

## INMUNOPATOLOGÍA DE LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE

FRANCISCO J. QUINTANA<sup>1</sup>, SOLEDAD PÉREZ-SÁNCHEZ<sup>2</sup> Y MAURICIO F. FAREZ<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Center for Neurologic Diseases, Department of Neurology, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, USA, <sup>2</sup>Unidad de Esclerosis Múltiple, Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla, España, <sup>3</sup>Instituto de Investigaciones Neurológicas Dr. Raúl Carrea, FLENI, Buenos Aires, Argentina

**Resumen** La esclerosis múltiple es una enfermedad inflamatoria desmielinizante que afecta el sistema nervioso central y que es considerada una de las principales causas de discapacidad en jóvenes adultos. Las causas de la esclerosis múltiple son aún desconocidas, aunque se cree que una combinación de factores genéticos y ambientales resulta en una respuesta autoinmune que promueve la degeneración neuronal/axonal. En esta revisión se analiza la asociación entre la respuesta inmune y la neurodegeneración en la esclerosis múltiple.

**Palabras clave:** esclerosis múltiple, patogénesis

**Abstract** *Immunopathology of multiple sclerosis.* Multiple sclerosis is an inflammatory demyelinating disease affecting the central nervous system and considered one of the leading causes of disability in young adults. The precise cause of multiple sclerosis is unknown, although the current evidence points towards a combination of genetic and environmental factors leading to an autoimmune response that promotes neuronal degeneration. In this review, we will describe the association between the immune response and neurodegeneration in multiple sclerosis.

**Key words:** multiple sclerosis, pathogenesis

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad inflamatoria desmielinizante que afecta el sistema nervioso central (SNC) y es una de las principales causas de discapacidad en adultos jóvenes. En el 85% de los casos, la enfermedad se manifiesta inicialmente con un curso de brotes seguidos de remisiones totales o parciales, etapa denominada esclerosis múltiple con recaídas y remisiones (EMRR), y es la fase de la enfermedad que mejor respuesta clínica presenta a las intervenciones terapéuticas disponibles. Eventualmente, el curso clínico de la enfermedad evoluciona, mostrando un deterioro neurológico progresivo independiente de las recaídas y remisiones con una respuesta limitada a los tratamientos, y se denomina esclerosis múltiple secundaria progresiva (EMSP). Finalmente, en un grupo reducido de pacientes la enfermedad presenta desde su diagnóstico un curso de deterioro progresivo de la función neurológica, referido como esclerosis múltiple progresiva primaria (EMPP).

La EM se caracteriza por la presencia en el SNC de lesiones (placas) inflamatorias desmielinizadas que se caracterizan por la disrupción de la barrera hematoencefálica, inflamación, desmielinización, pérdida de oligodendrocitos, gliosis reactiva y degeneración neuronal/axonal<sup>1-3</sup>, siendo esta última la causa más importante de discapacidad neurológica en la EM<sup>4</sup>. En esta revisión analizaremos la asociación entre la respuesta inmune y la neurodegeneración en la EM, enfocándonos en los mecanismos efectores de la respuesta inmune.

### Mecanismos inmunopatológicos en la esclerosis múltiple

#### Células T CD4<sup>+</sup>

Las terapias que impiden la entrada de células T al SNC, como el natalizumab<sup>5-7</sup> o que inhiben la salida de células T de los nódulos linfáticos (fingolimod)<sup>8-11</sup> tienen fuertes efectos terapéuticos en la EMRR. La administración del alemtuzumab, un anticuerpo anti-CD52 que elimina células T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> de la circulación, resulta en una significativa disminución en los brotes y las nuevas lesiones<sup>8-11</sup>. Estas observaciones sugieren que las células T juegan un rol importante en esta etapa de la enfermedad.

