maloy explained the role of autophagy in chronic intestinal inflammation, focusing on its importance on specific cell populations. Notably, in a murine model of chronic colitis, autophagy protected intestinal epithelial cells from apoptosis induced by TNF α and contributed to the control of effector T cells by regulatory T cells. **Oliver Pabst** described the mechanisms regulating antibody responses to maintain host-microbiota interaction. Both humans and mice studies revealed that secretory immunoglobulin A clones triggered by microbiota can broadly bind phylogenetically unrelated bacteria. Importantly, adaptation to changes in microbiota occurred mainly by somatic hypermutation in pre-existing intestinal B cell clones. **Janneke Samsom** demonstrated the importance of IL-10 in the regulation of intestinal responses to luminal antigens. In mice, the lack of IL-10 resulted in intestinal pathology due to the release of IL-1 β by antigen presenting cells and subsequent IFN γ secretion by CD4⁺ T cells.

Symposium S.A2 - IMMUNE DEVELOPING AND AGING FROM THE CRADLE TO THE GRAVE –*Amparo Martínez Pérez*

First speaker, **Hans-Reimer Rodewald**, talked about their studies in adult HSC fate, using a genetic barcoding termed Polylox they have developed. Polylox is an artificial Cre-driven random DNA barcode generator, which allowed them to track HSC single cell-clones through immune system and blood and therefore analysed several parameters as fate, kinetics or differentiation rates. Lately, **Kai Kisand** guided us through their studies in cytokine and antibody signatures of two monogenic autoimmunity diseases: APECED (autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy) and SLE (systemic lupus erythematosus). Besides, she emphasized the potential diagnostic and therapeutic utility of patient derived autoantibodies. Finally, **Arne Akbar** discussed strategies for enhancing immunity during ageing in both humans and mice by blocking the function of proteins called sestrins. Sestrins inhibit functioning in senescent T cells. He showed that inhibition of sestrins can boost immune function and he suggested its application in vaccination of elderly people.

Symposium S.D2 - INNATE LYMPHOID CELLS (ILC) – A TOPIC OF DEBATE

–*Clara San Bartolomé*

Daniel Davis (“Using super-resolution microscopy to watch NK cells kill”) explained through using super-resolution microscopy that NK cell biology is at a different stage and the immune synapse leads to medically useful ideas like the synaptic actin remodeling is druggable to augment secretion and shedding CD16 leads to disassembly of the immune synapse and boosts serial engagement of target cells. **James di Santo** (“Perspectives of innate lymphoid differentiation”) explained the identification of human ILCP using a robust OP9 stromal cell-based assay and they identify and characterize human ILCPs as a subset of Lin[–]CD7⁺CD127⁺CD117⁺ cells in cord and adult blood as well as fetal liver and several adult tissues and that they are capable of producing a range of cytokines (IFN- γ , IL-13, IL-17A, IL-22). **Chiara Romagnani** (“Specificity of NK cells”) explained the function of receptor NKG2C in response to Cytomegalovirus infection and showed that these specifically recognize cells infected by CMV strains bearing gpUL40 mutated peptides and the peptide recognition drive the expansion of NKG2C⁺ NK cells in HCMV[–] donors and induce the expression of transcriptional and epigenetic signatures typical of NKG2C⁺ expansions from HCMV⁺ individuals.

Symposium S.B2 - ENVIRONMENTAL REGULATION ANTI-TUMOUR RESPONSES

–*Sergi Casadó Llombart*

Vicenzo Bronte explained the role of c-FLIP in myeloid-derived suppressor cells. He showed that c-FLIP is a target of chemotherapeutic agents. He also showed that c-FLIP has a key role in MDSCs not only because its anti-apoptotic effects, but also because it interacts with NF- κ B p50 and promotes the expression of anti-inflammatory genes. **Angel Porgador** talked about a novel innate, splice variant-based immune checkpoint consisting of PCNA (expressed on the membrane of cancer cells) and NKp44 (expressed on NKs). Porgador also communicated the generation of a new antibody against PCNA, which can block this checkpoint. **Karin de Visser** talked about systemic inflammation in breast cancer patients. She explained that p53 mutations in cancer cells can induce secretion of Wnt, which promotes IL-1 β production in macrophages. This in turn activates the generation of neutrophils, which can infiltrate tissues. There, they inhibit CD8⁺ cells, promoting metastasis.

Symposium S.A3- IMMUNOMONITORING AND BIOMARKERS –*Olivia Estévez*

Peter Openshaw from the Imperial College of London (UK), talked about respiratory viral infection and the need of new correlates of protection for mucosal vaccines (“Protective Immunity against respiratory viruses”). His work with human volunteers suggested higher levels of serum IgG memory B cells, nasal IgA, CD8 specific cells in BAL samples and a higher CD8⁺ T resident memory correlated with reduced disease severity as potential correlates of protection. Professor **Marianne van Hage**, from the Karolinska Institutet (Stockholm), talked about the necessity of new safe and effective allergy treatments (“Biomarkers for allergen-specific immunotherapy”). She suggested component-resolved diagnosis (molecular allergen diagnosis) as a tool for the identification of the correct allergen source in the design of the proper allergen-specific immunotherapy (AIT). Proposed biomarkers for monitoring the effects of the treatment include the decrease of allergen-specific IgE and increased levels of allergen-specific IgG4. **Tomas Kalina**, from Charles University, talked about the CD Maps and his collaboration in the creation of an interactive web resource, named HCDM that will contain the complete information of all CD markers (“CD Maps – antigen density measurements of CD1-CD100 on human lymphocytes and thymocytes”). This website addresses the CD markers expression in different cell populations and in T cell in different stages of their development.

Tuesday, September 4

Symposium S.B3 - THE YIN AND YANG OF T-CELL REGULATION

–*Marta Relaño Orasio*

This symposium gave by three amazing speakers started with **Alexander Scheffold** talking about antigen-specific regulatory T cells in human immunity. He explained that there are high frequencies of exogenous antigens in human blood that induce selectively Treg that mediate tolerance to those antigens. After him, Jannie Borst emphasized that CD4⁺ T cells play an important role during the initiation of CD8⁺ T cell responses and that CD27 agonists that mimic this help signal, in combination with PD1 blockade may enhance CTL activity improving immunotherapy efficacy. Finally, Lucy Walker explained how Treg are able to capture costimulatory ligands from APCs by CTLA-4 mediated trans-endocytosis *in vivo* and concluded that understanding how CTLA-4 based regulation works in the steady state will allow better therapeutic manipulation of this pathway.

KEYNOTE LECTURE KL.05 - “Regulatory T-cell homeostasis”

–*José Ignacio Fernández Velasco*

Adrian Liston highlighted the importance of the correct homeostasis of regulatory T (Treg) cells, which counterbalance against adaptive immune responses by competing with conventional T cells for IL-2 and other homeostatic mediators. Using an experimental familial hemophagocytic lymphohistiocytosis mouse model, in which perforin-deficient mice were inoculated with lymphocytic choriomeningitis virus, he observed that Treg cells were practically disappeared with lower IL-2 secretion by CD4 T cells and increased IL-2 consumption by activated CD8⁺ T cells. Dr. Liston concluded that hyperinflammation caused by excessive CD8⁺ T cell activation rewires the IL-2 homeostatic network away from Treg cell maintenance and toward feed-forward fatal inflammation.

KEYNOTE LECTURE KL.06- “T-cell metabolism” –*Raquel Ibáñez*

Quiescent and activated T cells have distinct metabolic phenotypes: oxidative phosphorylation vs. aerobic glycolysis. Cells normally use aerobic glycolysis for proliferation. T effector (T_E) cells do not require aerobic glycolysis for proliferation or survival, but T-cells need to engage glycolysis for optimal effector function. In addition, aerobic glycolysis can regulate the preferential translation of IFN- γ mRNA. T-cells must adapt to change in nutrients, metabolites and O_2 *in vivo*. Glucose competition between T cells and tumor cells can dictate cancer progression in the tumor microenvironment or rather regression of the tumor. Transduced tumors expressing genes that promote glycolysis acquire more glucose *in vivo* than their tumor infiltrating CD8⁺ (TILS) and escape from immune surveillance. T_E cells use glycolysis for optimal IFN- γ production. However, simple re-exposure to glucose does not fully restore cytokine production in TILS. Suppression of IFN- γ production due to nutrient restriction is initially reversible, but becomes irreversible over time. Glucose transporter-1 (Glut-1) is initially upregulated on glucose-restricted cells, but its expression goes down over time. So, T-cells become hyporesponsive over time when glucose is restricted. Nutrient competition causes less glucose uptake by T cells and, consequently, a drop in acetyl-CoA. Acetate is a critical carbon source that supports tumor cell growth and survival in nutrient-limiting conditions. Importantly, acetate promotes histone acetylation, increasing chromatin accessibility in glucose-restricted T-cells and enhances effector function of glucose-restricted cells. Treating TILS with acetate *ex vivo* promotes IFN- γ production and acetate treatment *in vivo* promotes IFN- γ production by CD8⁺ T cells. The enhancing effect of acetate on IFN- γ production is dependent on Acyl-CoA synthetase (ACSS) enzymes. Accordingly, ACSS expression in the cells during cancer promotes effector function and protective immunity.

To sum up, **Erika Pearce** showed that T-cells under prolonged glucose-restriction lose Glut-1 over time, and their hyporesponsiveness correlates with diminished glucose uptake, histone acetylation, chromatin accessibility, effector gene transcription, and cytokine production. Hyporesponsive T cells can be epigenetically remodeled and reactivated by acetate, suggesting that pathways regulating the use of alternative substrates could be therapeutically targeted to impact T cell function during cancer.

Symposium S.D3 - NOVEL APPROACHES TO VACCINOLOGY –*Pablo Guasp Baratech*

In this symposium **Sarah Gilbert** talked about replication-deficient viral vectors for emerging pathogen vaccines and showed how simian adenovirus vectors can be used for vaccination against Zaire ebolavirus and Rift valley fever, and combined with Poxvirus vector in a heterologous Two-Dose vaccine elicit long-lasting cellular immunity to Influenza Virus A. **Florian Klein** talked about broadly neutralizing antibodies (bnAb) targeting HIV-1 and showed how the combination of 3-5 bnAb, such as 3BNC117 and 10-1074, reduces the viral load and prevent viral escape in HIV⁺ mice. **Antonio Lanzavecchia** talked about therapeutic monoclonal antibodies and showed the importance of the allele VH (3-30) and position W52, as well as LAIR1 insertions, in antibodies that recognize *P. falciparum*.

Symposium S.C3 – TRANSPLANTATION –*Raquel de la Varga Martínez*

Piotr Trzonkowski talked about the treating autoimmune diseases with T regulatory cells (Tregs). Tregs cultured as advanced therapy medical product are considered a viable option in tolerance induction treatment in the clinic. **Mette Hazenberg** talked about the innate lymphoid cells (ILC) and microbioma in graft-versus-host disease (GvHD). Recipient ILC protect tissues against radiation and chemotherapy induced damage, preventing mucositis and GvHD. Fecal microbiota transplantation can improve microbial diversity and is effective in patients with steroid-refractory/steroid –dependent GvHD, but the exact mechanism remains to be elucidated. Finally, **Chara Bonini et al.** observed a molecular signature of exhaustion (PD1, CTLA-4, 2B4

and TIM-3) in CD8⁺ T-cells infiltrating the bone marrow in acute myeloid leukemia (AML) patient relapsing after HLA-matched hematopoietic stem cell transplantation. Leukemia reactive T-cells are preferentially inhibited in relapsing patients, indicating a wide, though reversible, immunological dysfunction mediated by AML relapsing blasts.

Symposium S.C4 - MANIPULATION OF TOLERANCE –*Marta Español Rego*

Silvia Gregori work (“Engineered Dendritic Cells to re-establish Antigen-Specific Tolerance in T-cell Mediated Diseases”) focuses on therapy with DC-10 (IL-10 producing dendritic cells that promote Treg differentiation) and hLV-DC (lentivirus-mediated gene transfer to generate antigen-specific tolerogenic DC), showing promising results in murine models of GvHD and diabetes, respectively. Despite controversial data about Treg metabolism (some groups say it is activated while others say it is inhibited), **Benoit Salomon** group worked on the role of mTOR and AMPK in Treg functions (“The role of cell metabolism in Treg biology and function”). In a murine model mTOR deficient, he showed that mTOR plays a major role in Treg proliferation and migration and how mTOR deficiency in Treg leads to uncontrolled T cell activation. **Eva Martínez Caceres** group has developed an antigen-specific cell therapy based on autologous monocyte-derived tolDC with vitamin D3 loaded with a group of myelin peptides (vitD3-tolDC), to induce tolerance in MS patients (“Tolerogenic dendritic cells as a therapeutic strategy to induce tolerance in multiple sclerosis”). The *in vitro* results showed immune-regulatory activity of vitD3-tolDC, reducing lymphocyte proliferation and IFN- γ production and producing low levels of IL-10. Moreover, she presented pre-clinical results in animal models of MS that lead to initiate a Phase I/IIa clinical trial in patients with active MS.

Wednesday, September 5

EFIS President’s Symposium EP.01- T CELL IMMUNITY IN THE FRONT LINE

–*Juan Eduardo Molina Alcaide*

Donna Farber, Professor at University of California, Santa Barbara, presented her research about memory T cells as essential mediators of protective immunity (“Generation and maintenance of human resident memory T cells”). In this symposium Prof. Farber explained that her research group recognized different phenotypes of CD4⁺ and CD8⁺ resident memory T cells (TRMs) according to the human tissue in which they were located. They also investigated the role that these cells play in lung transplantation. They found a chimerism between donor and recipient TRMs which was confined to the allograft. Interestingly, the persistence of donor TRMs was found to be correlated with reduced primary graft dysfunction and acute rejection, while no correlation was found regarding bacteria or virus infections. She concluded that strategies to maintain donor TRM may be protective. **Percy Knolle**, from the University of München is specialized in the molecular and cellular mechanisms of organ-specific immune regulation, particularly in the liver. In this symposium he explained the role that TRMs play in livers infected by hepatitis B virus (HBV) (“Local regulation of immune responses and improving adaptative T cell immunity to overcome chronic infections”). His team attempted to combine the *TherVacB* vaccination with an induction of the immunocompetent liver cells to promote their proliferation, since experiments with mice did not achieve sufficiently precise results with the vaccination alone in cases of high rates of HBV replication. They found that the transcription factor *Foxo1* changes the function and phenotype of CD8⁺ activated TRMs in the liver. The upregulation of CXCR6 in CD8⁺ TRMs, which appears to facilitate the retention of the immune cells in the liver sinusoids is secondary to the inhibition of *Foxo1*. *In vivo* experiments with mice infected by adenovirus demonstrated that the inhibition of *Foxo1* completely eliminates the virus. Thus, the induction of the immunity in the liver may synergize the therapeutic vaccination. **Klaas van Gisbergen**, group leader at Sanquin Research, The Netherlands, talked about the differentiation

of tissue-resident memory T-cells (TRMs) in primary and secondary immune responses (“Differentiation of tissue-resident memory T-cells in primary and secondary immune responses”). TRMs are considered one of the most potent immunological weapons against reinfection. TRMs can be classified into circulating, resident and effector cells, according to their function, location and biomarkers they express. In previous studies, this group identified *hobit* as a transcription factor expressed in TRMs of the skin, gut and liver, but not in circulating TRMs. They studied several genes associated with the maintenance of the TRM populations in skin and gut and they found that *hobit* and *blimp-1* are essential and that they also regulate egress from tissues. Therefore, their findings indicate that *hobit* and *blimp-1* mediate a universal program of tissue-residency and that they could be valuable in order to develop novel tools to study TRMs.

Symposium S.B4 - T CELL ACTIVATION AND EXHAUSTION –*Beatriz Linillos*

This symposium started with **Ton Schumacher** talking about intrinsic capacity of T cells in human tumors to recognize tumor cells. He presented four different types of non-melanoma tumors, where the majority of the intra-tumoral CD8⁺ T cells are intrinsically unable to recognize autologous tumor. Also, the lack of intrinsic tumor reactivity cap the value of efforts to revert intratumoral T cell exhaustion. After him, **Sven Kracker**'s presentation was about activated PI3K δ syndrome, an immunodeficiency resulting from gain-of-function mutations in the gene encoding the catalytic subunit of PI3K. It is associated with increase of T cell senescence and patients have more risk of developing B-cell lymphoma. Clinical trials of selective PI3K δ inhibitors offer new prospects for APDS treatment. Finally, **Dietmar Zehn**, explained that T cell responses are maintained in chronic infections by a memory-like (Tcf1⁺) T cell population and they transfer an exhausted phenotype to secondary effector T cells.

Symposium S.C6 - INNATE CONTROL OF INFLAMMATION AND TISSUE REPAIR –*Paula Díaz Bulnes*

Alberto Mantovani explained the role of Tumor-associated macrophages (TAMs) in tumor progression and showed that macrophages are the connection between inflammation and tumor because it can promote tumor progression in different ways such as angiogenesis and metastasis. Moreover explain the function of IL-1R8 as a checkpoint in NK cells regulating anti-tumor and anti-viral activity. **Hans-Uwe Simon** described the extracellular DNA traps (neutrophils, eosinophils and basophils) and exposed that it represented an important element of the innate immune response. Their studies focus on the role of Optic Atrophy 1 (OPA1). They demonstrated that lack of OPA1 reduces the activity of mitochondrial electron transport complex 1 in neutrophils. **Pablo Pelegrín** exposed the importance of the mitochondrial failure in monocytes because immunocompromise the NLRP3 inflammasome in human sepsis. Their results showed that during sepsis, P2X7 receptor expression increases in monocytes and damage mitochondria contributing to the immunoparalysis of patients with abdominal origin sepsis.

Symposium S.E4 - CELL COMMUNICATION AND SIGNALING IN THE IMMUNE SYSTEM –*Laura Viñas*

Clotilde Thery talked about how exosomes and extracellular vesicles which are secreted by cells into their environment can act as intercellular messengers and can have a potential role in cancer treatment. **Tim Sparwasser** talked about the field of immunometabolism and how the molecular mechanisms are linked with metabolic cell changes. Specifically, they reported that the fatty acid synthesis regulated by ACC1 (acetyl-CoA carboxylase 1) is a crucial mechanism in T cells to fight against mycobacterial infection. Michael Dustin talked about the flexibility of the immune synapse and how the new techniques has forced us to rethink our assumptions and consider some radical new models related to T cell signalling and the immunological synapse.

KEYNOTE LECTURE KL.08 - "The maintenance and mobilization of resident immune memory cells" –*Daniel Álvarez de la Sierra*

Previously it had already been demonstrated that memory T cells specific for some pathogens are only found in bone marrow (Tokoyoda *et al.* 2009), and that their TCR repertoire is different from peripheral memory T cells (Okhrimenko *et al.* 2014). **Andrea Radbruch** showed that not only memory T cells from bone marrow are different from peripheral tissue resident cells, but this also applies to memory B cells. Apparently, these resident memory B cells are not maintained by homeostatic proliferation, as most of them are Ki-67 negative. These memory B cells are usually in close proximity to stromal cells, direct cell-cell interaction is necessary for memory B cell survival via PI3K signalling, which was demonstrated by *in vitro* co-culture experiments. He showed for BM memory T cells how they react upon activation, first forming "immune clusters" in the bone marrow, and then with the mobilization of specific memory cells to blood.



