La activación de linfocitos T CLA+ y células epidérmicas por estreptococo en pacientes HLA-CW6+: Respuesta predominantemente Th17 en pacientes con psoriasis en gota y Th1/Th17/Th9 en psoriasis en placas crónica

M Ferran[1,2], ER Romeu[3], M Sagrista[4], AM Giménez-Arnau[1,2], A Celada[3], RM Pujol[1,2], and LF Santamaria-Babí[2,3]

1. Servicio de Dermatología, Hospital del Mar, Barcelona. 2. Grupo de Investigación en enfermedades dermatológicas inflamatorias y neoplásicas, Instituto Hospital del Mar de Investigaciones Médicas, Barcelona. 3. Departamento de Fisiología e Inmunología, Universidad de Barcelona, Barcelona. Grupo Immunologia Translacional (PCB/UB). 4. Servicio de Dermatología, Hospital Sant Jaume de Calella, Barcelona

Introducción

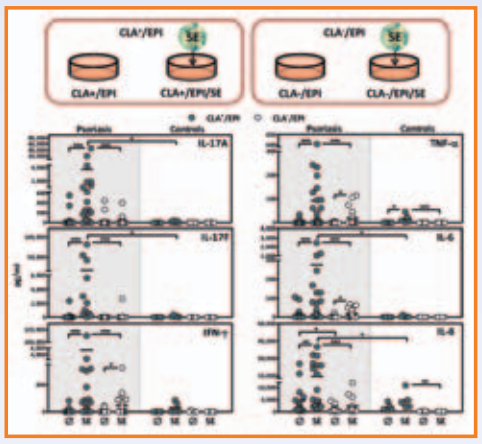
La psoriasis en gotas, desencadenada tras una infección faringo-amigdalar estreptocócica, en pacientes portadores del HLA-Cw6, es clínicamente muy característica pero sus mecanismos fisiopatogénicos son, hasta el momento, poco caracterizados. Estudios previos han demostrado que la incubación de linfocitos T circulantes CLA+ (con tropismo cutáneo), cultivados con células epidémicas autólogas, junto a un extracto de *Streptococcus Pyogenes* (SE) da lugar a una respuesta inmune Th17/Th1 ex vivo, así como a una activación de las células epidérmicas, únicamente en pacientes con psoriasis. Hemos utilizado este modelo para caracterizar la respuesta inmune específica al estreptococo y su función efectora sobre los queratinocitos, a partir de las muestras biológicas de pacientes con psoriasis portadores del HLA-Cw6.

Material y métodos

Se aislaron los linfocitos T memoria CLA+/- circulantes y se cocultivaron con células epidérmicas autólogas (obtenidas mediante una biopsia cutánea), siendo incubados con/sin SE. Se recogieron los sobrenadantes al 5º día y se analizaron sus citoquinas mediante ensayos multiplex o ELISAs. Para los estudios in vitro, se incubaron queratinocitos humanos normales con el sobrenadante condicionado del cocultivo diluido 1/10. Tras 15h de activación, se aisló el mRNA y se analizó su expresión por qPCR.

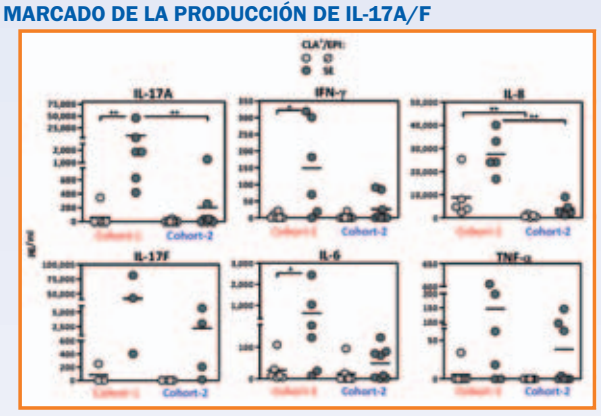
Resultados

FIGURA 1: EL EXTRACTO DE ESTREPTOCOCO INDUCE LA PRODUCCIÓN DE IL-17A, IFN-γ, TNF-α, IL-6 Y IL-8, PREFERENTEMENTE EN COCULTIVOS CON LINFOCITOS T CLA+



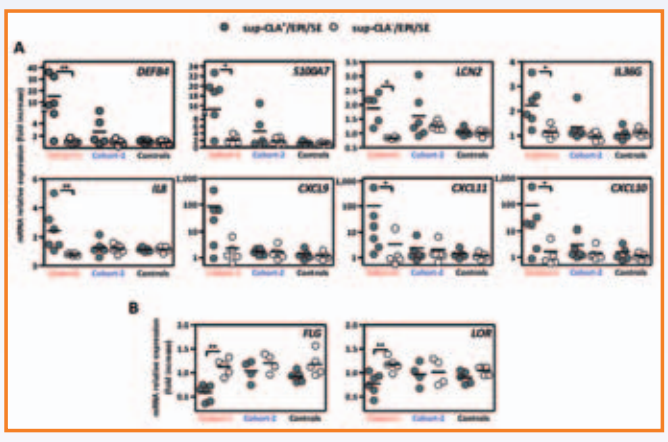
La activación de los linfocitos T CLA+ (con tropismo cutáneo) circulantes cocultivados con células epidérmicas (EPI) autólogas de pacientes con psoriasis mediante extracto de estreptococo (SE) da lugar a la producción de citoquinas inflamatorias tales como IL-17A, IFN-γ, TNF-α, IL-6 y IL-8, importantes mediadores en la fisiopatogenia de psoriasis (Psoriasis n=21; Controles n=5).