Recibido: 20-VIII-2014

Aceptado: 08-IX-2014

**Dirección postal:** Francisco J. Quintana, Center for Neurologic Diseases, Harvard Medical School, 77 Avenue Louis Pasteur, HIM 714, Boston, MA 02115, USA  
 Fax: (001) 617 525 5305 e-mail: fquintana@rics.bwh.harvard.edu

Entre las más importantes células T CD4<sup>+</sup> efectoras involucradas en la patología de la EM se encuentran las células Th1 y Th17. Las células Th1 se diferencian en respuesta a la activación en presencia de la interleuquina 12 (IL-12), y se caracterizan por la expresión del factor de transcripción Tbet, el cual controla un programa de expresión génica que resulta en la producción interferón gamma (IFN $\gamma$ ) y otras moléculas efectoras<sup>12, 13</sup> (Fig. 1). Las células Th17 se diferencian en respuesta a la activación en presencia del factor de crecimiento transformante  $\beta$  1 (TGF $\beta$ 1), IL-6 o IL-21 e IL-23, y se caracterizan por la expresión del factor de transcripción ROR $\gamma$ t, que controla un programa de expresión génica que resulta en la expresión de IL-17 y otras moléculas efectoras<sup>14-16</sup>.

Las células Th1 y Th17 contribuyen por distintos mecanismos a la patología de la EM. A pesar de que otras células del sistema inmune pueden producirlas, IFN $\gamma$  e IL-17, citoquinas clásicamente usadas para definir a las

células Th1 y Th17 respectivamente, tienen efectos directos en la patología de la EM. Panitch y colaboradores administraron IFN $\gamma$  a 18 pacientes con EMRR y observaron la inducción de brotes en 7 de esos pacientes<sup>17, 18</sup>, sugiriendo que el IFN $\gamma$  contribuye a la patología de la EM. Por otra parte, la administración de secukinumab (en fase IIa, un anticuerpo que neutraliza la IL-17), reduce significativamente el número de lesiones en el SNC y muestra una tendencia a disminuir el número de brotes durante 6 meses<sup>19, 20</sup>.

Cabe destacar que las células Th1 y Th17 también promueven la activación de microglia, macrófagos, astrocitos y linfocitos B a través de la producción de citoquinas y factores de crecimiento, activando consecuentemente mecanismos adicionales neurodegenerativos. Por ejemplo, las células Th1 y Th17 producen GM-CSF, el cual activa funciones neurodegenerativas en microglia<sup>21-23</sup>. Finalmente la proteína podoplanina, producida por las