ECI2018 Logo designed by Barbara Biegl, www.biegl-graik.at



Premios “Constantes y Vitales” de la cadena de televisión La Sexta en colaboración con la fundación AXA a dos inmunólogos españoles en Investigación Biomédica

“Joven Talento 2017” a David Sancho y “Trayectoria científica 2018” a Francisco Sánchez-Madrid



Se ha dado la bonita paradoja de que, en dos años consecutivos -2017 y 2018- se ha premiado a dos de los investigadores más internacionales de la Inmunología en nuestro país. Y, además son maestro y alumno. Se trata de los Dres. Francisco Sánchez-Madrid (a la derecha) y David Sancho Madrid (a la izquierda).

FRANCISCO SÁNCHEZ-MADRID

Premio “Constantes y Vitales” 2018 de atresmedia a la “Trayectoria científica en Investigación Biomédica”

POR MIGUEL R. CAMPANERO



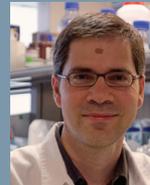
MIGUEL ÁNGEL DEL POZO



MARTA NIETO



DAVID SANCHO



MARÍA MITTELBRUNN



Además del indudable talento científico que ya se explica brevemente en la reseña en la página web de [atresmedia](#), queremos aprovechar estas líneas para destacar el indudable talento y grandeza humana de Paco, que ha creado una escuela de inmunólogos en España a través de su capacidad de supervisión constructiva, un tipo de supervisión que nos permitió sentirnos valorados y desarrollar al máximo nuestras iniciativas y aptitudes, y todo imbuido en una gran capacidad de trabajo, de lucha y de optimismo vital e ilusión contagiosas. Cada uno de los autores de esta reseña representamos una generación distinta de inmunólogos formados en diferentes épocas en su laboratorio, que continúa obteniendo en los últimos años sus picos de productividad y su mayor número de citas y siempre desafiando nuevos horizontes

El formato que hemos elegido es el de plantearnos una pregunta sobre Paco: ¿qué destacas de Paco como mentor? Por razones editoriales, la respuesta es concisa.

MIGUEL R. CAMPANERO fue estudiante predoctoral en el laboratorio de Paco entre 1988-1993

Conocí a Paco en 1986, cuando yo buscaba un laboratorio en el que conocer de primera mano la investigación en inmunología. La entrevista que mantuvimos fue bastante informal, en el cuarto que entonces se usaba para preparar y tomar el café, con otros miembros del Servicio de Inmunología del Hospital de la Princesa entrando y saliendo y participando ocasionalmente en la conversación. Me atrajeron enormemente los proyectos de investigación de los que me habló y me sorprendió lo fácil

que fue sentirse cómodo en esa primera entrevista. Creo que esa comodidad se debió a la cercanía que mostró y que creo que sigue mostrando con el personal que supervisa. Es posible que esa cercanía también fomentara la camaradería que había dentro del grupo. Otras características destacables de Paco eran su capacidad para motivarnos y su excelente disposición para discutir no solo las implicaciones de los resultados que obteníamos, sino también las propuestas que le hacíamos. De hecho, muchos doctorandos agradecíamos el margen que nos dejaba para desarrollar algunas de las iniciativas que le proponíamos. En su laboratorio descubrí que era posible divertirse investigando sin mermar por ello el rigor del trabajo bien planteado, ejecutado, presentado y discutido.

MIGUEL ÁNGEL DEL POZO fue residente de Inmunología y estudiante predoctoral en el laboratorio de Paco entre 1992 y 1998

Paco dirigió mi tesis entre 1992 y 1997. Desde el principio nos enseñaba que debíamos ser el principal motor de nuestro proyecto y nos estimulaba a ser creativos, a no tener miedo a tener ideas nuevas que, a ser posible, cambiaran un paradigma establecido. Paco sabía sacar lo mejor de sus aprendices; desde el primer año nos daba artículos para revisar, debíamos escribir nuestros propios artículos, nos enviaba a dar charlas en su nombre a congresos internacionales... A menudo decía que lo más



gratificante era ver cómo de su grupo salían nuevos líderes... Su legado es, de hecho, una legión de científicos, no solo inmunólogos, sino también biólogos celulares, neurocientíficos, reumatólogos, y oncólogos, entre otros. No es descabellado decir que su laboratorio es una verdadera fábrica de IP.

Estas son algunas de sus enseñanzas que nos han llevado a muchos al éxito profesional en nuestra carrera científica: creatividad, mente abierta, trabajo duro, lee toda la literatura, fuerte motivación, optimismo, entusiasmo, ambición razonable, generosidad con tu tiempo; ser crítico sobre todo con tu propio trabajo y dar siempre una valoración positiva al trabajo de otros; resistencia a la frustración; inteligencia para adaptarte a la personalidad de cada compañero; colaborar, trabajo en equipo, dar crédito a todos los involucrados, identificar el actor principal y los personajes secundarios en los proyectos; siempre mira hacia adelante, siempre piensa en positivo...; divertirse es compatible con el rigor y el trabajo duro; cambia de tema para el siguiente paso en tu carrera; busca siempre la excelencia, pero prepárate para el fracaso...; levántate rápidamente después de caer; celebra hasta los más pequeños logros, pero con las grandes publicaciones, ¡¡¡tira la casa por la ventana!!!; ser una buena persona dentro y fuera del laboratorio; las personas son siempre lo primero, antes que la ciencia o cualquier otra cosa.

MARTA NIETO fue residente de Inmunología y estudiante predoctoral en el laboratorio de Paco entre 1992 y 1998

En el tiempo que pasé bajo la supervisión de Paco durante mi doctorado, me fascinó la carga de trabajos interesantes y el flujo dinámico de ideas que surgían continuamente en su laboratorio y cómo se transformaban de manera eficiente en proyectos exitosos. En ese momento, el laboratorio estaba expandiendo su interés más allá del papel de las moléculas de adhesión durante la migración en el sistema inmunológico (Campanero, 1994. PMID: 7525599; Campanero, 1995; Díaz-González F, 1995. PMID: 7535797) al rol de la polaridad celular en la creación de dominios subcelulares especializados que agrupan estas moléculas (del Pozo *et al.*, 1997. PMID: 9128258; Nieto, 1997. PMID: 9207004). También se investigó el papel del citoesqueleto en estos procesos (revisado en Serrador *et al.*, 1999. PMID: 10354569). Es difícil hacer

una selección particular de los artículos más importantes. Nuestro grupo publicó un número importante de artículos relevantes, especialmente cuando se tuvo en cuenta que muchos de los proyectos requerían la incorporación de nuevos enfoques técnicos, tales como imágenes de lapso de tiempo *in vivo*, análisis de angiogénesis o microscopía confocal (Yáñez-Mó, 1998. PMID: 9566977). Fueron años muy productivos y Paco se aseguró de que cada uno de nosotros tuviera uno o dos proyectos individuales, equilibrando el riesgo y la viabilidad, y también colaboraciones más pequeñas con otros miembros de nuestro grupo u otros grupos. Este trabajo en equipo creó una dinámica de cosupervisión por los miembros del laboratorio más *senior*, por los que me sentí virtualmente adoptada. Cuando ahora disfruto en mi laboratorio de las discusiones apasionadas con mis estudiantes durante el almuerzo y en los pasillos, así como de su compromiso de cuidarse mutuamente, personal y científicamente, pienso que es muy probable que esto suceda en mi grupo por lo que aprendí de Paco: las habilidades de gestión y la pasión por su trabajo.

DAVID SANCHO fue residente de Inmunología y estudiante predoctoral en el laboratorio de Paco entre 1996 y 2004

Desde que conocí a Paco como estudiante universitario me hizo sentir confiado para hablar directamente, honestamente, sin jerarquías y haciéndome sentir que mis opiniones, mis ideas y mis propuestas siempre serían discutidas y que yo sería la fuerza motriz de mis proyectos. Paco sabe cómo desafiar la ambición científica y nos enseñaba a identificar la pregunta experimental crucial, moviéndote fuera de tu zona de confort pero sin llegar a ser estresante y manteniendo alta la motivación. Paco sigue transmitiendo ambición, resiliencia, optimismo y, sobre todo, una confianza que te da alas. Me hizo sentir que estaba liderando cada paso, bajo su consejo y supervisión. Eso me dio el conocimiento para aprender a ser un científico completo y la confianza para hacerlo solo. También nos motivó siempre a colaborar lo más posible dentro del grupo, que tenía un fantástico entorno de colaboración, y fuera del grupo. Paco siempre estuvo concentrado en fomentar nuestras habilidades para progresar e interactuar con otros científicos a nivel internacional. Como resultado, la mayoría de sus estudiantes de doctorado supervisados fueron a la investigación post-

doctoral a los mejores laboratorios en el extranjero. Paco, no solo es el inmunólogo más exitoso de España, sino que su principal mérito es que con su supervisión ha generado una comunidad de científicos muy exitosa que abarca varias disciplinas de la biomedicina.

MARÍA MITTELBRUNN fue estudiante predoctoral y también realizó una estancia postdoctoral en el laboratorio de Paco entre 2001 y 2013

Me gustaría destacar algunas de las cualidades que hacen de Paco un líder excepcional. En primer lugar, Paco es fabuloso fomentando la creatividad y la imaginación de su equipo, muestra confianza en la gente de su laboratorio, y no tiene ningún miedo para enfrentarse a nuevas ideas y nuevos retos. Durante el tiempo que estuve en el laboratorio, siempre sentí que me escuchaban y mi opinión era valorada, eso genera un gran ambiente y

favorece la creatividad del grupo. Incluso cuando yo era solo una estudiante de doctorado, Paco me alentó a escribir los artículos, ayudarlo con la tarea del revisor y discutir con él sus solicitudes de becas. Esta amplia formación en la tarea del investigador ha sido extremadamente útil durante mi carrera. Así, cuando abandonas el laboratorio de Paco, estás preparado para liderar un grupo, como se refleja en el gran número de discípulos de Paco que ahora son jefes de grupo. Como lo hizo conmigo, Paco se encarga de la carrera de todos sus estudiantes, les apoya con infinita generosidad, tanto en forma de consejos como de recursos. Por último, me gustaría destacar la fuerza, tenacidad y constancia que aprendí de Paco. Aunque ha publicado más de 400 artículos, siempre parece que el último era el único, y lucha y trabaja en él como si fuera el artículo más importante de su vida.

DAVID SANCHO

Premio “Constantes y Vitales” 2017 de atresmedia a “Joven Talento en Investigación Biomédica”

FRANCISCO SÁNCHEZ-MADRID



ÁFRICA GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ



David Sancho Madrid realizó la licenciatura en Biología en la Universidad de Murcia (Premio Nacional). Es doctor en Biología por la Universidad Autónoma de Madrid y Especialista en Inmunología (vía BIR) en el Hospital Universitario de la Princesa de Madrid. En su investigación de tesis doctoral descifra la función del receptor leucocitario CD69, como molécula inmunorreguladora en la respuesta inmune inflamatoria, mediante el desarrollo de modelos de enfermedad en los ratones deficientes para CD69. En paralelo, estudia las vías de señalización que controlan la polaridad celular durante los procesos de quimiotaxis y de la sinapsis inmunológica. Realizó un estancia postdoctoral en el London Research Institute (Cancer Research, Reino Unido), descu-

biendo un nuevo receptor tipo lectina C, que reconoce células necróticas, en las células dendríticas de ratón. Actualmente es jefe de Inmunología de la Fundación Centro Nacional de Investigaciones cardiovasculares Carlos III (CNIC) de Madrid.

David Sancho es un líder nato, rebotante de ideas, trabajador infatigable, e investigador excelente, siempre abierto y muy generoso en la discusión y colaboración científica. Es uno de los investigadores con mayor proyección en inmunología en nuestro país; así lo atestiguan sus numerosos artículos recientes, como autor sénior, en las revistas más prestigiosas como *Science*, *Nature Immunology*, *Immunity*, *Cell Reports*, *Nature communications*,



Entrega a **David Sancho Madrid**, en la III Edición de los premios "Constantes y Vitales" de la cadena de televisión la Sexta en colaboración con la fundación AXA, del Premio a Joven Talento en Investigación Biomédica, el 26 octubre 2017 (Fuente: CNIC).

J. Clin. Invest., etc. Obtuvo en el año 2010 un European Starting Grant, y en el 2016 un European Consolidator Grant. Ha abierto nuevos senderos y líneas de investigación en el conocimiento de las respuestas inmunes innatas y su conexión con las respuestas de memoria y aprendizaje de subpoblaciones linfoides en tejidos y su función en la respuesta frente a infecciones o tumores. El grupo que dirige David Sancho también aborda el papel del condicionamiento metabólico y microambiental en las respuestas innatas; con el fin de poder controlar y manipular la inmunidad y la tolerancia, así como su potencial para el desarrollo de nuevas vacunas y estrategias de inmunoterapia. Todos estos logros ilustran la excelencia científica y la enorme dedicación y compromiso de David Sancho con la investigación de alta calidad en inmunología. Como vocal de la SEI ha marcado una impronta de vitalidad y de ideas continuas en la sociedad. Ha sido el promotor de numerosas iniciativas para darle a la SEI mayor dinamismo y participación de gente joven. Creó la figura de los "embajadores de la SEI" y llevó a cabo la transformación de la revista *Inmunología*, siendo el coordinador general hasta el 2017, haciéndola más

moderna, ágil, atractiva y cercana a muchos públicos con el formato *online*.

También en el aspecto divulgativo, llevó a cabo la distribución del libro de inmunología *Los misterios del Sistema Inmune* para niños, haciéndolo llegar por toda la geografía española, en un intento de apoyar la formación en esta disciplina empezando desde los más pequeños. En 2017 fue nombrado representante de la SEI en la IUIS y coordinador de una comisión para elaborar lista de expertos. Inició la idea del mecenazgo en la SEI, con una convocatoria de 10 proyectos de investigación para recaudar fondos para la investigación en inmunología. Su implicación en la SEI como vocal ha sido máxima, como lo es en todas las actividades que realiza.

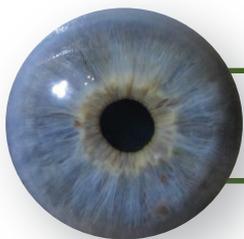
Por su cabeza bullen miles de ideas e iniciativas de forma constante y vital. Por tanto, no podía haber mejor candidato para conseguir el premio "**Constantes y Vitales**" de la cadena de televisión la Sexta en colaboración con la fundación AXA en la categoría de **Joven Talento en Investigación Biomédica**.

Enhorabuena, David, por este premio tan merecido.



David Sancho con sus colaboradores





Visión del autor

Coordinadores de sección: PEDRO RODA y DAVID SANCHO

Cell Metab. pii: S1550-4131(18)30568-0
1 octubre 2018

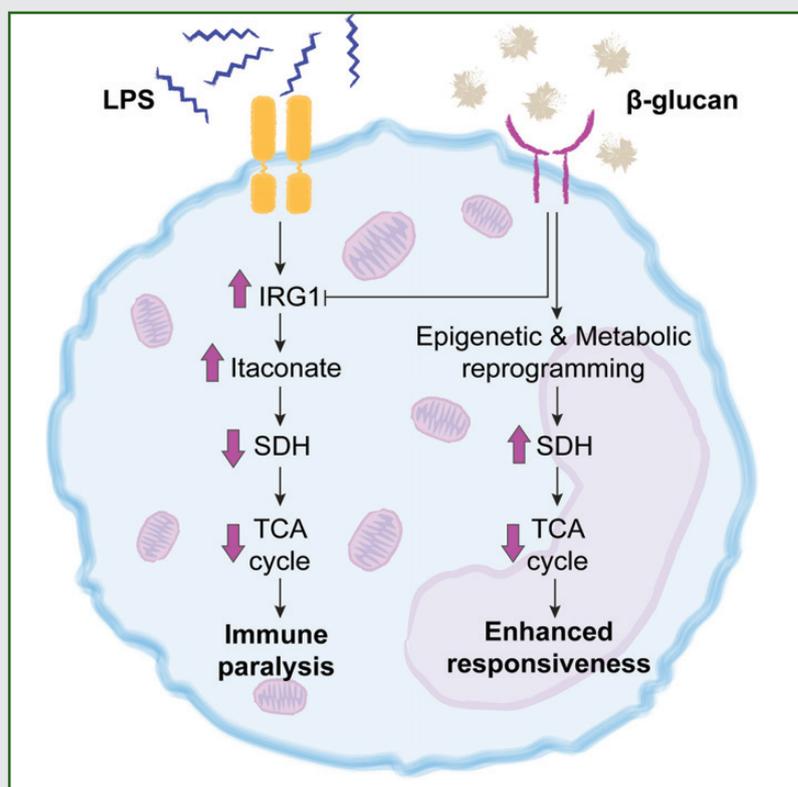
The itaconate pathway is a central regulatory node linking innate immune tolerance and trained immunity

Jorge Domínguez-Andrés, Boris Novakovic, Yang Li, Brendon P. Scicluna, Mark S. Gresnigt, Rob J. W. Arts, Marije Oosting, Simone J. C. F. M. Moorlag, Laszlo A. Groh, Jelle Zwaag, Rebecca M. Koch, Rob ter Horst, Leo A. B. Joosten, Cisca Wijmenga, Alessandro Michelucci, Tom van der Poll, Matthijs Kox, Peter Pickkers, Vinod Kumar, Henk Stunnenberg & Mihai G. Netea.

La sepsis, o septicemia, es un cuadro clínico que tiene lugar durante infecciones graves y que está caracterizado por una desregulación de las respuestas inflamatorias. La inducción de tolerancia inmunológica debería actuar como un mecanismo regulatorio para contrarrestar el daño tisular producido en respuesta a la descontrolada respuesta inflamatoria. Sin embargo, una inducción excesiva o demasiado duradera de los mecanismos de tolerancia puede causar el desarrollo de parálisis inmunológica, que cursa con una elevada susceptibilidad al desarrollo de infecciones secundarias.

El itaconato es un metabolito endógeno derivado del ciclo de Krebs mitocondrial. En este artículo describimos cómo el itaconato producido tras la exposición a endotoxinas juega un papel clave en la inducción de inmunosupresión en modelos humanos de sepsis. La exposición de monocitos humanos a endotoxinas induce una fuerte acetilación de histonas alrededor del gen *IRG1*, responsable de la síntesis de itaconato, lo que conlleva un fuerte aumento de la expresión de dicho gen. Esta regulación a nivel epigenético desencadena la síntesis de grandes cantidades de itaconato, contribuyendo al desarrollo de tolerancia inmunológica.

Sin embargo, esta situación es reversible. El tratamiento con β -glucano, un componente de



Reproducido de *Cell Metab.* pii: S1550-4131(18)30568-0, Domínguez-Andrés *et al.* (© Elsevier Inc., 2018), con permiso de Elsevier.

la pared celular de determinados hongos, contrarresta este efecto al preservar el correcto funcionamiento del ciclo de Krebs. El análisis de la relación entre la expresión de genes con actividad proinflamatoria y la presencia de *loci* genómicos que contribuyen a la variación de los niveles de expresión de ARNm o proteínas (eQTLs: *expression Quantitative Trait Loci*) nos permitió identificar una serie de polimorfismos relacionados con la expresión de citoquinas en el contexto de *trained immunity* o tolerancia frente a infecciones bacterianas.

Estos datos permiten concluir al eje IRG1-itaconato-SDH como un nodo regulatorio fundamental en la inducción de *trained immunity* y tolerancia inmunológica, siendo este eje una potencial diana terapéutica en el contexto de sepsis, y probablemente en otros escenarios clínicos asociados con una alteración de las respuestas del sistema inmunológico innato.



Por JORGE DOMÍNGUEZ ANDRÉS. Departamento de Medicina Interna, Radboud University Nijmegen Medical Centre. Nimega, Holanda.