FIGURA 2: LOS PACIENTES CON PSORIASIS EN GOTAS HLA-CW6+, CON ANTECEDENTE DE INFECCIÓN ESTREPTOCÓCICA, PRESENTAN UNA MAYOR RESPUESTA INMUNITARIA CON UN AUMENTO MÁS MARCADO DE LA PRODUCCIÓN DE IL-17A/F



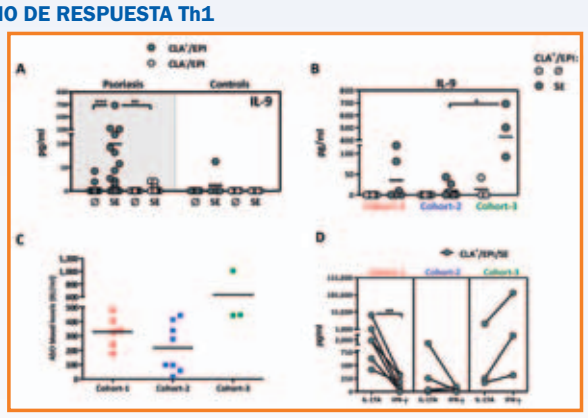
Los pacientes con un brote agudo de psoriasis fueron clasificados en 2 cohortes: la cohorte 1 se caracterizaba por presentar una psoriasis en gotas, ser portadores del HLA-Cw6, y tener el antecedente de la infección faringo-amigdalar estreptocócica. (n=5). La cohorte 2 incluía pacientes que no cumplían los criterios anteriores. (n=9). Los cocultivos de linfocitos T CLA+ activados con células epidérmicas autólogas y activados con SE de pacientes de la cohorte 1 presentaban una mayor producción de citoquinas, con predominio de la respuesta Th17 (IL17A/F)

FIGURA 3: LOS QUERATINOCITOS INCUBADOS CON SOBRENADANTES PROCEDENTES DE LOS COCULTIVOS DE LA COHORTE 1 PRESENTAN UNA SOBREEXPRESIÓN DE GENES ASOCIADOS A LA PSORIASIS, ASÍ COMO UNA DISMINUCIÓN EN LA EXPRESIÓN DE GENES DE LA FUNCIÓN BARRERA



(A) Considerando las marcadas diferencias en la producción de citoquinas entre los cocultivos de las dos cohortes, nos preguntamos cómo se expresarían algunos genes de los queratinocitos previamente asociados a la psoriasis. Para ellos estudiamos la función efectora de los sobrenadantes de los cocultivos sobre queratinocitos sanos. Se observó que la incubación con sobrenadantes procedentes de los cultivos de la cohorte 1 (n=5-6) daba lugar a una mayor sobreexpresión de DEFB4, S100A7, LCN2, IL36G, IL8, CXCL9, CXCL11, y CXCL10, en comparación con los de la cohorte 2 (n=5-6). **(B)** La expresión de los genes que codifican para proteínas involucradas en la función barrera (loricrina y filagrina, ambas escasamente expresadas en psoriasis, según descrito previamente), fue menor en los queratinocitos expuestos a los sobrenadantes de los cocultivos de la cohorte 1.

FIGURA 4: EN NUESTRO MODELO DE PSORIASIS EX VIVO LA PSORIASIS EN PLACAS CRÓNICA, CON ASLOS ELEVADAS PERO SIN ANTECEDENTE DE INFECCIÓN ESTREPTOCÓCICA RESPONDE DE FORMA DIFERENTE AL EXTRACTO DE *S.PYOGENES*, CON UNA MAYOR PRODUCCIÓN DE IL9 Y UN PREDOMINIO DE RESPUESTA Th1



(A) En los sobrenadantes de cocultivos de linfocitos T CLA+ con células epidérmicas autólogas activados con SE se detectó la producción de IL-9. **(B).** Los pacientes con psoriasis en placas crónica que respondían fuertemente al SE (cohorte 3), con una mayor producción de IL-9, presentaban niveles elevados de antiestreptolisinas **(C)**, a pesar que no referían historia de infección estreptocócica previa o recurrente. **(D)** Los cocultivos de la cohorte 1 activados con SE presentaban una mayor respuesta Th17 (dado que los valores de IL17a producida era mayor que la de IFN-γ), mientras que en los cocultivos de los pacientes de la cohorte 3, la activación por SE dio lugar a una mayor respuesta Th1.

Conclusión

Estos resultados sugieren que el estreptococo induce una respuesta inmune Th17 en pacientes con psoriasis portadores de HLA-Cw6 con antecedente de la infección faringo-amigdalar estreptocócica, que sería predominante en las formas eruptivas tipo gota pero que al cronificarse la psoriasis se combinaría con otros perfiles de respuesta inmune tales como Th1 y Th9.

AGRADECIMIENTOS: Este estudio ha estado financiado con la beca FIS/ISCIII 2013 (Ministerio de Economía y Competitividad e Instituto de Salud Carlos III).

Hospital del Mar

Parc de Salut MAR Barcelona