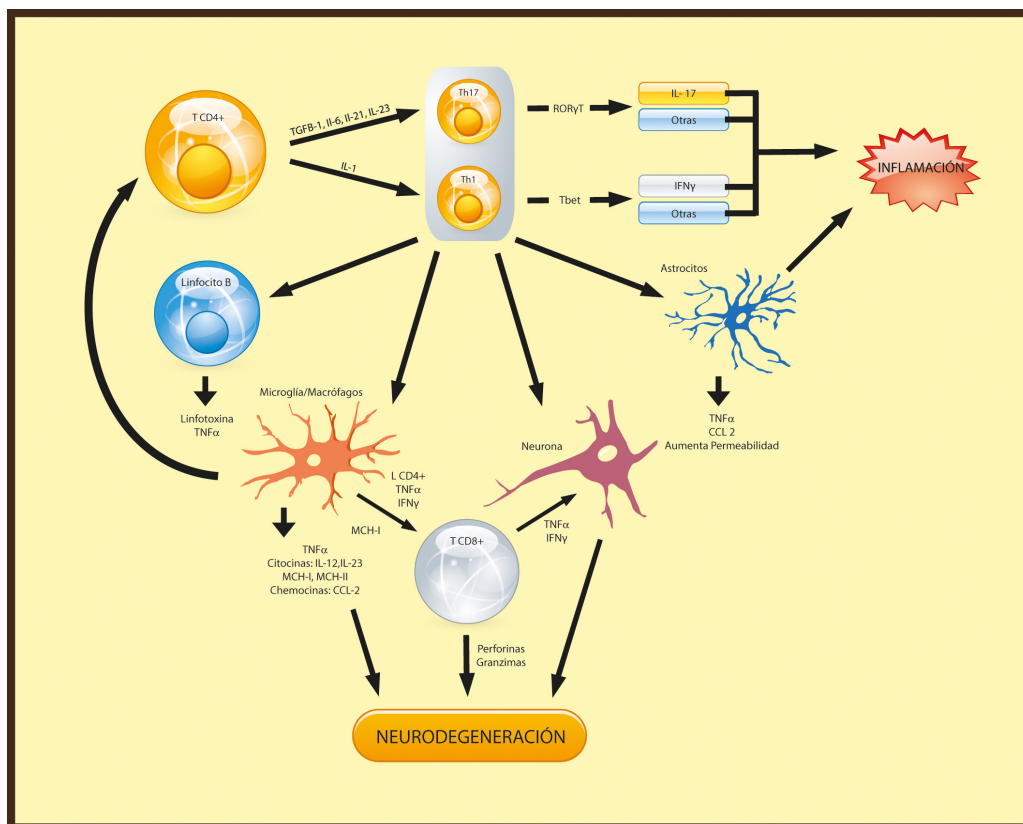


Fig. 1.- Vías inmunológicas en la inflamación y neurodegeneración de la EM. La activación de células T CD4<sup>+</sup> por las células presentadoras de antígenos y en presencia de diversas citoquinas, lleva a su diferenciación a varios subtipos, entre ellos las células Th1 y Th17, que a través de la secreción de citoquinas, estimulación de microglia y astrocitos, llevan a la formación de la placa desmielinizada. A su vez, la activación de microglia y astrocitos, junto con la activación de las células T CD8<sup>+</sup> a través de varios mecanismos, llevan a un mayor daño axonal y eventualmente contribuyen con la neurodegeneración observada en la EM.

TGF $\beta$ -1: *transforming growth factor beta 1*; TNF: *tumor necrosis factor*; IFN: interferón; MCH: Complejo mayor de histocompatibilidad.

células Th17, promueve la formación de nódulos linfáticos terciarios en el SNC en los cuales se establecen y diferencian células productoras de anticuerpos<sup>24, 25</sup>.

#### Células T CD8<sup>+</sup>

Las células CD8<sup>+</sup> son 3-10 veces más abundantes que las CD4<sup>+</sup> en placas crónicamente inflamadas en el CNS de enfermos con EM<sup>26-29</sup>. El daño axonal correlaciona más fuertemente con el número de células T CD8<sup>+</sup> y microglia/macrófagos que con las CD4<sup>+</sup><sup>30, 31</sup>. De hecho, las células T CD8<sup>+</sup> se localizan y expanden clonalmente tanto en las lesiones perivasculares del CNS en MS como en el parénquima, mientras que las células T CD4<sup>+</sup> están mayoritariamente restringidas a las regiones perivasculares<sup>26, 32</sup>. Además, las células T CD8<sup>+</sup> inducen muerte neuronal en cultivo<sup>33, 34</sup>. Estas observaciones sugieren que las células CD8<sup>+</sup> también participan en la patología de la EM<sup>29</sup>.

Las células T CD8<sup>+</sup> interactúan con células que expresan el complejo mayor de histocompatibilidad de clase I (MHC I), el cual es expresado por todas las células nucleadas<sup>32</sup>, formando una sinapsis inmunológica establecida por las moléculas de adhesión LFA-1 e ICAM-1<sup>29</sup>. Diversos mecanismos están involucrados en la destrucción de neuronas por células T CD8<sup>+</sup>. La citotoxicidad por células T CD8<sup>+</sup> es mediada *in vivo* mayoritariamente por dos mecanismos: 1) La secreción de gránulos líticos que contienen perforina y granzimas, las cuales pueden disparar la ruptura de la membrana celular y/o apoptosis. 2) La interacción de FasL con Fas expresado en neuronas<sup>34, 35</sup>. Diferencias en la intensidad de la interacción MHC/TCR favorecen el uso de un mecanismo específico de citotoxicidad<sup>29</sup>. Sin embargo, es probable que *in vivo* todos estos mecanismos contribuyan a los efectos patogénicos de las células T CD8<sup>+</sup> en neuronas.