Intratumoral immunotherapy with XCL1 and sFlt3L encoded in recombinant Semliki Forest Virus-derived vectors fosters dendritic cell-mediated T cell cross-priming

Alfonso R. Sánchez-Paulete, Álvaro Teijeira, José I. Quetglas, María E. Rodríguez-Ruiz, Álvaro Sánchez-Arráez, Sara Labiano, Iñaki Etxeberria, Arantza Azpilikueta, Elixabet Bolaños, María Cristina Ballesteros-Briones, Noelia Casares, Sergio A. Quezada, Pedro Berraondo, David Sancho, Cristian Smerdou & Ignacio Melero.

En este trabajo hemos diseñado un vector viral para administración intratumoral, con el objetivo de favorecer la actividad de células dendríticas convencionales tipo 1 dependientes de BATF3 (cDC1) en el microambiente tumoral. Para ello, hemos clonado transgenes codificando XCL1 y Flt3L, respectivamente una quimioquina y un factor de crecimiento para estas células, en un vector basado en el virus del Bosque de Semliki (SFV-XCL1-Flt3L, o SFV-XF). La administración intratumoral de SFV-XF condujo a retrasos en el crecimiento de tumores subcutáneos derivados de MC38, B16-OVA u otras líneas tumorales. Esta actividad mostró efectos aditivos con anticuerpos inmunoestimulantes como anti-CD137, anti-PD-1 o anti-CTLA4. El éxito de la estrategia terapéutica requirió de las células cDC1, el sistema de interferón de tipo I y los linfocitos T CD8⁺ del ratón; sin embargo, tras eliminar linfocitos T CD4⁺ o células NK1.1, observamos que el efecto antitumoral de SFV-XF se vio, de hecho, incrementado en el caso de anti-CD4, consiguiéndose retrasar también tumores a distancia no inyectados con el virus. La depleción o inhibición selectiva de células T CD4⁺ reguladoras no recapituló este fenómeno: observamos que se produjo un incremento en la infiltración y activación de células T CD8⁺ y CD4⁺ en tumo-

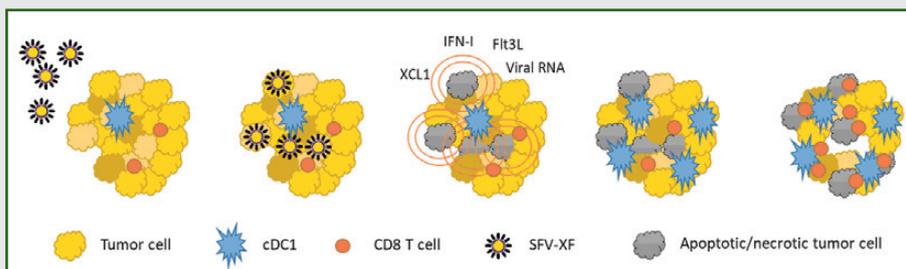


Figura elaborada por los autores

Cancer Res. 78: 6643-6654. 1 diciembre 2018

res B16-OVA tratados con SFV-XF. Esta infiltración de células CD8⁺, entre ellas células específicas de antígeno tumoral (SIINFEKL), se vio, a su vez, potenciada por la depleción de células CD4⁺, también de nuevo en tumores a distancia.

Finalmente, observamos un incremento en el infiltrado de células dendríticas convencionales en los tumores B16-OVA tratados con SFV-XF, y en los ganglios drenantes de tumores MC38 tratados con SFV-XF. En conclusión, en este trabajo demostramos que vectores virales para administración intratumoral basados en SFV y codificando factores de atracción y diferenciación de células dendríticas cDC1 son seguros y tienen capacidad antitumoral, potencialmente sinérgica con otras estrategias de inmunoterapia.



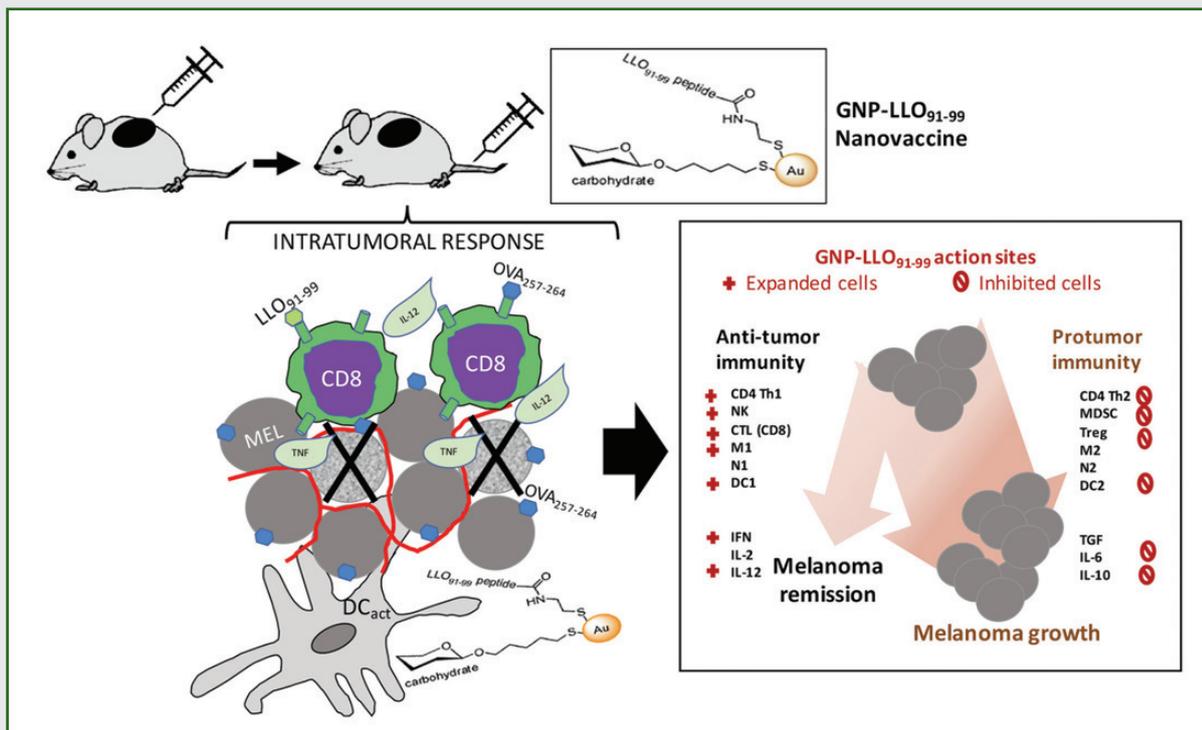
Por ALFONSO R. SÁNCHEZ-PAULETE, Departamento de Inmunología, Centro de Investigación Médica Aplicada, Universidad de Navarra (UNAV). Pamplona, Navarra.



Pre-clinical development of Listeria-based nanovaccines as immunotherapies for solid tumours: insights from melanoma

Héctor Terán-Navarro, Ricardo Calderón-González, David Salcines-Cuevas, Isabel García, Marco Marradi, Javier Freire, Erwan Salmon, Mar Portillo-González, Elisabet Frande-Cabanes, Almudena García-Castaño, Virginia Martínez Callejo, Javier Gómez-Román, Raquel Tobes, Fernando Rivera, Sonsoles Yáñez-Díaz & Carmen Álvarez-Domínguez.

El melanoma cutáneo (MEL) es un tumor sólido muy común que se origina de los melanocitos y está muy infiltrado de células inmunes. Por ello, ha sido el primer tumor en tratarse con las nuevas inmunoterapias dirigidas a los puntos de control inmunológico, anti-CTLA-4 y anti-PD-1. Sin embargo, el número de pacientes con melanoma metastásico que responden a estas inmunoterapias es bajo, pueden aparecer inmunorresistencias y el beneficio para la supervivencia del paciente es limitado. La toxina bacteriana, listeriolisina O (LLO), del patógeno bacteriano oportunista *Listeria monocytogenes* (*Listeria*) ha sido propuesta como terapia antitumoral e incluso hay terapias antitumorales de vacunas de *Listeria* en fases preclínicas con formas atenuadas de este patógeno. Sin embargo, los casos recientes de pacientes oncológicos tratados con estas cepas atenuadas que han reproducido la enfermedad infecciosa, cuestionan su seguridad. Nuestro grupo describió que el péptido 91-99 de la toxina LLO tenía capacidad antitumoral y diseñamos vacunas sintéticas con nanopartículas de oro (nanovacunas GNP-LLO₉₁₋₉₉) y dos ligandos, un carbohidrato que las dirige a las células dendríticas y este péptido LLO₉₁₋₉₉, que las dirige al tumor. Las nanovacunas GNP-LLO₉₁₋₉₉ son una nueva inmunoterapia para el melanoma con acción dual. Por un lado, son inmunoestimuladoras del melanoma al activar la acción antitumoral Th1 de las células dendríticas (IFN, TNF e IL-12) que expande a los linfocitos T citotóxicos específicos de *Listeria* y del melanoma. Por otro lado, inducen la muerte celular programada de los tumores; logrando un balance positivo de la respuesta inmunológica hacia la remisión del melanoma frente a las respuestas protumorales. Estas nanovacunas GNP-LLO₉₁₋₉₉ previenen la formación de metástasis, causan la regresión tumoral y aumentan la supervivencia, bien como monoterapia o como terapia de combinación con anticuerpos anti-CTLA-4 y anti-PD-1, potenciando y ampliando su efecto para una remisión total del melanoma y una supervivencia libre de enfermedad.



Acción de las nanovacunas basadas en *Listeria* como terapia antitumoral. Las nanovacunas GNP-LLO91-99 son nanopartículas de oro conjugadas a dos ligandos, un carbohidrato y el péptido ₉₁₋₉₉ de la toxina bacteriana, listeriolisina O (LLO). Cuando se inoculan en ratones trasplantados con un tumor sólido como el melanoma, se dirigen, por un lado, a las células dendríticas y activan la respuesta Th1 antitumoral induciendo altos niveles de TNF- α e IL-12 y activan a los linfocitos T citotóxicos específicos del péptido LLO91-99 y expanden la señal de los linfocitos T citotóxicos específicos del melanoma, aquí representados por el péptido OVA₂₅₇₋₂₆₄, dado que los melanomas fueron transfectados con el cDNA de la ovalbúmina (OVA) y todas las células de melanoma trasplantadas expresan epítomos OVA capaces de unirse a MHC de clase I. Y, por otro lado, también se dirigen a los melanomas induciendo una apoptosis inmunogénica. La acción conjunta de los linfocitos T citotóxicos específicos del melanoma, las citocinas antitumorales (i.e., TNF- α e IL-12) y la apoptosis inmunogénica provocan la remisión total del melanoma y aumentan la supervivencia de los ratones; por lo que se puede considerar una inmunoterapia antitumoral (Figura elaborada por los autores).



Por HÉCTOR TERÁN-NAVARRO y RICARDO CALDERÓN-GONZÁLEZ. Instituto de Investigación Marqués de Valdecilla (IDIVAL). Santander (Cantabria).



Secreted IgD amplifies humoral T helper 2 cell responses by binding basophils via galectin-9 and CD44

Meimei Shan, Jorge Carrillo, Ada Yeste, Cindy Gutzeit, Daniel Segura-Garzón, A. Cooper Walland, Marc Pybus, Emilie K. Grasset, John R. Yeiser, Dean B. Matthews, Willem van de Veen, Laura Comerma, Bing He, Tadech Boonpiyathad, Haekyung Lee, Julià Blanco, Lisa C. Osborne, Mark C. Siracusa, Mübecel Akdis, David Artis, Saurabh Mehandru, Hugh A. Sampson, M. Cecilia Berin, Kang Chen & Andrea Cerutti.

IgD is an evolutionarily conserved antibody, but its function has remained mysterious ever since its discovery in 1965. Together with the IgM molecule, IgD is mostly known as an antigen receptor that allows B cells to initiate protective antibody responses against specific antigens. However, IgD is also released by some plasma cells in the circulation and nasopharyngeal secretions as a secreted antibody. Our work analyzed the effector function of this IgD.

We found that IgD-secreting plasma cells are abundant in nasopharyngeal cavities. Accordingly, secreted IgD recognizes aerodigestive antigens, including food proteins. We also found that secreted IgD interacts with myeloid effector cells such as basophils and mast cells through a mechanism involving the CD44-binding protein galectin-9. This soluble lectin serves as a molecular bridge between secreted IgD and the CD44 receptor, which functions as an immunomodulatory molecule.

Engagement of basophil-bound IgD by antigen increases basophil production of IL-4, IL-5 and IL-13, which enhance the formation of IL-4-expressing T follicular helper cells in lymphoid follicles. These professional B cell-activating CD4⁺ T cells in turn enhance protective Th2-type IgG1 (in mice), IgG4 (in humans) and IgE responses, which enhance antigen clearance. Finally, engagement of basophil-bound IgD by antigen mitigates basophil degranulation induced by IgE co-ligation, thereby dampening inflammatory allergic reactions to some common environmental antigens, including food proteins.

In summary, our data reveal that secreted IgD amplifies a protective brand of humoral Th2 responses. By showing that IgD attenuates IgE-mediated basophil and mast cell degranulation, our findings indicate that IgD responses could be harnessed to improve the management of severe allergic disorders. One possible strategy could involve the use of recombinant broadly neutralizing IgD antibodies capable to recognize a large spectrum of allergens.

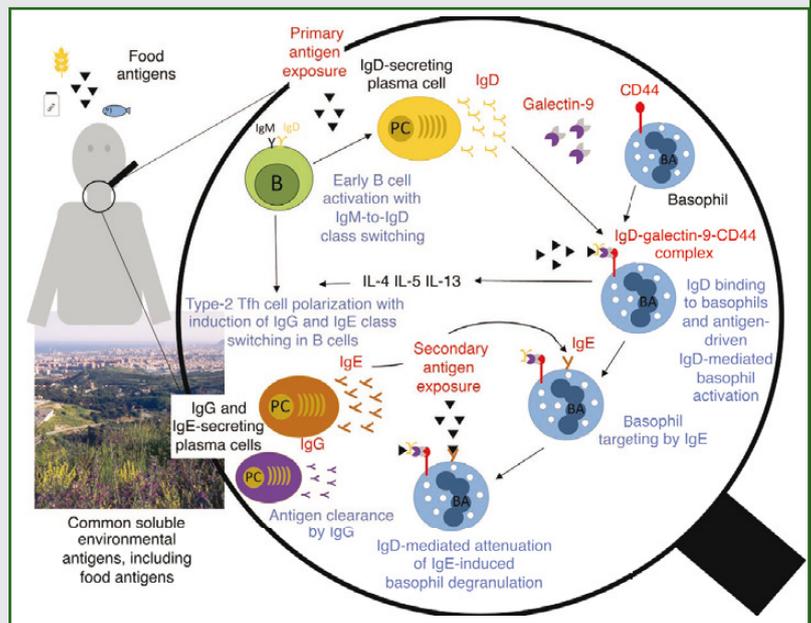


Figura elaborada por los autores



Por JORGE CARRILLO, Institut de Recerca de la SIDA-IrsiCaixa e Institut de Recerca Germans Trias i Pujol. Badalona, Barcelona. ANDREA CERUTTI, Department of Medicine, Immunology Institute, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, NY, EE.UU.; Mucosal Immunology Studies Team (MIST), National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health, Bethesda, MD, EE.UU.; Program for Inflammatory and Cardiovascular Disorders, Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques (IMM), Barcelona. Catalan Institute for Research and Advanced Studies (ICREA), Barcelona.



MT4-MMP deficiency increases patrolling monocyte recruitment to early lesions and accelerates atherosclerosis

Cristina Clemente, Cristina Rius, Laura Alonso-Herranz, Mara Martín-Alonso, Ángela Pollán, Emilio Camafeita, Fernando Martínez, Rubén A. Mota, Vanessa Núñez, Cristina Rodríguez, Motoharu Seiki, José Martínez-González, Vicente Andrés, Mercedes Ricote & Alicia G. Arroyo.

Los monocitos patrulleros son una población de monocitos circulantes encargados de rastrear el endotelio de los vasos, detectando daño celular y partículas extrañas, siendo considerados, por tanto, monocitos “protectores” y no inflamatorios. Se sabe que la interacción de dichos monocitos con el endotelio vascular inflamado es dependiente del receptor de adhesión celular integrina $\alpha M\beta 2$, pero no estaban bien definidas las acciones que estos monocitos podían desempeñar en el tejido inflamado.

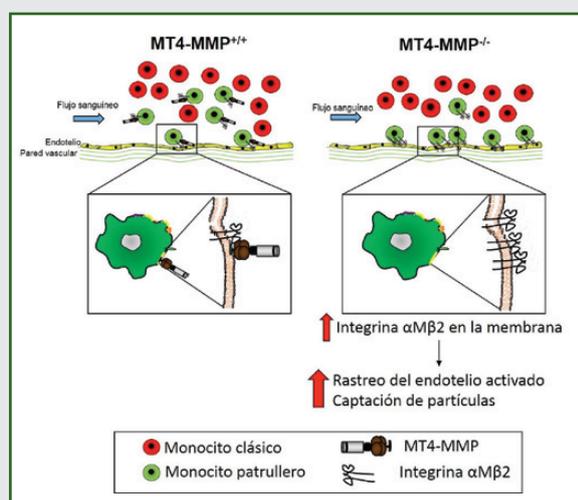
En nuestro trabajo hemos identificado a la proteasa de matriz MT4-MMP (MMP17) como un nuevo regulador de la función de los monocitos patrulleros. La MT4-MMP se encuentra unida a la membrana celular mediante un puente GPI (glicosilfosfatidilinositol), lo que le confiere una localización en balsas lipídicas de la membrana, junto con otras proteínas propias de dichos dominios. Mediante modelado de proteínas *in silico* y ensayos de digestión *in vitro*, en nuestro estudio describimos que MT4-MMP es capaz de procesar la cadena αM de la integrina $\alpha M\beta 2$ (también conocida como CD11b, Mac-1 o CR3). De este modo, en ausencia de MT4-MMP, había una acumulación de la integrina $\alpha M\beta 2$ en la membrana de los monocitos patrulleros así como de los macrófagos inflamatorios derivados de los mismos.

Mediante microscopía intravital en ratón, observamos que los monocitos patrulleros deficientes en MT4-MMP rastreaban en mayor número el endotelio inflamado del músculo cremáster comparados con los de genotipo silvestre; y esta acumulación era dependiente de la integrina $\alpha M\beta 2$. Además dichos monocitos patrulleros que carecían de MT4-MMP se reclutaban más hacia el endotelio de la pared aórtica en los estadios incipientes de un modelo de aterosclerosis, enfermedad inflamatoria crónica de los vasos, lo que daba lugar a la acumulación de macrófagos que expresaban el factor de transcripción MafB y su diana AIM/CD5L.

De forma interesante, pudimos observar también que los macrófagos inflamatorios derivados de monocitos deficientes en MT4-MMP captaban partículas extrañas, en concreto LDL modificadas, de forma más eficiente. Esto producía una mayor acumulación de lípidos en la pared aórtica durante el desarrollo de la aterosclerosis y, en consecuencia, una aceleración de la enfermedad.

Por ello concluimos que, en ausencia de MT4-MMP, los monocitos patrulleros circulantes rastrean más eficientemente el endotelio inflamado y, tras su reclutamiento, dan lugar a macrófagos con una mayor capacidad fagocítica en el foco inflamatorio.

Dado que la actividad de rastreo y captación de partículas de los monocitos patrulleros circulantes puede ser beneficiosa en enfermedades tales como metástasis pulmonares, alzhéimer e infecciones, nuestro estudio abre nuevas vías terapéuticas encaminadas a aumentar la capacidad natural de dichos monocitos en estas patologías.