En el contexto de la neuroinflamación, es importante considerar que las células T CD8<sup>+</sup> producen también grandes cantidades de TNF $\alpha$  e IFN $\gamma$ . El TNF $\alpha$  altera directamente la estructura y funcionalidad de la membrana neuronal, interfiriendo con la funcionalidad de las neuronas<sup>36, 37</sup> e induciendo su apoptosis<sup>38, 39</sup>. El IFN $\gamma$  modula la actividad del receptor AMPA GluR1, incrementando la muerte neuronal por excitotoxicidad<sup>40</sup>. Finalmente, células T CD8<sup>+</sup> que producen IL-17 también han sido identificados en el SNC de pacientes con EM, sugiriendo que la IL-17 producida por estas poblaciones celulares también participa en la patogenia de la enfermedad y a los efectos terapéuticos del secukinumab.

#### Células B

Los resultados clínicos positivos observados con el uso de rituximab para el tratamiento de la EM, un anticuerpo monoclonal anti-CD20 que elimina los linfocitos B circu-

lantes, sugieren que las células B juegan un importante rol en la patología de la enfermedad<sup>41</sup>. Curiosamente, el tratamiento con rituximab reduce el número de células B, pero no las bandas oligoclonales o la concentración de anticuerpos en el SNC, lo que sugiere que los efectos beneficiosos del tratamiento están asociados a la depleción de linfocitos B y no a la modificación de los niveles de autoanticuerpos. Como resultado de estas observaciones, se considera que el principal aporte de las células B a la patología de la EM es a través de la producción de citoquinas pro-inflamatorias como la linfotoxina y el TNF $\alpha$ , y su capacidad de actuar como células presentadoras de antígeno para activar células T. Esta hipótesis es respaldada por la disminución en la frecuencia de células patogénicas Th1 y Th17 observada en enfermos tratados con rituximab<sup>42, 43</sup>.

A pesar que los efectos terapéuticos del rituximab no están asociados a la eliminación de anticuerpos, autoanticuerpos reactivos con el SNC participan en la patología de la EM en determinadas subpoblaciones de enfermos. Anticuerpos dirigidos contra epítopes conformacionales de proteínas de mielina son detectados en pacientes con EM, inclusive en etapas muy tempranas de la enfermedad<sup>25, 44-47</sup>. La patogenia de estos anticuerpos ha sido demostrada en diversos sistemas experimentales<sup>48, 49</sup>.

Las observaciones antes mencionadas sugieren efectos patogénicos directos de autoanticuerpos en la progresión de la enfermedad. Sin embargo, además de su potencial contribución a la patología de la EM, los anticuerpos ofrecen una ventana para estudiar la respuesta inmune y su respuesta al tratamiento: nuestro grupo ha demostrado que el estudio de la respuesta de anticuerpos usando microchips de antígenos permite la estratificación de los pacientes con EM, el análisis de la respuesta inmune local en el SNC y el monitoreo de la respuesta al tratamiento<sup>44</sup>.

#### Microglia y macrófagos inflamatorios

La microglia, los macrófagos residentes del SNC, constituyen aproximadamente el 10% de las células del SNC<sup>50</sup>. Las células de la microglia se encuentran constantemente abocadas a la remoción de desechos celulares y a la detección de patógenos en el SNC. Al activarse en respuesta a lesiones, inflamación o infecciones, la microglia cambia su aspecto morfológico tomando un aspecto ameboso, y aumenta la expresión de marcadores de superficie típicamente asociados a macrófagos como F4/80 y Mac-1. Sin embargo, el estímulo específico involucrado (citoquinas, agonistas de receptores tipo Toll) determina el fenotipo funcional que toma la microglia luego de su activación: este fenotipo puede ser pro-inflamatorio (fenotipo M1) o anti-inflamatorio y asociado al remodelado de tejidos y cicatrización (fenotipo M2)<sup>51, 52</sup>. Estos fenotipos están

asociados a programas transcripcionales específicos<sup>53</sup> pero, sin embargo, representan extremos de espectro de posibles fenotipos interconvertibles *in vivo*.

En los estadios tempranos de EM, grupos de microglia activada y macrófagos periféricos reclutados al SNC pueden identificarse en las lesiones co-localizadas con daño axonal y neuronal<sup>54, 55</sup>. La microglia y los macrófagos son activados por citoquinas producidas por las células T y también por productos de la degradación de mielina<sup>56, 57</sup>. La activación de células de microglia y macrófagos resulta en la producción de citoquinas, chemoquinas y metabolitos que regulan directa e indirectamente la neurodegeneración en la EM<sup>50, 51, 58, 59</sup>. La chemoquina CCL-2 producida por microglia activada, por ejemplo, afecta la integridad de la barrera hematoencefálica y atrae macrófagos periféricos al SNC. A su vez, ya reclutados al SNC, los macrófagos pueden adquirir también un fenotipo pro-inflamatorio (M1) que promueve la neurodegeneración. La microglia y los macrófagos M1 producen las citoquinas IL-12 e IL-23, las cuales contribuyen a la diferenciación de células Th1 y Th17 respectivamente. Además, las células de la microglia y los macrófagos expresan moléculas MHC I y MHC II junto con moléculas co-estimuladoras CD40, CD80, CD86, lo que les permite reactivar células T en el SNC, promoviendo la diferenciación de células patogénicas Th1 y Th17.

La microglia y macrófagos producen también moléculas con directa actividad neurotóxica. El TNF $\alpha$  induce apoptosis en neuronas y también actúa en forma autócrina para promover la secreción de glutamato, incrementando la muerte neuronal causada por excitotoxicidad<sup>60</sup>. La IL-1 $\beta$  también tiene actividades neurotóxicas, e induce la producción de óxido nítrico (ON), que junto con las especies reactivas de oxígeno (ERO), favorece la neurotoxicidad.

#### Astrocitos

Los astrocitos constituyen el más abundante y diverso tipo de células de la glía en el SNC, a cargo de importantes funciones metabólicas e inmunológicas<sup>61</sup>. Los astrocitos perivasculares presentan un daño significativo en lesiones activas en EM; este daño sugiere que las disfunciones en la barrera hematoencefálica que caracterizan la enfermedad están asociadas a defectos en la funcionalidad de astrocitos<sup>62</sup>. Durante el curso de la EM, distintos estímulos como citoquinas y productos de degradación de la mielina producen la activación de los astrocitos, resultando en la producción de citoquinas y chemoquinas que promueven la respuesta inflamatoria en el SNC<sup>57, 61-63</sup>.

Los astrocitos son una fuente importante de la chemoquina CCL-2, que recluta macrófagos inflamatorios al SNC, y también de TNF $\alpha$ , que promueve la apoptosis en neuronas<sup>57, 61-63</sup>. Los astrocitos producen cantidades biológicamente significativas de ON, ERO, glutamato y ATP en las lesiones en EM<sup>62</sup>, que al interferir con la acti-

vidad mitocondrial en neuronas promueven la pérdida de axones y neuronas. La secreción de ATP tiene también importantes efectos para la regulación de la respuesta inmune, activando respuestas pro-inflamatorias en distintos tipos celulares como microglia y células dendríticas<sup>64, 65</sup> y disparando además efectos neurotóxicos directos<sup>66</sup>. La secreción de glutamato, acompañada de una reducida capacidad de limitar los niveles extracelulares de glutamato observada en astrocitos en EM, resulta en un incremento en la muerte neuronal inducida por exitotoxicidad<sup>57, 67</sup>.

Finalmente, los astrocitos regulan la actividad de otras células involucradas en la inmunopatología de la EM, influenciando la actividad de oligodendrocitos, células T, microglia y macrófagos, células B, células dendríticas, células NK y células T  $\gamma\delta$ <sup>68</sup>.