En ausencia de MT4-MMP los monocitos patrulleros muestran una acumulación de la integrina $\alpha M\beta 2$ en la membrana, lo que provoca un incremento de su actividad de rastreo sobre el endotelio inflamado y, probablemente, de la captación de partículas extrañas (Figura aportada por la autora).



Por CRISTINA CLEMENTE. Matrix Metalloproteinases in Angiogenesis and Inflammation Group. Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares Carlos III (CNIC). Madrid.



Inhibiting inflammation with myeloid cell-specific nanobiologics promotes organ transplant acceptance

Mounia S. Braza, Mandy M. T. van Leent, Marnix Lameijer, Brenda L. Sánchez-Gaytán, Rob J.W. Arts, Carlos Pérez-Medina, Patricia Conde, Mercedes R. García, María González-Pérez, Manisha Brahmachary, Francois Fay, Ewelina Kluza, Susanne Kossatz, Regine J. Dress, Fadi Salem, Alexander Rialdi, Thomas Reiner, Peter Boros, Gustav J. Strijkers, Claudia C. Calcagno, Florent Ginhoux, Ivan Marazzi, Esther Lutgens, Gerry A. F. Nicolaes, Christian Weber, Filip K. Swirski, Matthias Nahrendorf, Edward A. Fisher, Raphaël Duivenvoorden, Zahi A. Fayad, Mihai G. Netea, Willem J. M. Mulder & Jordi Ochoaño.

Immunity 49: 819-828.e6
8 octubre 2018

Nanotechnology is revolutionizing the way some medical conditions are treated by favoring the development of new therapies. Using an experimental organ transplant model, a team of researchers at the Icahn School of Medicine at Mount Sinai identified a new mechanistic target associated with transplant rejection and developed a nanotherapy that induces long-term transplant acceptance.

Researchers at the Icahn School of Medicine at Mount Sinai in New York have designed a nanotherapy that targets myeloid cells and induces indefinite allograft survival of transplanted organs. The result of this study led by scientists Jordi Ochoaño and Willem Mulder is published this month in *Immunity* and represents a potential clinical treatment for transplant patients, as this novel nanotherapeutic approach eliminates the need for continuous immunosuppressive drug usage, which prevents successful long-term transplant outcomes due to their toxicity and side effects.

The authors developed a nanoimmunotherapy based on high-density lipoprotein (HDL) nanobiologics by encapsulating the mTOR inhibitor rapamycin in a corona of natural phospholipids and apolipoprotein A-I (apoA-I). The resulting nanobiologics target myeloid cell precursors in the bone marrow and prevents their activation. Consequently, the therapeutic effects of these nanobiologics persist over time, avoiding the need for continuous treatment. This therapeutic approach represents a major advancement in the field as there are no clinical treatments that specifically target myeloid cells *in vivo*.

The authors also identify trained immunity as a novel immunogenic mechanism associated with transplant rejection. Trained immunity refers to non-permanent epigenetic reprogramming of macrophages that mediate increased inflammatory cytokine production

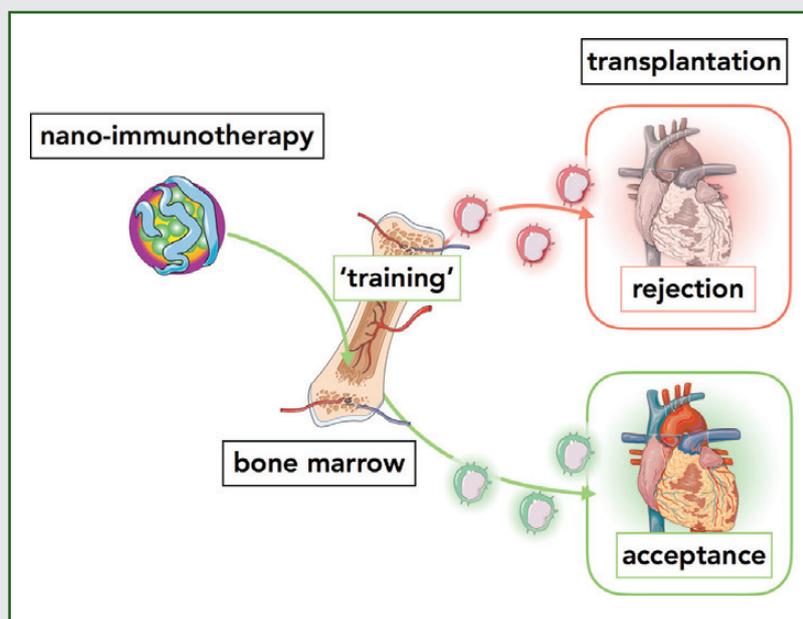


Figura elaborada por los autores

and consequently potent immune responses. The authors demonstrate that, under certain stimuli that occur during organ transplantation, trained macrophages that release the pro-inflammatory cytokines IL-1 β and TNF α promote organ rejection.

After nanobiologics synthesis and evaluation of their physicochemical characteristics, the multi-disciplinary team of researchers applied this novel nanoimmunotherapy in an experimental model of heart transplantation in mice achieving remarkable results. With only three doses of nanobiologics within the first week after transplantation, the majority of recipient mice accepted their allografts indefinitely without evidence of chronic rejection.



Por **JORDI OCHANDO**, Department of Oncological Sciences, y **WILLEM J. MULDER**, Translational and Molecular Imaging Institute (TMII), Icahn School of Medicine at Mount Sinai, Nueva York, EE. UU.



Utilidad de los autoanticuerpos antinucleares en la consulta clínica: aspectos actuales

ÁLVARO PRADA

Sección de Inmunología
 Hospital Universitario Donostia
 San Sebastián (Guipúzcoa)

Introducción

La prevalencia de las enfermedades autoinmunes en la población general (3-5 %) pone de relieve la importancia de los autoanticuerpos como herramienta diagnóstica. En los últimos años se ha producido un aumento logarítmico en la descripción y conocimiento de nuevos autoanticuerpos en un amplio espectro de enfermedades, entre ellas las enfermedades reumáticas. Algunos autoanticuerpos han sido identificados como criterios diagnósticos para la clasificación de ciertas enfermedades por la American College of Rheumatology (ACR) y la European League Against Rheumatism (EULAR).

La presencia de autoanticuerpos es útil en el diagnóstico, clasificación, pronóstico, diagnóstico diferencial y tratamiento de las enfermedades reumáticas. En algunos pacientes, el intervalo de tiempo desde el comienzo de los síntomas hasta el diagnóstico definitivo puede ser de varios años. Cuando hay formas monosintomáticas, o formas frustradas de la enfermedad, la detección de los autoanticuerpos puede ser muy útil en el diagnóstico y pronóstico de la misma.

Sin embargo, en otras ocasiones se puede detectar la presencia de autoanticuerpos en pacientes sin síntomas de una enfermedad. Esto ocurre con cierta frecuencia en el caso de los anticuerpos antinucleares (ANA). En esta situación es muy habitual que los reumatólogos u otros especialistas nos pregunten: **¿Qué hacemos con este resultado?**

En nuestro laboratorio hemos querido valorar cuál era el porcentaje de nuestros posibles resultados “falsos positivos” en el *screening* de ANA. El método no es objetivo, pero hemos considerado como verdaderos positivos aquellos resultados positivos, provenientes de la consulta de Reumatología, en el que los diagnósticos clínicos estaban incluidos en la parte titulada “*Systemic Autoimmune Diseases—Syndromes, Diagnostic Criteria, Symptoms*” del libro *Autoantibodies in Systemic Autoimmune Diseases*^[1].

En nuestro laboratorio, el resultado ha sido del 16,5 % de las determinaciones de ANA.

Para responder a la pregunta “¿Qué hacemos con este resultado?”, podemos actuar después de conocer el resultado, o previamente a que se produzca la petición. Entre las acciones para responder a esta pregunta estarían:

1.- Confirmar el resultado

Si repetimos el análisis de la muestra del paciente (se debe hacer en un periodo de tiempo de tres a seis meses) y el nuevo resultado es negativo, el resultado definitivo es negativo y ya no es necesario realizar ningún otro análisis. Si los anticuerpos desaparecen, puede deberse a una estimulación de linfocitos B policlonales en el curso de una infección. Este fenómeno se produce en artritis limitadas en el tiempo en pacientes con infecciones víricas con producción de anticuerpos limitada en el tiempo.

2.- Modificando y estratificando el título *cut-off* de *screening* de los ANA

En los últimos tiempos se han producido avances tecnológicos en los laboratorios. Se han incorporado nuevas tecnologías y es necesaria una nueva valoración del título de *screening* de ANA con el que se está trabajando. Del mismo modo sería conveniente una estratificación de los títulos de ANA según las edades de los pacientes.

3.- Incorporación de avances tecnológicos

Se han incorporado a los laboratorios importantes avances tecnológicos en las técnicas de *screening* de ANA por inmunofluorescencia (IFI). Se han desarrollado nuevos sistemas informáticos para la lectura e interpretación de los ANA que varían en el *software*, tinción del DNA, sustratos, tiempo de *run*, tipos de patrón que reconocen, etc.

Hoy en día, con la experiencia acumulada en breve espacio de tiempo, podemos considerar las ventajas que presentan^[2]:

- Superan los inconvenientes de la IFI al mejorar la estandarización
- Mejoran el control de calidad de los laboratorios
- Permiten el almacén de imágenes
- Disminuyen la variabilidad interlaboratorio e intralaboratorio.
- Manteniendo la dilución de **screening**, pueden establecer un *cut-off* de intensidad que mejora la especificidad. Las solicitudes de *screening* ANA no es sólo una solicitud de inmunólogos y reumatólogos, y esto ha disminuido la probabilidad pretest y postest. Se debería tener una preferencia por aumentar la especificidad al establecer el *cut-off*.
- Proponen un resultado que debe ser validado por un experto
- No reemplazan la evaluación humana en cualquier paso de la técnica.

4.- Identificación de anticuerpos (Ac) anti-DFS70

El DFS70/LEDGFp75 es una proteína que se presenta en respuesta al estrés, la radiación ultravioleta, exposición a peróxido de hidrógeno, alcohol, etc. Se sugiere que tiene un papel relevante en el sida, cáncer e inflamación, con función protectora frente al estrés.

En los últimos 15 años, diferentes grupos de investigadores han documentado la presencia de Ac anti-DFS70.

La conclusión de los diversos estudios es que la presencia de anticuerpos anti-DFS70, sin ninguna espe-

cificidad de ANA asociada, se debe considerar como un resultado no patológico. No obstante, la discusión sobre los anticuerpos anti-DFS70 seguirá existiendo. Con la evidencia de los resultados de los anticuerpos anti-DFS70, muchos laboratorios los han ido incluyendo en sus algoritmos diagnósticos de los ANA

5.- Medicina de laboratorio

Hoy en día los profesionales de laboratorio no deben realizar “Técnicas de laboratorio” sino que deben evolucionar hacia la **Medicina de laboratorio**.

La simplificación de los procedimientos analíticos, la automatización, y la informatización permiten a los facultativos de laboratorio una mayor dedicación a la realización de protocolos diagnósticos, atender consultas de los clínicos y generar información según las necesidades de estos. La atención al paciente es transversal y el profesional del laboratorio debe participar en la definición de protocolos y procedimientos, además de demostrar una sensibilización y preocuparse de una correcta utilización de los recursos de laboratorio.

La elevada solicitud de ANA en la práctica clínica en EE. UU. ha llevado a que el Colegio Americano de Reumatología los considere como un integrante del selecto grupo “*Top five things to avoid*”. Así mismo, hace una serie de recomendaciones entre las que cabe citar: no estudiar las especificidades de ANA si los ANA son negativos (con excepción de Jo-1 y Ro); no realizar un estudio amplio de las especificidades cuando no van a aportar nada previamente; y, en cuanto a los médicos de Atención Primaria, recomienda no solicitar estudio de ANA en pacientes con síntomas inespecíficos como fatiga, mialgias o fibromialgia^[3].

La autoinmunidad y los procesos autoinmunes están en auge en diferentes especialidades clínicas, y en muchos protocolos se ha incluido la determinación de los ANA –acertadamente o no es otra discusión–, para descartar la presencia de enfermedad autoinmune. Este *overuse* de los tests de laboratorio es un problema en medicina, donde se estima que el 21 % se solicitan inadecuadamente.

Conclusiones

- 1.- Los resultados falsos positivos de ANA son una preocupación importante en el laboratorio; pueden llegar a alrededor del 16 %, pero es un porcentaje aproximado. Este problema afecta al prestigio de las pruebas y al de los propios laboratorios.

Clínica	Técnica	Positivos (%)
Cistitis Intersticial	IFI WB	9
Dermatitis atópica (DA)	IFI WB ELISA	16 - 38
DA + Cataratas	IFI WB ELISA	100
Alopecia areata	IFI WB ELISA	19,8
Vogt Koyanagi Harada	ELISA	66,7
Behcet	ELISA	34,4
Asma	IFI WB	16
ANA+	IFI	3,8 – 7,8

Figura elaborada por Alvaro Prada

- 2.- La mayoría de los ANA falsos positivos se presenta en las titulaciones más bajas. La estratificación de los títulos de *screening* y, sobre todo, las nuevas tecnologías, pueden ser determinantes para evitar la subjetividad de las técnicas de IFI para determinación de ANA. Los anticuerpos anti-DFS70 pueden tener más impacto en los casos de falsos positivos con títulos altos.
- 3.- Sería deseable y necesario alcanzar un nivel de consenso con recomendaciones para la práctica clínica y que sirva de respaldo a la actuación profesional de los facultativos.

REFERENCIAS

¹ Conrad, K. *et al.* (2015). Part II: "Systemic Autoimmune Diseases—Syndromes, Diagnostic Criteria, Symptoms", pp 234-337 en vol. 2 de *Autoantibodies in systemic autoimmune diseases. A diagnostic reference* (3ª edición). Pabst Science Publishers. Lengerich, Alemania.

² Infantino, M. *et al.* (2016). "The burden of the variability introduced by the HEP-2 assay kit and the CAD system in ANA indirect immunofluorescence test". *Immunol. Res.* **65**: 345-354.

³ Yazdany, J. (2013). "Choosing Wisely: The American College of Rheumatology's Top 5 List of Things Physicians and Patients Should Question". *Arthritis Care Res.* (Hoboken). **65**: 329-339.



T 2018

A

L

L

E

R

E

S

de Autoinmunidad

Anticuerpos anti-nucleosomas y otras especificidades nucleares

Introducción

Los anticuerpos (Ac) anti-nucleosomas (anti-NUC) reconocen diferentes epítomos expuestos en componentes de la cromatina, como son las histonas, el DNA de doble cadena (dsDNA) y los epítomos conformacionales que resultan de la interacción de histonas y dsDNA. En los años 80 se describieron los Ac que reconocen específicamente el nucleosoma intacto pero no sus componentes individuales. Más tarde, el nucleosoma se postuló como el inmunógeno iniciador de la respuesta inmune frente a los componentes de la cromatina^[1]. Actualmente, son numerosos los estudios que subrayan el valor de los Ac anti-NUC en el diagnóstico del lupus eritematoso sistémico (LES)^[2-3], aunque no están incluidos en los criterios de clasificación de LES (SLICC 2012) y no han desplazado a los Ac anti-dsDNA en la práctica clínica. En cualquier caso, son poco demandados por los servicios clínicos.

Participantes y objetivos

Participaron 36 laboratorios de Autoinmunidad pertenecientes al Grupo Español de Autoinmu-

BEATRIZ RODRÍGUEZ-BAYONA¹, RAQUEL DE LA VARGA², ISABEL SERRANO³ y CARMEN RODRÍGUEZ²

¹Área de Inmunología. Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Juan Ramón Jiménez (HURJ). Huelva

²Servicio de Inmunología. UGC Hematología, Inmunología y Genética

³Sección de Reumatología, UGC de Cirugía Ortopédica, Traumatología y Reumatología

Hospital Universitario Puerta del Mar (HUPM). Cádiz

BEATRIZ RODRÍGUEZ-BAYONA y CARMEN RODRÍGUEZ han participado por igual en la organización del Taller y en la elaboración del artículo

nidad (GEAI) de la Sociedad Española de Inmunología. El objetivo se centró en analizar el grado de acuerdo en la emisión de resultados para Ac anti-NUC y otras especificidades nucleares.

Pacientes, materiales y métodos

Se envió una encuesta previa, para conocer el modo de trabajo y la opinión de los participantes sobre el valor clínico de los Ac anti-NUC. Posteriormente, se distribuyeron muestras de suero de siete pacientes acompañadas de una breve historia clínica: seis pacientes provenían del Hospital U. Puerta del Mar (Cádiz) y uno procedía del Hospital San Pedro de Alcántara (Cáceres). Todos los pacientes incluidos en el estudio firmaron un consentimiento informado. Los datos clínicos de los pacientes se resumen en la [Figura 1](#).

Se solicitó a los participantes la determinación de Ac anti-NUC, antinucleares (ANA), anti-dsDNA, anti-ENA (del inglés, *extractable nuclear antigens*) y anti-histonas. La inmunofluorescencia indirecta (IFI) fue el método mayoritario para la determinación de ANA (células

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
LES	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
Edad	33	44	65	42	31	68	53
Sexo	M	M	M	M	H	M	M
Nefritis	Tipo IV	Tipo V	NO	NO	Tipo II	NO	NO
Cort	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ		SÍ
IS	SÍ	NO	SÍ	NO	NO		SÍ
Clínica	A/Aftas	A/C	A/S	A	C/TEP		AHA/SAF
Otros				BIOLOGIC	SINTROM	S SJÖGREN	SINTROM

Figura 1. Datos de interés clínico de los pacientes (S1 a S7). Cort: corticoides; IS: inmunosupresores; A: articular; C: cutánea; S: serositis; TEP: tromboembolismo pulmonar; AHA: anemia hemolítica autoinmune; SAF: síndrome antifosfolípido (Figura elaborada por las autoras)

SUERO	ANA	TÍTULO	PATRÓN	ds-DNA	NUC	HIS	ENA
S1	POS	ALTO	AC-1 AC-1+AC-19	POS	POS (VARIABLE)	VARIABLE	SSA+RIB-P
S2	POS	MEDIO/ ALTO	AC-1	NEG/BAJO	POS (VARIABLE)	NEG	Ro52
S3	POS	ALTO/ MEDIO	AC-1	NEG	NEG/BAJO	NEG	NEG
S4	POS	ALTO	AC-1	NEG Q (CLIFT P/N)	ALTO	NEG	SSA
S5	POS	ALTO/ MEDIO	AC-1 AC-1+AC-4	VARIABLE FEIA NEG	ALTO/ MEDIO	NEG	SSA+SSB
S6	POS	ALTO	AC-1	POS VARIABLE	ALTO/ MEDIO	NEG	SSA
S7	POS	ALTO/	AC-1	NEG/BAJO	MEDIO/ ALTO	ALTO/ MEDIO	NEG

Figura 2. Resumen de resultados del estudio de autoinmunidad. Q: Métodos cuantitativos; en rojo se señalan los resultados para los que no se alcanzó consenso; en verde los resultados sin consenso en el grado de positividad; en negro se muestran los parámetros en los que se alcanzó un consenso igual o superior al 75 % (Figura elaborada por las autoras).

Hep-2 o Hep-2000) y Ac anti-dsDNA (*Crithidia luciliae*; CLIFT: *Crithidia luciliae* Immunofluorescence Test). Los Ac anti-NUC, anti-ENA y anti-histonas se determinaron mayoritariamente mediante *immunoblot*. Otras técnicas empleadas fueron el fluoroenzimoanálisis (FEIA), enzimoanálisis (ELISA), tecnología multiplex, quimioluminiscencia (CLIA) y el radioinmunoanálisis (RIA). Los resultados de ANA se informaron como positivo/negativo y en los resultados positivos se detallaron título (bajo, medio, alto) y patrón según nomenclatura ICAP (*International Consensus of ANA Patterns*)^[4].

Se consideró que se alcanzaba el consenso en un resultado cuando era informado al menos por el 75 % de los participantes.

Para el análisis de la concordancia entre diferentes metodologías y entre diferentes determinaciones se calcularon los valores del índice kappa correspondientes con el programa estadístico SPSS.

Resultados

La **figura 2** recoge el resumen de los resultados obtenidos. En color negro se representan los resultados para los que hubo consenso y en color rojo aquellos sin consenso. En color verde se muestran resultados con consenso en la valoración global pero con discrepancias en la semicuantificación o por alguno de los métodos. La **figura 3** muestra las imágenes de IFI en células Hep-2 y *Crithidia luciliae* de los sueros. En las **figuras 4 y 5** se expresan gráficamente los resultados de Ac anti-NUC y anti-dsDNA desglosados por metodología.

Como se observa, se alcanzó un alto grado de consenso para los resultados de Ac anti-NUC,

excepto para el suero S3, que fue valorado como negativo o positivo bajo. En cuanto a la valoración semicuantitativa, se observaron discrepancias para los sueros S1 y S2. Se evidenció una tendencia a positivos más altos por técnicas de cuantificación (ELISA y multiplex) en comparación con técnicas de *immunoblot* [Figura 4]. Dado que los resultados de Ac anti-NUC por ELISA fueron todos positivos, para analizar la concordancia entre los métodos más utilizados, *immunoblot* y ELISA, los resultados positivos bajos por ELISA se consideraron negativos y solo los resultados medios o altos se valoraron como positivos. Aplicando esta aproximación la concordancia

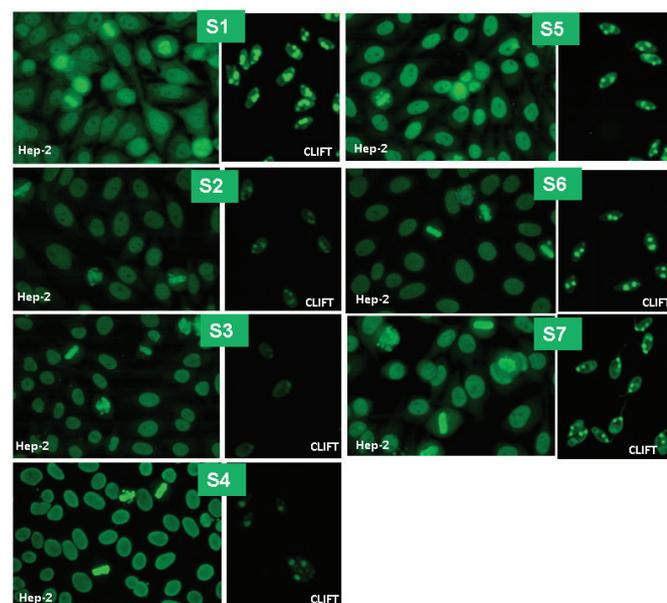


Figura 3. Imágenes de IFI en células Hep-2 y *Crithidia luciliae* de los sueros (S1 a S7). Hep-2 (izquierda; dilución 1/160; INOVA Diagnostics) y *Crithidia luciliae* (derecha; dilución 1/10; INOVA Diagnostics). CLIFT: *Crithidia luciliae* immunofluorescence test (Imagen obtenida en el laboratorio de Inmunología del HJR).

estimada fue escasa con tendencia a moderada (índice $kappa = 0,386$; $p = 0,004$).

También se alcanzó el consenso en la valoración de los ANA (positividad, título y patrón), anti-ENA y anti-histonas [Figura 2].

En relación con los Ac anti-dsDNA los resultados fueron variables tanto en la valoración global como por métodos [Figura 2 y Figura 5]. Sólo se alcanzó consenso en la valoración de las muestras S1 y S3. La técnica de ELISA tendía a dar valores más altos que el resto. Se encontró una concordancia escasa entre los métodos CLIFT y FEIA (índice $kappa = 0,306$; $p = 0,003$) y entre CLIFT y CLIA (índice $kappa = 0,278$; $p = 0,072$).

Por otro lado, no se encontró concordancia entre los resultados de Ac anti-dsDNA (FEIA y CLIA) y los de Ac anti-NUC (*inmunoblot*), lo que indica que no reconocen ni miden lo mismo. Sin embargo, sí se observó una concordancia, aunque escasa, entre los resultados de Ac anti-dsDNA por CLIFT y los Ac anti-NUC por *inmunoblot* (ín-

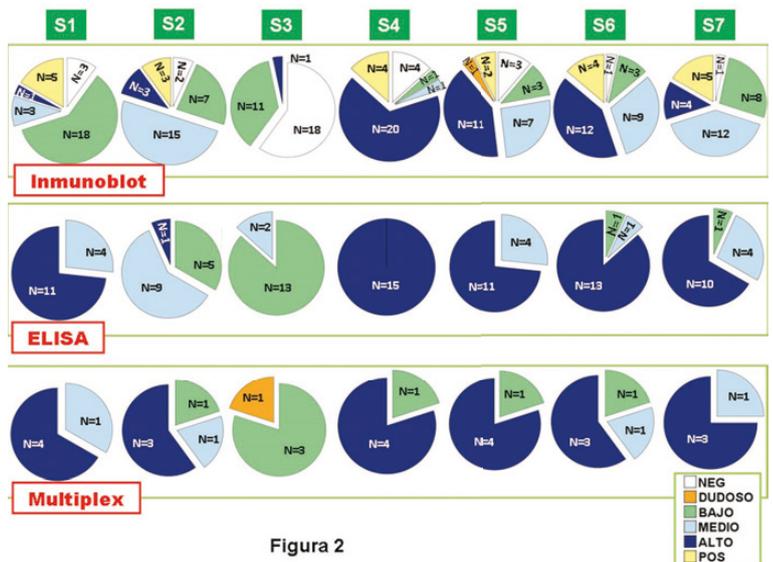


Figura 2

Figura 4. Resultados de Ac anti-NUC de los sueros S1 a S7 obtenidos por los distintos métodos. En la leyenda se muestran los códigos de colores para la interpretación de las gráficas. En amarillo se muestran los resultados informados como positivos sin especificar datos semicuantitativos (Figura elaborada por las autoras).

dice $kappa = 0,271$; $p = 0,001$). Este dato podría sugerir que los Ac detectados por ambas técnicas reconocen epítomos conformacionales que comparten cierta homología. En este sentido, aunque el dsDNA presente en el cinetoplasto de la *Crithidia* no está asociado a histonas, se sabe que presenta una disposición característica compuesta de minicírculos y maxicírculos asociados entre

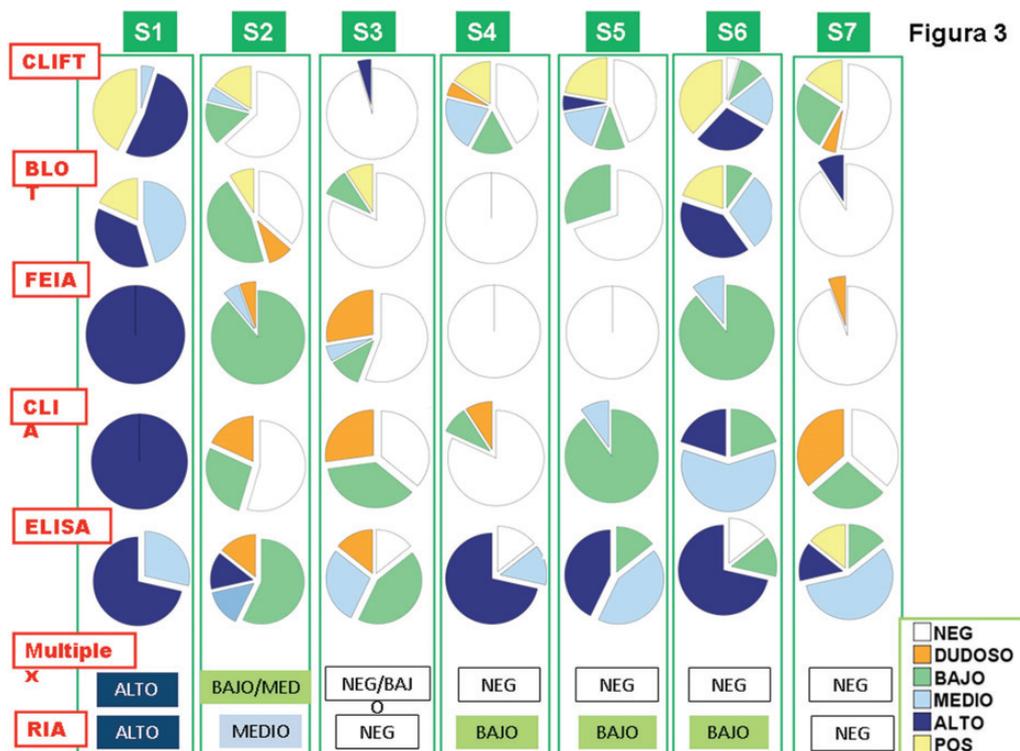


Figura 3

Figura 5. Resultados de Ac anti-dsDNA de los sueros S1 a S7. Se representan mediante diagramas de sectores los datos obtenidos por los siguientes métodos: CLIFT ($n = 18-20$ lab); BLOT ($n = 10-11$ lab); FEIA ($n = 16-18$ lab); CLIA ($n = 10-11$ lab); ELISA ($n = 7$ lab). Para las técnicas de multiplex ($n = 4$ lab) y RIA ($n = 1$ lab) se indica el resultado semicuantitativo sin mostrar la gráfica. En la leyenda se muestran los códigos de colores para la interpretación de las gráficas. En amarillo se muestran los resultados informados como positivos sin especificar datos semicuantitativos (Figura elaborada por las autoras).

sí a modo de cota de malla con proteínas básicas asociadas⁵.

El resto de las comparaciones no fueron valorables debido al escaso número de datos disponibles.

Conclusiones

- Los Ac anti-nucleosomas se determinan de forma habitual en la práctica clínica por la mayoría de los laboratorios de autoinmunidad en España. No obstante, son poco demandados desde los servicios clínicos peticionarios, probablemente por ser poco conocidos.
- Según los resultados obtenidos en el Taller, algunos pacientes con LES eran negativos para Ac anti-dsDNA pero positivos para Ac anti-NUC, lo que apoya la utilidad de los Ac anti-NUC en pacientes seronegativos.

- Se observó un elevado grado de consenso entre laboratorios en la valoración de Ac anti-NUC, ANA, anti-ENA y anti-histonas.
- Se obtuvo escaso grado de consenso y escasa concordancia entre métodos en la valoración de Ac anti-dsDNA, confirmando la ya conocida heterogeneidad y complejidad de los Ac anti-dsDNA.

Agradecimientos

Agradecemos a José María Lubián Romero de Agredano, enfermero de Inmunología del HUPM, por su inestimable colaboración en la extracción de muestras a los pacientes.

A Luis Fernández Pereira, Jefe de Inmunología del Hospital San Pedro de Alcántara, Cáceres, por aportar una de las muestras.

REFERENCIAS

- ¹ Koutouzov, S. et al. (2004). "Nucleosomes in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus". *Rheum. Dis. Clin. North Am.* **30**: 529-558.
- ² Bizzaro, N. et al. (2012). "Are anti-nucleosome antibodies a better diagnostic marker than anti-dsDNA antibodies for systemic lupus erythematosus? A systematic review and a study of metanalysis". *Autoimmun. Rev.* **12**: 97-106.
- ³ Li, T. et al. (2015). "Anti-nucleosome antibodies outperform traditional biomarkers as longitudinal indicators of disease activity

in systemic lupus erythematosus". *Rheumatology (Oxford)*. **54**: 449-457.

⁴ Chan, E. K. L. et al. (2015). "Report of the first international consensus on standardized nomenclature of antinuclear antibody HEp-2 cell patterns 2014-2015". *Front. Immunol.* **6**: 412.

⁵ Xu, C. y Ray, D. S. (1993). "Isolation of proteins associated with the kinetoplast-DNA networks in vivo". *PNAS* **90**: 1786-1789.

de Histocompatibilidad

Taller de Histocompatibilidad 2018 del GETHIT-SEI

La presentación de los resultados del Taller, que corrió a cargo de Dolores Planelles y Carlos Vilches, está disponible en la web de la SEI en la sección de Grupos y Talleres SEI.

DOLORES PLANELLES

Centro de Transfusión de la Comunidad Valenciana



El pasado 1 de junio, durante la Jornada SEI-2018 en el Hospital Clínico San Carlos (Madrid), se expusieron los resultados del Primer Taller de Casos Prácticos para selección de donante para trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) haploide. El objetivo de este taller fue realizar un ejercicio de aplicación de los diferentes modelos de predicción de alorreactividad mediada por células NK del donante y contrastar los criterios utilizados por cada centro para seleccionar el donante óptimo. Para ello se difundió entre los participantes una tabla Excel con un caso ficticio de un paciente con indicación de TPH y tres potenciales donantes familiares haploide.

Participantes y objetivos

Participaron catorce laboratorios de histocompatibilidad e inmunogenética. En la figura 1 se muestran los responsables y el comité organizador.

Descripción del caso y datos suministrados

Paciente varón de 61 años con leucemia mieloide aguda (LMA) y tres potenciales donantes HLA-haploide: una hermana (mujer de 59 años) y dos hijos, un varón de 29 años y una mujer de 40. En una tabla Excel se suministraron los tipajes HLA (HLA-A, -B, -C, DRB1, -DQB1

**Participantes 1^{er} Taller Casos Prácticos
sobre criterios de selección de donante en TPH haploidéntico**

Nº	LABORATORIO	RESPONSABLES
1	CENTRO DE TRANSFUSIÓN DE VALENCIA	Dolores Planelles (Organización)
2	H. U. PUERTA DE HIERRO - MADRID	Carlos Vilches (Organización)
3	H. U. MARQUES DE VALDECILLA - SANTANDER	J. Gonzalo Ocejó
4	H. U. REINA SOFÍA - CORDOBA	Rafael González Fernández
5	BANC DE SANG I TEIXITS - BARCELONA	José Luis Caro
6	H. U. Dr. NEGRÍN - GRAN CANARIA	Florentino Sánchez, Ruth López
7	H. GENERAL DE ALBACETE	Luis Alberto Marín
8	AGENCIA GALLEGA DE SANGRE, ÓRGANOS Y TEJIDOS	Adolfo Eiras, M ^a Luisa Abad
9	COMPLEJO HOSPITALARIO DE NAVARRA	Eva Brandés
10	H. C. U. VIRGEN DE LA ARRIXACA - MURCIA	José A. Campillo, Alfredo Minguela, Manuel Muro
11	H. U. SON ESPASES - MALLORCA	Vanesa Cunill, Natalia Martínez
12	H. DONOSTIA - SAN SEBASTIÁN	M ^a Dolores de Juan
13	CENTRO DE TRANSFUSIÓN DE MADRID	José L. Vicario, Antonio Balas, Miguel A. Moreno
14	H. U. VIRGEN DEL ROCÍO - SEVILLA	Francisca González Escribano (Organización)

Figura 1. Participantes del 1^{er} Taller de Casos Prácticos sobre criterios de selección de donante en TPH haploidéntico (Figura elaborada por la autora).

de alta resolución [véanse tipajes de clase I en la figura 2]) y *KIR* (presencia o ausencia de 16 genes *KIR*: 2DL1, 2DL2, 2DL3, 2DL4, 2DL5, 2DS1, 2DS2, 2DS3, 2DS4, 2DS5, 2DP1, 3DL1, 3DL2, 3DL3, 3DS1 y 3DP1 [véanse tipajes en la figura 3]) de todos los miembros del caso.

Objetivos

1. Aplicar los diferentes modelos de predicción de alorreactividad para cada donante^[1]:
 - a. Modelo de “incompatibilidad de ligandos”: alorreactividad si el donante tiene un ligando HLA ausente en el paciente (*missing-self*)^[2];
 - b. Modelo de “incompatibilidad receptor-ligando”: alorreactividad si el donante tiene un *iKIR* cuyo ligando HLA está ausente en el paciente (*missing-ligand*)^[3];
 - c. Modelo de “incompatibilidad entre los *KIR* de donante y paciente”: alorreactividad si el donante tiene un *iKIR* ausente en el paciente o viceversa^[4];

d. Modelo del “haplotipo *KIR*”: predicción por el contenido en genes *KIR* activadores del donante^[5].

2. Seleccionar el mejor donante en función de los criterios aplicados.

Resultados

1. Modelo de predicción ligando-ligando [Figura 2]:

Todos los laboratorios informaron este modelo valorando la incompatibilidad en HLA-C y – Bw4, y el uso de la calculadora de *mismatches* entre ligandos *KIR Ligand Calculator* fue generalizado, pero sólo 5 analizaron la incompatibilidad en HLA-A (A3/A11). El 100 % de los laboratorios concluyeron que la mejor donante era la hermana por incompatibilidad en C1 en dirección *GvH* (*Graft versus Host*), pero sólo 6 laboratorios consideraron también el factor “educación de las células NK del donante” para valorar su funcionalidad (células NK “licenciadas”), analizando en el donante la presencia del *iKIR* específico del HLA ausente en el paciente.

	Datos suministrados			Resultados del Taller							
	Tipaje HLA clase I			Grupos de ligandos ^[6]			Modelo Ligando-Ligando ^[2]		Model Receptor-Ligando ^[3]		
	HLA-A*	HLA-B*	HLA-C*	C1/C2	Bw4	A3/A11	Mismatch Ligando-ligando	NK licenciadas del donante	Mismatch Receptor-Ligando	NK licenciadas del donante	
Hermana	02:01 11:01	27:05 44:02	01:02 05:01	C1+C2	Bw4	A11	DteC1 ^{Pos} /A11 ^{Pos} vs PacC1 ^{Neg} /A11 ^{Neg}	2DL3 ^{Pos} /C1 ^{Pos} 3DL2 ^{Pos} /A11 ^{Pos}	Dte2DL3 ^{Pos} / PacC1 ^{Neg} Dte3DL2 ^{Pos} / PacA11 ^{Neg}	2DL3 ^{Pos} /C1 ^{Pos} 3DL2 ^{Pos} /A11 ^{Pos}	Sí
Hijo	02:01 02:01	44:02 51:01	02:02 05:01	C2+C2	Bw4	Neg	No	-	Dte2DL2 ^{Pos} / PacC1 ^{Neg} Dte3DL2 ^{Pos} / PacA11 ^{Neg}	2DL2 ^{Pos} /C1 ^{Neg} 3DL2 ^{Pos} /A11 ^{Neg}	No
Hija	02:01 02:01	44:02 51:01	02:02 05:01	C2+C2	Bw4	Neg	No	-	Dte2DL2 ^{Pos} / PacC1 ^{Neg} Dte3DL2 ^{Pos} / PacA11 ^{Neg}	2DL2 ^{Pos} /C1 ^{Neg} 3DL2 ^{Pos} /A11 ^{Neg}	No
Paciente	02:01 02:01	18:01 44:02	05:01 05:01	C2+C2	Bw4	Neg	<p>Figura 2. Tipaje HLA de clase I de los integrantes del caso práctico con los grupos de ligandos HLA de receptores KIR^[6]. Se muestran los resultados de los modelos de predicción por incompatibilidad "ligando-ligando" y "receptor-ligando". En ambos casos, se indican los donantes alorreactivos especificando los mismatches donante (Dte)-paciente (Pac) y la presencia de células "NK licenciadas" en el donante (Figura elaborada por la autora).</p>				

2. Modelo de predicción receptor-ligando [Figura 2]:

La participación en este modelo fue escasa (sólo 5 laboratorios) y no hubo consenso en su interpretación. Tres laboratorios concluyeron que los tres donantes eran alorreactivos y de estos, sólo dos indicaron que únicamente la hermana poseía células NK funcionales o "licenciadas". El cuarto laboratorio concluyó que sólo la hermana presentaba incompatibilidad según este modelo, y el quinto laboratorio indicó que haría el estudio por análisis del porcentaje de subpoblaciones de células NK alorreactivas con el receptor KIR cuyo ligando está ausente en el paciente (poblaciones KIR2DL2/2L3^{Pos} y KIR3DL2^{Pos}), datos de subpoblaciones no suministrados en el caso práctico.