#### Oligodendrocitos

Los oligodendrocitos (OLs) son células de la glía que controlan la producción y mantenimiento de la mielina en el SNC<sup>69</sup>. Los OLs se diferencian a partir de las células precursoras de OLs (OPC) durante las primeras etapas del desarrollo, aunque las OPCs mantienen su capacidad de diferenciación en OLs en el SNC adulto<sup>69</sup> (Fig. 2). De hecho, las OPCs tienen la capacidad de proliferar y diferenciarse en respuesta a distintos estímulos tóxicos, traumáticos o inflamatorios, pero esta capacidad se pierde gradualmente durante el envejecimiento<sup>70</sup>. Sin embargo, diversas vías de señalización regulan positiva y negativamente la diferenciación de OLs<sup>69</sup>. La regulación de dichas vías es considerada una potencial estrategia terapéutica para promover la remielinización en EM y detener y revertir la disfunción neurológica.

LINGO-1 es una glicoproteína de superficie expresada en neuronas y OLs que inhibe la diferenciación de OLs y la mielinización a través de su interacción con los receptores NgR1. Consecuentemente, nuevas terapias están siendo desarrolladas para promover la remielinización en EM basadas en el bloqueo de las vías de señalización activadas por LINGO-1. Un anticuerpo monoclonal neutralizante contra LINGO-1 (BIIB033) se encuentra actualmente en ensayo clínico para el tratamiento de EMRR<sup>71</sup>. La sirtuina-1 también tiene un efecto inhibitorio en la remielinización, sugiriendo que terapias dirigidas a bloquear sirtuina-1 pueden promover la remielinización en EM.

Entre las vías activadoras naturales de la remielinización se encuentran el retinol y sus receptores gamma<sup>72</sup>. Factores de crecimiento como la neuregulina o BDNF también pueden promover la mielinización<sup>73</sup>. El conocimiento de todas las vías y moléculas implicadas en el complejo proceso de remielinización son esenciales para desarrollar dianas terapéuticas y restablecer la funcionalidad de las lesiones desmielinizadas.

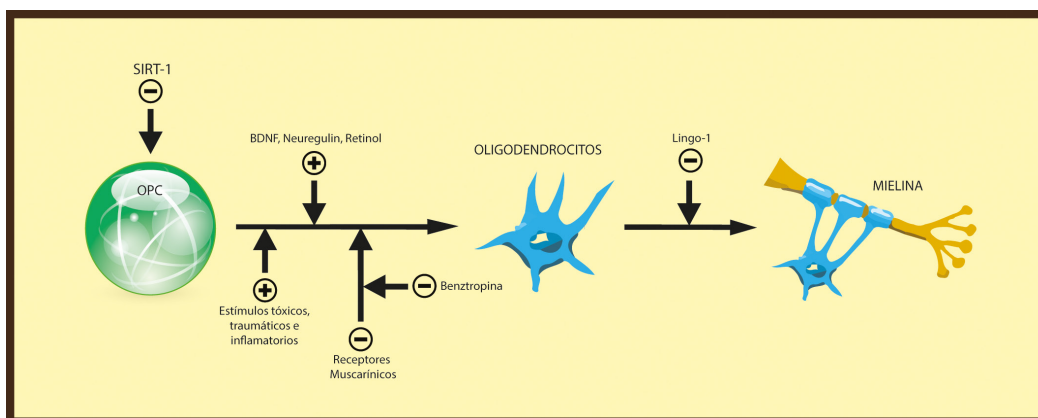


Fig. 2.– Mecanismos de regulación de la remielinización en la EM. Vías de señalización que regulan positiva (BDNF, neuregulina, retinol, diversos estímulos tóxicos y traumáticos) y negativamente (sirtuina-1, receptores muscarínicos) la diferenciación de OPCs en OLs. LINGO-1 inhibe la diferenciación de OLs y la mielinización a través de su interacción con receptores NgR1.

SIRT-1: sirtuina-1; OPCs; OLs: Células precursoras de oligodendrocitos; oligodendrocitos BDNF: factor neurotrófico derivado del cerebro; Lingo-1(o LINGO-1): *Leucine rich repeat and Ig domain containing 1*.