3. Modelo de "incompatibilidad entre los iKIR de donante y paciente" [Figura 3]:

Sólo 4 laboratorios informaron este modelo, valorando alorreactividad cuando el donante tiene un iKIR ausente en el paciente o viceversa. Todos concluyeron que sólo los hijos presentaban incompatibilidad en iKIR: 3 mismatches con respecto a la hija y uno con respecto al hijo.

4. Modelo del "haplotipo KIR" [Figura 3]:

El 100 % de los laboratorios informó este modelo y la utilización de la calculadora Donor KIR B-content group calculator fue generalizada, clasificando el contenido KIR B del donante en las tres categorías: best, better, neutral. Todos los laboratorios concluyeron que, según este modelo, la mejor donante era la hija (best). Ocho de los 13 laboratorios informaron también del contenido en genes KIR B en la parte centromérica y telomérica y todos concluyeron que los hijos eran mejores donantes (B/x) que la hermana (AA).

Conclusiones

1. Respecto a los modelos aplicados para selección de donante:

El modelo de clasificación del grado de idoneidad del donante (best/better/neutral) en función de su contenido en genes KIR B es el más homogéneamente aplicado y con unanimidad de interpretación. Aunque el consenso en el resultado interpretativo del modelo de incompatibilidad de ligandos también fue del 100 %, la aplicación correcta del modelo considerando la "educación" de las células NK fue minoritaria.

ISIRIF

	Datos suministrados		Resultados del Taller				
	Genes <i>KIR</i> presentes*		Modelo <i>KIR-KIR</i> ^[4]	Modelo del Haplotipo <i>KIR</i> ^[5]			
	Cen	Tel	Mismatch iKIR	Haplotipos <i>KIR</i>	Genotipo <i>KIR</i>	Score	Idoneidad
Hermana	2DL3 2DP1 2DL1	3DL1 2DS4	-	CenAA_TelAA	AA	0	Neutral
Hijo	2DS2 2DL2 2DL3 2DP1 2DL1	3DL1 2DS4	2DL2 (<i>GvH</i>)	CenAB_TelAA	B/x	1	Neutral
Hija	2DS2 2DL2	3DL1 2DS4	2DL1 (<i>HvG</i>) 2DL2 (<i>GvH</i>) 2DL3 (<i>HvG</i>)	CenBB_TelAA	B/x	2	Best
Paciente**	2DL3 2DP1 2DL1	3DL1 2DS4	<p>Figura 3. Tipaje <i>KIR</i> de los integrantes del caso práctico con los genes <i>KIR</i> presentes en la parte centromérica (Cen) y telomérica (Tel) (*: se omiten los genes <i>framework</i>). Se muestran los resultados de los modelos de predicción por incompatibilidad "iKIR-iKIR" (se indican los donantes alorreactivos especificando los mismatches <i>GvH</i> y <i>HvG</i>) y contenido en genes <i>KIR</i> B. **En la figura se indica el tipaje <i>KIR</i> ficticio del paciente; el tipaje <i>KIR</i> real fue: Cen2DS2,2DL2,2DL3,2DP1,2DL1; Tel 3DL1,2DS4 (Figura elaborada por la autora).</p>				

2. Respecto al criterio de selección del donante:

Se comprobó que la idoneidad del donante depende del modelo aplicado. De hecho, la mayoría de laboratorios seleccionaron dos donantes óptimos y, en general, uno correspondió al resultante de aplicar los modelos basados en ligandos HLA (ligando-ligando y receptor-ligando) –y en este caso la hermana fue considerada la mejor donante–, y el otro correspondió al resultante de aplicar los modelos basados en el genotipaje *KIR* (contenido en genes *KIR* y *mismatch KIR-KIR*) –y en este caso la hija fue considerada la mejor–. Sólo tres laboratorios se decantaron por un único donante: uno seleccionó a la hija (por el genotipo *KIR*) y los otros dos al hijo (por edad, sexo y genotipo *KIR*).

3. Como dato anecdótico, sólo un laboratorio comprobó la herencia familiar de los haplotipos *KIR*, detectando que el tipaje *KIR* suministrado del paciente era incompatible con la paternidad biológica de la hija (paciente CenAA-TelAA vs hija CenBB-TelAA). Ello fue debido a que, aunque el supuesto se basaba en un caso real, el tipaje *KIR* suministrado del paciente era ficticio (los datos mostrados en la figura 3 corresponden al tipaje *KIR* ficticio del paciente, con el que todos los laboratorios realizaron el ejercicio; en la leyenda se indica el tipaje real del paciente, realizado con posterioridad por el laboratorio organizador).

REFERENCIAS

- 1 Pannelles, D. (2017). "Interacción KIR-HLA en trasplante haploidéntico de progenitores hematopoyéticos". *Inmunología* **36**: 20-22.
- 2 Ruggeri, L. et al. (2002). "Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants". *Science* **295**: 2097-2100.
- 3 Leung, W. et al. (2004). "Determinants of antileukemia effects of allogeneic NK cells". *J. Immunol.* **172**: 644-650.
- 4 Gagne, K. et al. (2002). "Relevance of KIR gene polymorphisms in bone marrow transplantation outcome". *Hum. Immunol.* **63**: 271-280.
- 5 Cooley, S. et al. (2010). "Donor selection for natural killer cell receptor genes leads to superior survival after unrelated transplantation for acute myelogenous leukemia". *Blood* **116**: 2411-2419.
- 6 Locatelli, F. et al. (2013). "Cellular and molecular basis of haploidentical hematopoietic stem cell transplantation in the successful treatment of high-risk leukemias: role of alloreactive NK cells". *Front. Immunol.* **4**: 15.

ÉRASE UNA VEZ LA CALIDAD (II): de Chicago a Ginebra



CARMEN MARTÍN

Facultativo Especialista Inmunólogo
Centro de Hemoterapia y Hemodonación de Castilla y León
Valladolid

Quizá las cosas no han cambiado tanto como creemos en los últimos 100 años... Habíamos dejado a Abraham Flexner escribiendo el artículo titulado "Medical Education in the United States and Canada"^[1] y más conocido como el "Informe Flexner", que zarandeó las universidades, desencadenando reflexiones y grandes cambios en las facultades de medicina. Había analizado lo que ocurría en 155 universidades, que incluían escuelas de homeopatía o de medicina tradicional que proliferaban en la época, y de los resultados se desprendía que no había reglas ni mínimos para dar títulos de medicina, ni siquiera se pedía el mismo número de años de estudio, que en algunas escuelas eran solamente dos.

En esta línea de definir los mínimos y estandarizar los requisitos de la profesión sanitaria, en 1917, el Colegio Americano de Cirujanos en EE. UU. establecía por primera vez unas reglas para los hospitales. Se trataba de cinco premisas únicamente: la plantilla debía estar organizada; solo se contratarían médicos competentes y certificados; debía haber reuniones regulares del personal y sesiones clínicas; los registros de las historias clínicas debían guardarse; y tenían que contar con centros de diagnóstico radiológico y laboratorios. Todo esto que hoy nos parece evidente, era entonces revolucionario.

Desde principios del siglo XX se fueron haciendo cada vez más populares los análisis de sangre. Se había conseguido reducir el volumen necesario para los análisis de 1 L en 1838, a 65 mL en 1848, y a tan solo 1-2 mL en los años 20, introduciéndose además el uso de jeringas hipodérmicas que facilitaban la extracción. En los años 30 comienzan a establecerse los valores normales para diferentes parámetros en sangre y orina.

William Sunderman trabajó como médico militar en las dos guerras mundiales y, junto con otros colegas, regresó a la medicina civil al final de la segunda. En 1947 comenzaron a organizar intercomparaciones básicas en las que una misma muestra se enviaba a varios jefes de servicio. Los laboratorios entregaban sus resultados de manera anónima para evitar sesgos de opinión. Los primeros resultados de estos talleres^[2] sembraron el pánico entre la profesión por las enormes variaciones que se encontraban. En poco más de tres años, las variaciones se habían reducido a la mitad gracias a estos ejercicios y a las recomendaciones que de ellos salían.

Casi al tiempo, el 27 de abril de 1948 se fundaba la Organización Mundial de la Salud (OMS) con sede en Ginebra a propuesta de la Organización de las Naciones Unidas (ONU), sentando las bases para la cooperación internacional con el objetivo de mejorar las condiciones sanitarias. Un año antes, también en Ginebra y al amparo de la ONU, se fundaba la Organización Internacional para la estandarización (ISO).

Hacia 1950, Levey y Jennings fueron pioneros en algo hoy tan habitual como la utilización de controles internos. Comenzaron entonces a analizar a diario un mismo suero, permitiendo así conocer la variabilidad interna del laboratorio. En 1953 aparecen los primeros sueros de control.

En los años 50 y 60, en el mundo empresarial, Deming y Stewhart entre otros, estaban sentando las bases de lo

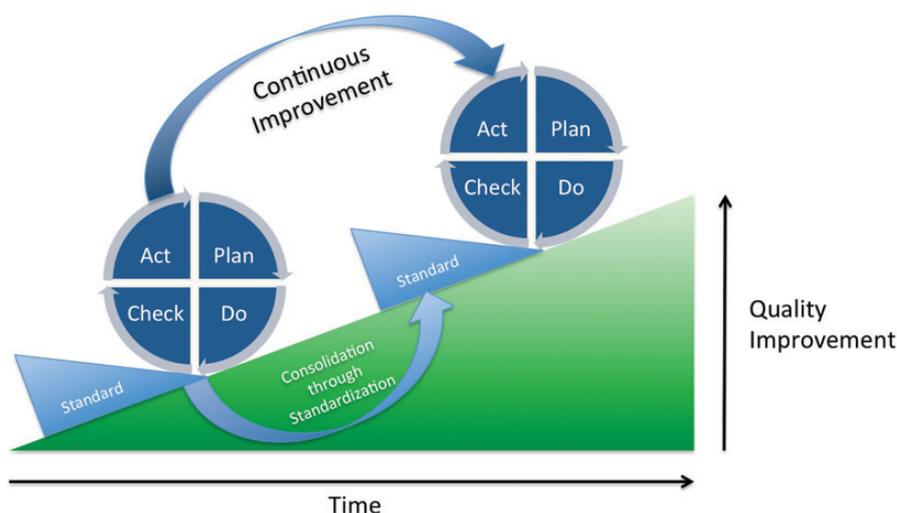


Figura 1. Ciclo de mejora continua (Figura elaborada por Johannes Vietze, 2013; CC BY-SA 3.0)

que se dio en llamar la “calidad estadística” para analizar las fuentes de variación, y poco a poco se van implantando los ciclos de mejora continua. Joseph Juran marca el cambio del control de calidad a la calidad total, en la que los trabajadores se implican y que, más allá de evitar pérdidas, conlleva ganancias tanto económicas como organizativas. Este concepto, conocido por su nombre japonés *-kaizen-* continúa ganando posiciones desde la década de los 70.

En el ámbito sanitario, hacia 1975, se generaliza el uso de las jeringuillas desechables, popularizadas de la mano del español Manuel Jalón Corominas (inventor de la fregona). A finales de los 70 se publican las primeras normas aplicables al trabajo en laboratorio con carácter obligatorio, como la Ley de mejora de los laboratorios clínicos en Estados Unidos. Se consensuan, en diferentes sociedades profesionales, guías de buenas

prácticas para laboratorios clínicos y no clínicos, y se crean grupos de trabajo con la armonización y unificación de criterios como objetivo. La primera ISO aplicable a los laboratorios de análisis es la ISO 17025 en 1999, que se aplica a todo tipo de laboratorios de medida. Posteriormente, en 2002 se publica la ISO 15189, que da respuesta a las necesidades específicas de los laboratorios clínicos.

A día de hoy, ambas normas han sufrido revisiones para adaptarse a los nuevos escenarios que nos encontramos. Van más allá del mero control y comprobación para hacernos reflexionar sobre el abordaje de los riesgos y oportunidades. A través de los años, el objetivo último de la calidad apenas ha cambiado; aunque sí lo hayan hecho las formas, se trata *-en definitiva-* de mejorar cada día en lo posible el servicio que prestamos a pacientes y al resto de profesionales de la salud.

REFERENCIAS

¹ Flexner A. (1910). “Medical education in the United States and Canada. A report to Carnegie Foundation for the Advancement of Teaching”. The Carnegie Foundation for the Advancement of Teaching, Bulletin Number Four.

² Belk, W. P. y Sunderman, F. W. (1947). “A survey of the accuracy of chemical analyses in clinical laboratories”. *Am. J. Clin. Pathol.* **17**: 853-61.





Inmunoglobulina Humana Subcutánea al 20%

Becas Quincke: siete años multiplicando la experiencia

ALBERTO JUAN DORTA-CONTRERAS
Laboratorio Central de Estudio del Líquido Cefalorraquídeo
La Habana. Cuba



ALEXANDER ARIEL PADRÓN-GONZÁLEZ

Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas Victoria de Giron
La Habana. Cuba

CRISTÓBAL GONZÁLEZ-LOSADA



JOSÉ ALEJANDRO RODRÍGUEZ-PÉREZ

Laboratorio Central de Estudio del Líquido Cefalorraquídeo
La Habana. Cuba

WILLIAM CASTILLO-GONZÁLEZ



¿Cuándo y dónde se fundaron?

El alemán Heinrich Quincke en 1891 publicó un artículo sobre la punción lumbar donde combinó la terapéutica con el diagnóstico. Inició así el estudio del líquido cefalorraquídeo (LCR). En La Habana, en el 2012 y en el Laboratorio Central de Líquido Cefalorraquídeo (LABCEL), se comenzaron a desarrollar las Becas Quincke en honor al ilustre científico. Son convocadas y organizadas anualmente por La Cátedra de Comunicación Científica, el Observatorio de Ciencia, Tecnología e Innovación, **LABCEL**, la Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Miguel Enríquez" de la Universidad de Ciencias Médicas de La Habana junto a la Sociedad Cubana de Ciencias Fisiológicas de Inmunología^[1,2].

¿Cuáles son los objetivos?

Promover el trabajo científico grupal, brindar acceso a laboratorios de investigaciones de alto nivel donde se les permite a los participantes el trabajo directo con los medios. Resolver problemas aún no esclarecidos por la ciencia empleando programas informáticos. Orientar a los participantes de las especialidades de la ciencia^[1,2].

¿En qué consiste? ¿Quiénes pueden participar?

La beca se basa en los principios de la ciencia abierta haciendo accesibles y transferibles los conocimientos



científicos. El curso tiene una duración de una semana con dos diferentes modalidades: una para los estudiantes de Medicina y la otra para los residentes de las diferentes especialidades médicas y estudios postdoctorales. Se combinan durante este tiempo las conferencias teóricas con el desarrollo de habilidades en prácticas de laboratorio. La convocatoria se realiza anualmente y pueden participar cubanos y extranjeros^[2].

¿Cómo es la selección?

La selección es a partir de los resultados investigativos, publicaciones y premios obtenidos por los aspirantes. Para esto se debe enviar el currículum al Comité Organizador, el que se encarga posteriormente de informar los elegidos.



Participantes de la quinta edición de las Becas Quincke, modalidad de estudiantes, año 2016 (Foto: Alberto Juan Dorta Contreras).

¿Qué se hace?

En un primer momento se forman grupos de trabajo atendidos por los profesores y alumnos ayudantes. Se les brindan entonces datos originales y no publicados de las investigaciones del equipo de trabajo y LABCEL en cooperación con el Laboratorio de Neuroquímica de la Universidad Georga Augusta de Gotinga, en Alemania, y de la Universidad de Aarhus en Dinamarca. Durante esa semana los becarios desarrollan sus hipótesis a partir de los datos iniciales.

Se aborda un tema central de investigación en ciencias básicas relacionado con la Neuroinmunología, particularmente en la vía de las lectinas (sistema de complemento) y aspectos de manejo básico del laboratorio. Se ofrecen demostraciones y conferencias por distintos especialistas tanto de LABCEL como de otras instituciones de Cuba y del mundo. Los alumnos ayudantes están encargados de algunas sesiones teóricas así como de trabajos prácticos en el laboratorio para su desarrollo como futuros docentes.

¿Qué temáticas se han abordado?

Hasta el presente se han desarrollado siete becas. En la primera edición del 2012 se trabajó con la ferritina para evaluar la difusión de esta proteína al líquido cefalorraquídeo y la aplicación clínica en diversas enfermedades neurológicas. En el 2013 se evaluó la difusión de las ficolinas M y H en el líquido cefalorraquídeo, las distintas formas de agregación que se encuentran en este líquido y si ocurre síntesis intratecal. La tercera edición en el 2014 estudió la MASP-2, su concentración en suero y LCR así como la posibilidad de su fabricación intratecal tomando en cuenta su masa molecular. La Map 44 fue



Fotos: Alberto Juan Dorta Contreras.



abordada en el 2015 a partir de su difusión de la sangre al LCR, su síntesis intratecal y el posible origen como proteína de las leptomeninges. En el 2016 se trabajó con la colectina CL-LK. La sexta edición (2017) se dedicó a la MASP-3, una proteína descubierta apenas 15 años atrás. Hasta 2016 su función no estaba dilucidada. La proteína C1q de la vía clásica del complemento fue el tema que se trabajó en el 2018^[2,3,4].

Principales logros y reconocimientos

Hasta la fecha han asistido 80 estudiantes de Medicina y 24 residentes de países como Cuba, Estados Unidos, China, Vietnam, Uruguay, Bolivia, México y Colombia, entre otros. Muchos de los estudiantes que han participado han sido elegidos como los mejores graduados en sus respectivas universidades.

En el año 2015 las Becas Quincke recibieron el premio anual de Inmunología entregado por la Sociedad Cubana de Inmunología. En el 2016 por primera vez se entregó como parte de las Becas la distinción LURAP (*Local Undergraduate Research Award in Physiology*) por parte de la Asociación Americana de Fisiología a aquellos estudiantes de Medicina con resultados meritorios en la investigación. De manera similar sucedió en los años 2017 y 2018.



Entrega, por Alberto Juan Dorta Contreras, de las distinciones *Local Undergraduate Research Award in Physiology*, años 2016, 2017 y 2018, respectivamente, a William Castillo-González, Cristóbal González-Losada y José Alejandro Rodríguez-Pérez (Fotos: Cristóbal González-Losada y José Alejandro Rodríguez-Pérez).

En el 2017 las becas recibieron un *award* por parte de la Sociedad Americana de Fisiología para que los estudiantes que aplicaran desde el exterior cubrieran sus gastos de viaje ^[1,2].

Una iniciativa muy importante fue la creación de las estancias posteriores a las becas Quincke. Surgen por las solicitudes repetidas de los participantes de mantener la continuidad del trabajo con el centro. Permite que aquellos que se motiven continúen el trabajo en las instalaciones del laboratorio en los meses subsiguientes con la asesoría de los investigadores de LABCEL. El éxito de dicha idea se traduce en diferentes publicaciones de los resultados alcanzados por los becarios en revistas de alcance nacional e internacional.

En el ámbito cubano cabe destacar que en el 2017 un grupo de doctores recibieron mención en los premios anuales de Inmunología en la categoría clínica por su trabajo de empleo del reibergrama en pacientes con manifestaciones neurológicas

por el virus del dengue. Además de que han sido aceptados y presentados sus trabajos en eventos de gran prestigio nacional como el Taller Internacional "Shaping of the immune system: Nurture or Nature?", el XIV Congreso Centroamericano del Caribe, V Encuentro Iberoamericano, IX Congreso Nacional de Alergología, Cuba Alergia 2017, o el Congreso Internacional de Microbiología IPK 2017. A nivel internacional han participado en eventos como Experimental Biology 2018 (San Diego, California) o ALAI InmunoMéxico 2018, entre otros ^[4,5].

Creemos que la beca Quincke ha demostrado ser un proyecto innovador en la educación médica y de los residentes, que han sido muy bien acogidas en Cuba y el extranjero. Favorece la posibilidad de "hacer ciencia" y comprender el significado verdadero de ese término. De ahí la necesidad de continuar dándole promoción para que sea de conocimiento por la comunidad estudiantil y médica cubana y del mundo.



Fotos: Alberto Juan Dorta Contreras

REFERENCIAS

- Dorta-Contreras, A. J. (2017). "Ciencia abierta para estudiantes de Medicina: becas de investigación Quincke". En *Educación Médica* [Internet] **18**: 149.
- Lumpuy-Castillo, J. et al. (2018). "Teaching immunology based on open science's principles". pp.158-161 en: *Immuno Mexico 2018, XII Congress of the Latin American Association of Immunology and XXIII Congress of the Mexican Society of Immunology*. Frontiers Abstract Book. Pelayo, R. (Ed.) Frontiers. Lausanne, Suiza.
- Padrón-González, A. A. y Dorta-Contreras, A. J. (2018). "Vía de las lectinas, una ruta del complemento en construcción". *Archivos de Alergia e Inmunología Clínica* **49**: 5-12.
- Padrón-González, A. A. y Dorta-Contreras, A. J. (2017). "Activación del complemento por la vía de las lectinas: rol en las enfermedades reumáticas". *Revista Cubana de Reumatología* [Internet] **19**.
- Padrón-González, A. A., González-Losada, C. y Dorta-Contreras, A. J. (2017). "Empleo del Reibergrama en manifestaciones neurológicas del dengue". *Revista Habanera de Ciencias Médicas* [Internet] **16**: 711-719.

El páncreas en guerra. Diabetes tipo 1



JESÚS GIL

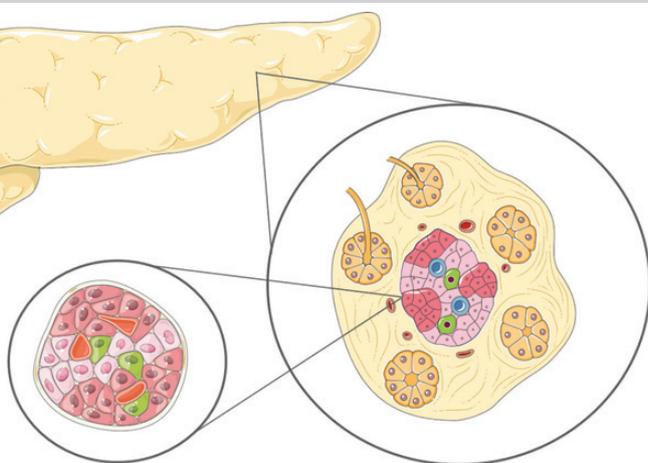
Instituto de Biología
Molecular
Maguncia, Alemania

Nuestras células necesitan energía para vivir, la cual puede venir de distintas fuentes, como, por ejemplo, la glucosa. Cuando comemos, la cantidad de este compuesto energético aumenta en la sangre, pero una vez que la digestión ha terminado, sus niveles tienen que volver a la normalidad. Esto se consigue gracias a la producción de insulina en uno de los órganos, quizá, más desconocidos de nuestro organismo: el páncreas. Situado en el abdomen y en forma de hoja, está compuesto por distintos tipos de células “obreras” productoras de algunas moléculas imprescindibles para la digestión. Por ejemplo: las células beta del páncreas, agrupadas en los islotes de Langerhans, obreras estrella de este artículo, y responsables de producir la insulina, cuya deficiencia dará lugar a la aparición de la patología que hoy tratamos, la diabetes de tipo 1, o diabetes autoinmune.

Gracias a los distintos soldados que forman nuestro sistema inmunitario, ese ejército interior con el que todos contamos, los potenciales enemigos, tanto externos como internos, no tienen la menor oportunidad de hacernos daño. Esto supone también que nuestros guerreros deben ser capaces de distinguir entre invasores, células peligrosas (tumorales) y compuestos propios normales. Es decir, que, por un lado, nos deben tolerar; pero, por otro, tienen que destruir amenazas. Aunque en la mayoría de las ocasiones todo funciona bien, cuando el proceso falla aparecen problemas. Por ejemplo, las enfermedades autoinmunes, de la que la diabetes de tipo 1 forma parte.

En una persona sana, las células beta del páncreas tienen que producir insulina sin ningún tipo de interferencia, ya que solo así serán capaces de que el nivel de glucosa en la sangre no permanezca elevado más tiempo del necesario. Esto quiere decir que sus guerreros han sido entrenados para que, cuando reconozcan a una de estas obreras, las toleren, sigan su camino y las dejen hacer su trabajo. Ahora bien, ¿qué ocurre cuando el proceso de tolerancia falla? Que los soldados no sabrán que esas células beta del páncreas son realmente algo que nos pertenece, por lo que comenzarán un proceso de batalla cuyo final esperado es la destrucción de esas indefensas obreras. Como consecuencia, y respondiendo a una de las preguntas que lanzábamos más arriba, el páncreas de la persona afectada no será capaz de producir insulina y, por tanto, sus niveles de glucosa en sangre no se regularán.

Los científicos no saben qué es lo que provoca la aparición de las enfermedades autoinmunes, y la diabetes de tipo 1 no es ninguna excepción. Como nos cuenta nuestra socia Marta Vives-Pi, se han descrito factores tanto genéticos como ambientales. Si les quisiéramos dar un peso a cada uno de ellos, podrían ser del 50 % aproximadamente. Vives-Pi nos indica que los estudios con gemelos univitelinos (cuyo material genético es idéntico) han demostrado que, si uno de los dos desarrolla la enfermedad, la posibilidad de que el otro también la desarrolle es menor al 50 %, lo que revela la existencia de importantes factores ambien-



En los islotes pancreáticos (abajo a la izquierda), las células beta, entre otras, producen la insulina necesaria para evitar que la glucosa se acumule en nuestra sangre de forma preocupante (Imagen compuesta por el autor; CC BY 3.0).

La diferencia entre la diabetes de tipo 1 y de tipo 2 es simple: mientras que en el primer caso el organismo no produce insulina, en el segundo caso esta hormona puede estar presente, pero son las células las que no la reconocen de forma adecuada. Esto quiere decir que los afectados por diabetes de tipo 1 no cuentan con insulina, ¿cómo es esto posible?, ¿qué está pasando en su organismo para que ese compuesto se haya, literalmente, esfumado?

tales. Esto es, además, fácil de entender, si os menciono que existen casos en los que, poblaciones con baja incidencia de la enfermedad, [al mudarse a zonas geográficas en las que la incidencia de la enfermedad es muy alta](#) (como, por ejemplo, Finlandia), desarrollaron diabetes de tipo 1. ¿Y qué factores ambientales son los responsables? Se han descrito varios, como el ambiente uterino (prenatal), la lactancia materna, la microbiota, las infecciones por enterovirus, el estilo de vida (higiene) o la dieta que sigamos, pero la contribución que cada uno de estos factores juega en la aparición de la enfermedad es desconocida.

Aunque se han descrito diversos tipos de soldados involucrados en la destrucción de las obreras beta del páncreas, en este artículo os voy a hablar solo de dos de ellos: los conocidos como soldados T y los guerreros B. Los primeros son los responsables directos de destruir a las células beta, por lo que, si queremos echarle la culpa a alguno de ellos, sin duda las células T se llevan el premio gordo en esta patología. El caso de los segundos es bastante especial. Las células B son las responsables de producir los anticuerpos, a los cuales siempre me refiero como misiles de largo alcance. Estos misiles, cuya función normal es la de impedir la propagación de intrusos, o mejorar el reconocimiento de enemigos por parte de otros soldados, también pueden dirigirse frente a compuestos propios si el entrenamiento que mencionábamos más arriba falla. La existencia de anticuerpos anti-insulina, u otros, conocidos como anticuerpos anti-GAD65, anti-IA2 o anti-ZNT8, están bien descritos en pacientes afectados por diabetes de tipo 1, aunque hasta el momento no se han asociado con patologías y sirven principalmente como marcador diagnóstico. Esto quiere decir que, pese a que los guerreros B están involucrados en la enfermedad, podríamos decir que sirven más bien como chivos expiatorios que nos permiten determinar, e incluso predecir, la existencia o aparición de enfermedad.

Los afectados por diabetes de tipo 1 suponen entre el 10 y el 15 % de todos los afectados por diabetes, si bien la mayoría de ellos son jóvenes menores de 14 años. El diagnóstico de la enfermedad suele realizarse como consecuencia de una consulta médica ligada a los síntomas típicos de la diabetes: poliuria (eliminar gran cantidad de orina), polidipsia (aumento anormal de sed), pérdida de peso, síntomas abdominales, dolores de cabeza o cetoacidosis (una complicación que puede poner en riesgo la vida). En pocas ocasiones se descubre tras un análisis rutinario.

El tratamiento de la diabetes de tipo 1 pasa por inyecciones de insulina que controlen los niveles altos de glucosa en sangre, algo muy necesario para reducir la posibilidad de complicaciones futuras. Entre estas últimas, compartidas también por pacientes afectados por diabetes de tipo 2, se encuentran principalmente problemas renales, de neuropatía periférica o retinopatía, que aparecen como consecuencia de la inhabilidad de las obreras en estas localizaciones de reducir su toma de glucosa, aun cuando esta se encuentre disponible en grandes cantidades, provocando algo parecido a un “estrés de obrera” y generando los famosos radicales libres, responsables del daño causado en estos tejidos. Las enfermedades cardiovasculares son otro de los síntomas que se presentan con mayor frecuencia entre los afectados por diabetes.



Es necesario un estricto control de glucosa para evitar posibles complicaciones en el futuro como consecuencia de hiperglucemia: enfermedades cardiovasculares, neuropatías o amputaciones (PhotoMIX Ltd, Pexels license).

Desde hace casi 100 años, desde la introducción de la insulina para el control de la glucosa no se han desarrollado nuevos tratamientos que eviten las inyecciones de insulina, aunque hay que destacar espectaculares mejoras tecnológicas (sensores, infusores, etc). En los últimos años, y gracias a los últimos avances en el conocimiento del papel que nuestro ejército interior tiene en el desarrollo de esta patología, se están empezando a probar distintas terapias en las que se intenta explotar a distintos soldados del sistema inmunitario (inmunoterapias) para pausar, frenar o incluso eliminar el ataque a esas indefensas obreras beta del páncreas. Por otro lado, la medicina regenerativa es una estrategia para restablecer la producción propia de insulina. Cuando se publiquen los resultados de estos estudios, en los próximos años, podremos valorar el potencial de la inmunoterapia para el tratamiento de la diabetes de tipo 1.



Federación Española de Diabetes (FEDE)



En este número hemos contactado con la [Federación Española de Diabetes \(FEDE\)](#), una entidad de pacientes que cuenta con el mayor número de asociados en toda España, y órgano representativo del colectivo de personas con diabetes que, a día de hoy, suman cerca de seis millones de personas. FEDE cuenta con un total de 19 federaciones autonómicas y 153 asociaciones locales de pacientes con diabetes, distribuidas por todo

el territorio nacional. Entre sus principales objetivos se encuentran: defender los derechos de las personas con diabetes, contribuir al apoyo moral, físico y educativo del colectivo, fomentar y apoyar la educación sobre diabetes, promover la mejora de la asistencia sanitaria, prevenir, intervenir y detectar precozmente la diabetes, e impulsar y desarrollar el interés de la investigación.

Centro Cívico "La Avanzada"

C/ La Habana, 35. 28945 Fuenlabrada (Madrid)

Tel. 91 690 88 40

e-mail: fede@fedesp.es



LAURA ALEMÁN ARTEAGA, responsable de comunicación de FEDE, nos ha hecho llegar una de las preguntas que se hacen los pacientes afectados por diabetes:

¿Se conoce el origen de la relación entre la diabetes tipo 1 y la enfermedad celíaca?

Responde: JESÚS GIL

Una de las características de las enfermedades autoinmunes, aparte de desconocerse en casi todos los casos las razones por las que se producen, es que los pacientes afectados tienen más probabilidades de desarrollar otra en el futuro. En el caso de la diabetes de tipo 1, las personas con esta patología están en un mayor riesgo de presentar enfermedad autoinmune de la tiroides, vitíligo, gastritis autoinmune o enfermedad celíaca. De todas ellas, la más común es la enfermedad celíaca, puesto que se ha determinado que alrededor de un 8 % de afectados por diabetes de tipo 1 desarrollarán también enfermedad celíaca, comparado con tan solo un 1 % de riesgo entre la población general. ¿Las causas? Por desgracia, desconocidas. Las enfermedades autoinmunes se caracterizan por presentar un componente genético, que en muchos casos se comparte entre patologías. En el caso de la diabetes de tipo 1 y la enfermedad celíaca, los científicos parecen estar de acuerdo en que errores en lo que se conoce como sistema HLA podría dar una explicación a esta relación. El sistema HLA es el que nuestro "ejército interior" utiliza para presentar tanto moléculas extrañas (y, por tanto, iniciar una "batalla" y permitir que la infección se elimine) como propias (que, en su labor original, entrenarían a los "guerreros" a tolerar a nuestros órganos). Desde hace tiempo se sabe que unas moléculas de HLA determinadas, conocidas como DQ2 y DQ8, están asociadas a un mayor riesgo de desarrollar tanto enfermedad celíaca como diabetes de tipo 1. Como en ambas enfermedades parece requerirse las mencionadas moléculas de HLA, el hecho de tener una de ellas automáticamente te predispone a padecer la otra. Pero como las causas genéticas no lo son todo, también los factores ambientales pueden intervenir, aunque en este caso no parece estar tan claro: introducción de cereales en la dieta, lactancia materna o infección por virus son algunas de las causas propuestas. Por lo tanto, se especula sobre por qué hay una relación entre ambas patologías, pero, a día de hoy, no se sabe la razón.



Luz solar, suplementos y dieta

Hablemos claro de la vitamina D: ¿tiene algún efecto sobre nuestro sistema inmunitario?



JESÚS GIL

Instituto de Biología Molecular
Maguncia, Alemania

Las vitaminas son sustancias que nuestro organismo requiere para un correcto funcionamiento. Algunas son viejas conocidas entre todos nosotros, como la vitamina A, necesaria para una correcta salud visual, o la vitamina C, que seguro nos hará imaginar ciertas frutas, como las naranjas o los kiwis. Otras pueden serlo menos, como la vitamina K, que, dicho sea de paso, es también producida por nuestro organismo gracias a la microbiota —el conjunto de bacterias buenas que pueblan distintos órganos— intestinal.

Por lo general, nuestro organismo, o bien produce una cantidad de vitaminas insuficiente para que las funciones vitales ocurran con normalidad, o directamente no las produce. Por eso requerimos de fuentes externas para que lleguen hasta nosotros, siendo la más común la dieta. Y es importante recalcar las palabras “Por lo general”, ya que existe un caso único por el que la dieta no es la principal fuente de obtención de una vitamina: la vitamina D.

De hecho, la vitamina D se asemeja más a una hormona que a una vitamina. A diferencia de sus hermanas, la cantidad que podemos obtener a través de la dieta es muy limitada, situándose en torno al 10 y al 20 % del total necesario, presente principalmente en ciertos aceites de pescado y leches enriquecidas. El resto necesario es producido por el órgano más extenso de nuestro cuerpo, la piel. Y, aunque su papel como compuesto esencial para controlar los niveles de calcio y fósforo en la sangre —y así mantener una

salud ósea estupenda— es bien conocido, desde hace ya un tiempo se **postula** que su deficiencia también podría estar involucrada en ciertas patologías como las enfermedades cardiovasculares, las enfermedades neurodegenerativas, el cáncer o las enfermedades relacionadas con nuestro **ejército interior**, el sistema inmunitario. ¿Qué hay de cierto en todo esto?

Entre un 80 y un 90 % de toda la vitamina D que requerimos la producimos a través de nuestra piel cuando nos exponemos a la luz solar

Como decía, entre un 80 y un 90 % de toda la vitamina D que requerimos la producimos a través de nuestra piel cuando nos exponemos a la luz solar. Cuando los rayos ultravioletas tocan la piel, se pone en marcha toda una maquinaria que tendrá como colofón la producción de la forma activa de la vitamina D, la señal necesaria para avisar a todas aquellas células

que tengan la capacidad de captarla. Responder a la vitamina D requiere que las células presenten lo que se conoce como el *receptor de vitamina D*, al que, para hacerlo todo más sencillo, nos podremos imaginar como una especie de *cerradura* (receptor) esperando ser abierta por su *llave* (la vitamina D). Cuando se dan ambas cosas, la célula será capaz de sentir la presencia de la llave y, por tanto, responderá de forma específica. Muchas células de nuestro organismo tienen una cerradura para la vitamina D, y las células guerreras de nuestro ejército interior no son la excepción. Precisamente, este descubrimiento ha generado que durante los últimos años se hayan llevado a cabo miles y miles de estudios demostrando que la vitamina D es capaz de modificar la forma en la que nuestros guerreros se comportan, al menos en un laboratorio,



Necesitamos el sol (*izquierda*) para producir la vitamina D, ya que, aunque algunos alimentos son ricos, no suponen más del 20 % del total necesario (*Foto: U.S. Air Force; Military Health System –MHS–, tomada por senior Airman Jensen Stidham: "La aparición de información visual del Departamento de Defensa–DoD– de los EE.UU. no implica ni constituye una aprobación del DoD"*). A la *derecha*, cápsulas de aceite de pescado representando un pez, que se venden como suplementos de vitamina D (*Foto: Marco Verch, 2018; CC BY 2.0*)

lo que podría abrir un sinfín de posibilidades, dada la enorme cantidad de funciones que nuestros soldados desarrollan, tanto en la salud como en la enfermedad.

Nuestro ejército interior está formado por distintos soldados que forman parte de un bando rápido e inespecífico, conocido como **sistema inmunitario innato**, y otro, mucho más lento pero muy específico y potente, que recibe el nombre de **sistema inmunitario adaptativo**. En el laboratorio, los investigadores

han observado cosas muy curiosas cuando dan vitamina D a soldados de uno y otro bando.

Por ejemplo, la vitamina D se ha visto que, por lo general, incrementa el estado "guerrero" de los soldados del bando rápido e inespecífico. Esto debería traducirse en una mayor capacidad de ataque frente a los enemigos; o, lo que es lo mismo, se debería de reducir el número de infecciones que desarrollásemos a lo largo de los años. Por otro lado, si nos movemos a los guerreros del bando

más lento pero específico, **los resultados son bien distintos**: los investigadores han demostrado que la vitamina D es capaz de modular la respuesta de los soldados de este bando, haciendo que sean más "reguladores" y reduciendo así su "agresividad". Y es muy probable que estéis pensando: pero, ¿no es esto algo malo para nuestro organismo? Pues depende de con qué prisma miremos. Para entender esto último tenemos que poner el foco en las enfermedades de origen autoinmune, aquellas en las que los soldados parecen

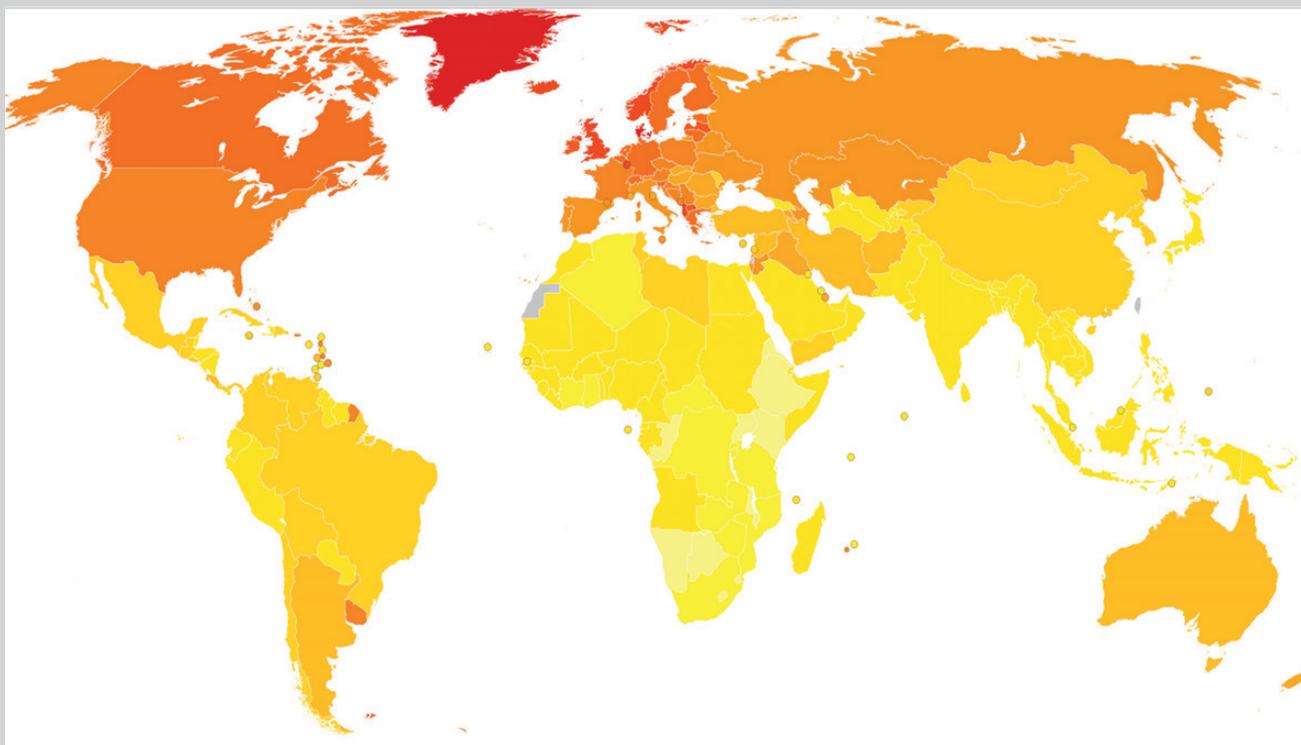


Figura 2. Mapa de prevalencia de esclerosis múltiple en el mundo (datos de la oms, 2010). El color rojo indica una prevalencia muy alta, mientras que los tonos más claros muestran menor número de casos. ¿No parece haber una relación entre la disminución de la luz solar y el aumento de estos casos? (*Imagen: Lokal_Profil, CC-BY-SA-2.5*).

ir un poco por su cuenta y deciden atacar a nuestro propio organismo. Como ejemplo, la [diabetes](#) –tratada en este número de la revista– u otras enfermedades como la [esclerosis múltiple](#) o la [psoriasis](#), son provocadas por un exceso de “agresividad” de los soldados T; mientras que la función “reguladora” de estos, o bien no funciona como debería, o directamente está infrarrepresentada. ¿No tendría sentido que la vitamina D fuera capaz de

poner un poco de orden a este descontrol y ayudar a los pacientes afectados por estas enfermedades? Esta teoría cobró mucha importancia cuando se observó que los países donde los niveles de vitamina D eran menores, [la prevalencia de enfermedades autoinmunes era mayor](#). Claro, si la producción de vitamina D y la exposición solar están íntimamente relacionadas, podría ser factible que, a menor concentración de este compuesto y, por tanto, menor luz solar, la capacidad reguladora de los soldados del bando lento disminuyera y, en personas con una predisposición a desarrollar la enfermedad, la deficiencia en vitamina D diera un pequeño empujón para que apareciera la enfermedad.

A tenor de los datos presentados en el anterior párrafo, uno podría sentirse tentado a forjarse una respuesta rápida y a pensar que existe una relación directa entre esta vitamina y las enfermedades autoinmunes, solo por citar algunas, por lo que podríamos lanzarnos a chequear nuestros niveles de esta vitamina y comprar suplementos lo antes posible. Es más, [un estudio](#) demostró que las mujeres con mayores niveles de vitamina D en sangre tenían menor probabilidad de desarrollar esclerosis múltiple en el futuro, al igual que ocurría con los niños nacidos de madres con un nivel de vitamina D adecuado durante el embarazo. Sin

Un estudio demostró que las mujeres con mayores niveles de vitamina D en sangre tenían menor probabilidad de desarrollar esclerosis múltiple en el futuro

embargo, no debemos olvidarnos de que la relación no implica causalidad; es decir, que encontrar algo que diferencie a personas sanas de otras enfermas no quiere decir que ese *algo* sea el responsable de causar la enfermedad, sino que podría ser una respuesta provocada por la propia patología (lo que, por otro lado, nos podría servir para diferenciarlos y convertirse en lo que se conoce como *marcador*).

Hasta hoy, este parece ser el caso de la vitamina D y nuestro sistema inmunitario. A pesar de que muchos estudios de laboratorio han demostrado que esta vitamina es capaz de modular a los soldados de nuestro ejército, e incluso se ha reportado que niveles deficientes de vitamina D están asociados a un mayor desarrollo de ciertos cánceres –como el de colón–, enfermedades autoinmunes –como la esclerosis múltiple– o patologías respiratorias –como el asma–, ningún estudio hasta el momento ha demostrado que la suplementación con vitamina D reduzca el riesgo de las citadas enfermedades. Si bien [un estudio reciente](#) ha sugerido que la suplementación con vitamina D podría reducir el riesgo de contraer resfriados y gripes, hoy por hoy, los niveles adecuados de vitamina D en sangre (algo que, por cierto, parece estar en continuo debate) podrían servir más como marcador para monitorizar el estado de ciertas enfermedades que para prevenir el desarrollo de las mismas.

Pero, como ocurre con la ciencia, tendremos que esperar a que aumente el número de estudios y de personas analizadas para comprobar si, efectivamente, los resultados observados en el laboratorio pueden tener un impacto beneficioso en la prevención de enfermedades gracias a la suplementación con vitamina D.



¿Qué
investigas?

MARTA VIVES-PI

Grupo de Inmunología de la Diabetes
Instituto de Investigación German Trias
i Pujol. Facultad de Medicina.
Universidad Autónoma de Barcelona

Por JESÚS GIL

Para conocer el estado actual de la investigación sobre diabetes tipo 1, los últimos avances que se han producido y los tratamientos más novedosos en desarrollo, hablamos con nuestra socia, la doctora Marta Vives-Pi, profesora asociada de la Universidad Autónoma de Barcelona e investigadora principal del grupo de Inmunología de la Diabetes del Instituto de Investigación German Trias i Pujol (IGTP), en Badalona. Marta Vives-Pi lleva más de 30 años investigando la diabetes de tipo 1, y recientemente ha cofundado la *spin-off* Ahead Therapeutics, cuyo objetivo es la manipulación de algunos soldados de nuestro ejército interior para controlar al resto de guerreros involucrados en las enfermedades autoinmunes, como es el caso de la diabetes de tipo 1.

¿El uso de modelos animales para el entendimiento de patologías humanas e incluso el desarrollo de terapias es un tema complejo que muchas personas no terminan de entender, ya que, en muchos casos, los descubrimientos usando estos modelos no se trasladan a la clínica. ¿Qué ocurre con la diabetes de tipo 1, ¿en qué ha contribuido el uso de estos modelos animales al entendimiento de la patología en humanos?

La diabetes de tipo 1 es de las pocas patologías que disponen de un modelo animal, un ratón, que desarrolla la enfermedad de forma espontánea. Al alcanzar la edad de 12 semanas, las hembras de los ratones conocidos como NOD (No Obeso Diabético) presentan la misma historia de enfermedad diabética que los humanos: infiltración de guerreros en los islotes del páncreas y destrucción de las células beta productoras de insulina. Estos ratones requieren de una terapia con insulina para sobrevivir, también como en el caso de los humanos. Nuestro grupo fue el primero en España en establecer una colonia de este modelo animal, y su uso nos ha permitido entender muchos aspectos de la enfermedad, especialmente la fase prediabética, es decir, aquella en la que no existen síntomas aún, pero sí destrucción.

Los modelos animales para estudiar la diabetes de tipo 1 son imprescindibles ya que con ellos hemos

logrado conocer muchos de los aspectos de la patología en humanos. El problema principal de la investigación en diabetes tipo 1 con muestras humanas es que el páncreas es un órgano de difícil acceso, y que la fase asintomática pasa desapercibida. Desde hace unos años, sin embargo, se están produciendo avances muy rápidos en el diagnóstico por imagen, que podrían permitir monitorizar a los pacientes en tiempo real, en un proceso similar al que podría darse durante una resonancia magnética. Por el momento tenemos que conformarnos con muestras de sangre, o incluso microbiota intestinal, dada la posible conexión entre una alteración de esta y el desarrollo de diabetes de tipo 1.

¿Existe algún tratamiento alternativo a la insulina?

No. La principal línea de investigación de hace pocos años pasaba por trasplantes de islotes pancreáticos, es decir, se pensaba que trasplantar células beta productoras de insulina de un donante, produciría una fuente de insulina endógena. Sin embargo, para conseguir esto eran necesarios dos donantes por cada receptor, dada la dificultad de obtener islotes de Langerhans. Además, los receptores tendrían que someterse a tratamientos inmunosupresores, ya que de otra forma se produciría un rechazo de los islotes, es decir, estaríamos en el mismo punto de partida.

Debido a esta dificultad, actualmente se está apostando más por el desarrollo de terapias regenerativas y por inmunoterapias específicas que permitan parar el ataque de los linfocitos a las células beta productoras de insulina.

Respecto a los tratamientos de inmunoterapia, ¿qué novedades hay sobre ellos?, ¿persiguen la prevención o la curación?

Los tratamientos de inmunoterapia están enfocados a la curación de la diabetes de tipo 1, ya que la prevención es complicada desde el punto de vista de selección de individuos. ¿A qué personas habría que administrarles el tratamiento antes de que sean diagnosticadas, sin saber si realmente van a desarrollar la enfermedad? En la actualidad existen muchos tipos distintos de estrategias e inmunoterapia en desarrollo (ensayos clínicos). Por ejemplo, hace poco se probó la terapia con células T reguladoras autólogas (del propio paciente) [*los guerreros que paran los pies a otros soldados, como los que destruyen a las células beta*] en niños con diabetes de tipo 1 y se observó que un par de pacientes no volvían a requerir inyecciones de insulina durante 1-2 años.

Otros enfoques son la terapia con péptidos (autoantígenos), o con células dendríticas tolerogénicas autólogas, que constituye una línea de trabajo de nuestro grupo.

¿En qué consiste esta terapia con células dendríticas tolerogénicas? ¿Cómo se puede frenar el ataque de otros guerreros con estas guerreras?

Las células dendríticas se comunican con los soldados T y pueden hacer que éstos monten una respuesta inmune o bien favorecer la aparición de células T reguladoras. Esto último se consigue con las células dendríticas tolerogénicas, que pueden producirse en el laboratorio utilizando compuestos específicos, como la vitamina D.

Una de nuestras líneas de investigación se basa en la apoptosis como mecanismo para detener la autoinmunidad. Cuando las células se hacen mayores, o bien no funcionan adecuadamente, deben entrar en un programa de muerte conocido como apoptosis, que genera pequeñas vesículas llamadas cuerpos apoptóticos. Las células apoptóticas contribuyen a la tolerancia a los tejidos propios y evitan la autoinmunidad. Otra forma de generar células dendríticas

tolerogénicas es precisamente engullir estos cuerpos.

Se ha demostrado que cuando las células dendríticas capturan cuerpos apoptóticos provenientes de células beta, son capaces de frenar el ataque de los linfocitos T al páncreas en ratones con diabetes de tipo 1. El proceso es fácil en modelos animales, pero, ¿cómo conseguir cuerpos apoptóticos de células beta humanas si los pacientes afectados no cuentan con ellas? Para superar este problema, nuestro grupo ha desarrollado nanopartículas que se asemejaban a estos cuerpos y están cargados con algunos compuestos presentes en las células beta. De esta forma, cuando los administramos a las células dendríticas, ocurre lo mismo que cuando les damos cuerpos apoptóticos: se *tolerizan* y se frena la enfermedad. Comprobamos que esto ocurriría también en el caso de otra enfermedad autoinmune experimental, la esclerosis múltiple, por lo que queremos dar un paso más y comprobar que puede servir como terapia en humanos. Por esta razón hemos creado la *spin-off* Ahead Therapeutics, para trasladar la estrategia a la práctica clínica.

Por último... En el pasado, los ensayos con inmunoterapias han fracasado y no han supuesto ninguna mejora en el tratamiento de la diabetes de tipo 1. ¿Crees que estas nuevas inmunoterapias también fallarán o, por el contrario, podrían suponer un antes y un después para la cura de esta enfermedad?

Creo que las inmunoterapias inespecíficas, que son las que se han utilizado en el pasado, pueden tener efectos secundarios en el sistema inmunitario. Por ejemplo, utilizar un compuesto como la IL-2 [*una molécula que algunos de nuestros guerreros usan para dividirse*] o la terapia anti-CD3 [*que afectaría a los linfocitos T, tanto atacantes de las células beta como protectores*] podría dar lugar a problemas; por lo tanto, es lógico que estas aproximaciones no hayan dado resultados óptimos.

Por otro lado, el desarrollo y uso de inmunoterapias específicas, como las que he mencionado antes, están diseñadas para una enfermedad en particular, como sería la diabetes de tipo 1, por lo que estamos actuando de forma dirigida sobre el defecto (y no sobre todo el sistema inmunitario). Desde mi punto de vista, creo que estas terapias ofrecerán mejores resultados, más aún cuando tengamos también en cuenta cuál es el mejor momento (estadio de la enfermedad) de aplicación de estas terapias.

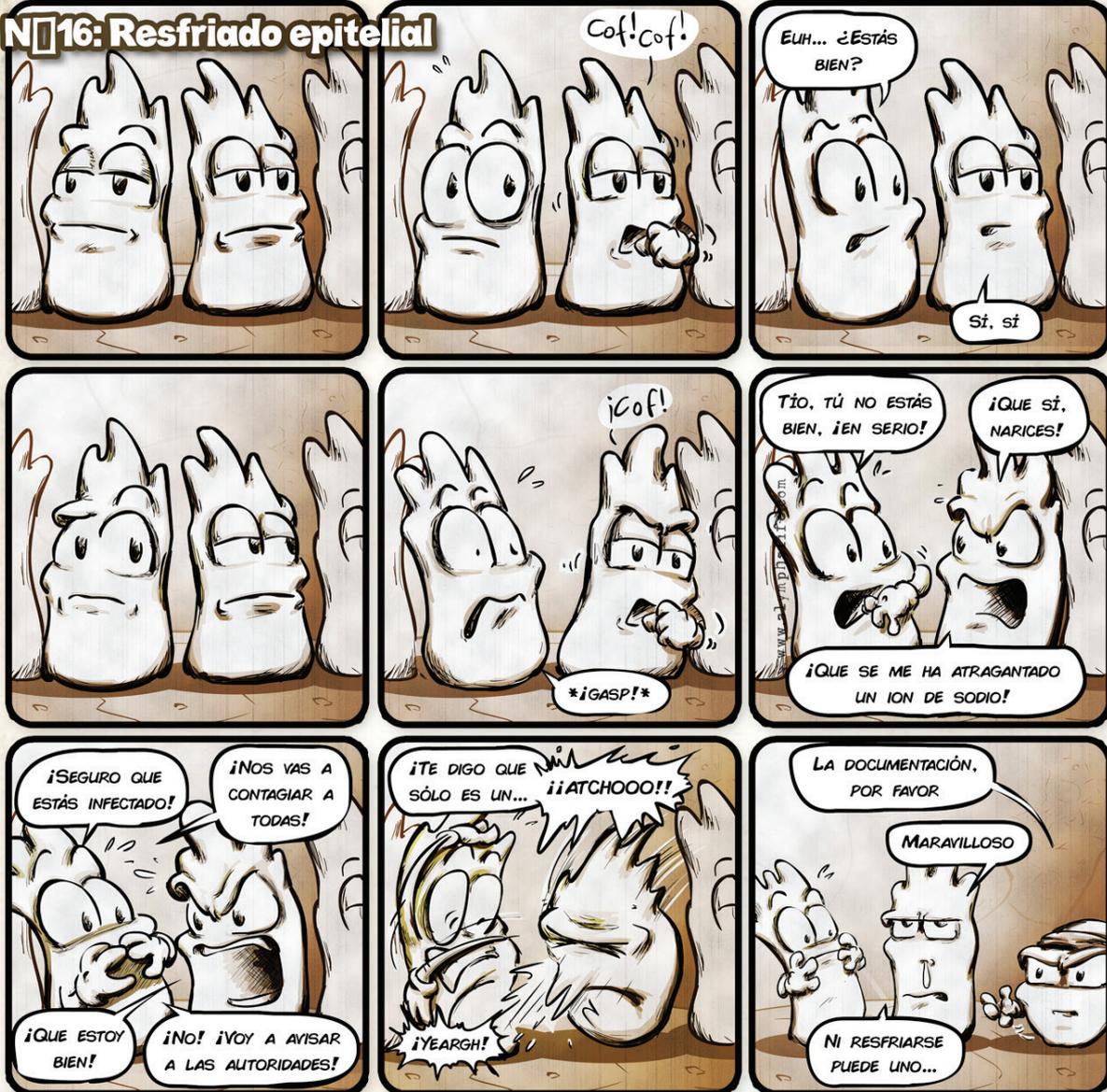




A Lymph's Life

Un cómic inmunológico

Nº 16: Resfriado epitelial



Las células NK

HOY INTRODUCIMOS UNAS NUEVAS CÉLULAS DE LAS QUE NO HEMOS HABLADO MUCHO HASTA EL MOMENTO: LAS CÉLULAS **NATURAL KILLER**, O **NK**. ¡EN LOS PRÓXIMOS EPISODIOS VEREMOS CUÁL ES SU PAPEL!



CUANDO UNA CÉLULA RESULTA INFECTADA O DAÑADA, PUEDE CONVERTIRSE EN UN PELIGRO PARA EL RESTO DEL TEJIDO.



EN LOS PRÓXIMOS EPISODIOS VEREMOS CÓMO LAS CÉLULAS NATURAL KILLER LOCALIZAN Y ELIMINAN A ESTAS CÉLULAS PELIGROSAS PARA EL ORGANISMO.

TAMBIÉN PUEDES SEGUIRNOS EN WWW.ALYMPHSLIFE.COM