La neurodegeneración y la inflamación están intrínsecamente ligadas al curso de la EM. La activación desmedida del sistema inmune promueve la neurodegeneración, y el daño neuronal resulta en la liberación de nuevos epítopes antigénicos y moléculas pro-inflamatorias que aumentan y perpetúan la respuesta inmune en el SNC. Estas observaciones sugieren que el tratamiento efectivo de los pacientes con EM requiere el control tanto del componente neurodegenerativo como del componente inflamatorio de la enfermedad. Las intervenciones terapéuticas disponibles en la actualidad modulan principalmente los aspectos inmunológicos de la enfermedad, y dentro de ellos solo aquellos relacionados con la respuesta inmune adaptativa (células B y T), generalmente en una forma antígeno inespecífica. El reto para nuevas terapias de la EM es la inducción de tolerancia inmune antígeno-específica, por ejemplo a través del uso de protocolos de tolerización con péptidos<sup>74, 75</sup>, vacunas de ADN<sup>76-82</sup> o nanopartículas<sup>83, 84</sup>. Además, las futuras terapias para la EM deben estar dirigidas también a controlar los componentes innatos del sistema inmune (microglía, macrófagos, astrocitos)<sup>57, 63, 67</sup> y a promover la remielinización. Un enfoque terapéutico combinado, que controle los componentes inflamatorios y neurodegenerativos de la enfermedad, y monitoree su respuesta al tratamiento mediante el análisis continuado de biomarcadores, es necesario para optimizar el tratamiento de la EM.

**Conflicto de intereses:** Los autores declaran no tener conflicto de intereses

## Bibliografía

1. Lassmann H, van Horssen J, Mahad D. Progressive multiple sclerosis: pathology and pathogenesis. *Nature Reviews Neurol* 2012; 8: 647-56.
2. Popescu BFG, Lucchinetti CF. Pathology of demyelinating diseases. *Ann Rev Pathol Mechanisms of Disease* 2012; 7: 185-217.
3. Trapp BD, Stys PK. Virtual hypoxia and chronic necrosis of demyelinated axons in multiple sclerosis. *Lancet Neurology* 2009; 8: 280-91.
4. Frohman EM, Racke MK, Raine CS. Multiple sclerosis -the plaque and its pathogenesis. *N Engl J Med* 2006; 354: 942-55.
5. Havrdova E, Galetta S, Hutchinson M, et al. Effect of natalizumab on clinical and radiological disease activity in multiple sclerosis: a retrospective analysis of the Natalizumab Safety and Efficacy in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis (AFFIRM) study. *Lancet Neurol* 2009; 8: 254-60.
6. Niino M, Bodner C, Simard ML et al. Natalizumab effects on immune cell responses in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2006; 59: 748-54.
7. Polman CH, O'Connor PW, Havrdova E, et al. A randomized, placebo-controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2006; 354: 899-910.
8. Cohen JA, Barkhof F, Comi G, et al. Oral fingolimod or intramuscular interferon for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2010; 362: 402-15.
9. Kappos L, Radue EW, O'Connor P, et al. Oral fingolimod (FTY720) for relapsing multiple sclerosis. *New Engl J Med* 2006; 355: 1124-40.
10. Kappos L, Radue EW, O'Connor P, et al. A placebo-controlled trial of oral fingolimod in relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2010; 362: 387-401.
11. Mehling M, Hilbert P, Fritz S, et al. Antigen-specific adaptive immune responses in fingolimod-treated multiple sclerosis patients. *Ann Neurol* 2011;69: 408-13.
12. O'Garra A, Murphy KM. From IL-10 to IL-12: how pathogens and their products stimulate APCs to induce T(H)1 development. *Nature Immunol* 2009; 10: 929-32.
13. Szabo SJ, Sullivan BM, Peng SL, Glimcher LH. Molecular

- mechanisms regulating Th1 immune responses. *Annu Rev Immunol* 2003; 21: 713-58.
14. Korn T, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK. IL-17 and Th17 Cells. *Annu Rev Immunol* 2009; 27: 485-517.
  15. Miossec P, Korn T, Kuchroo VK. Interleukin-17 and type 17 helper T cells. *N Engl J Med* 2009; 361: 888-98.
  16. Sie C, Korn T, Mitsdoerffer M. Th17 cells in central nervous system autoimmunity. *Exp Neurol*, doi:10.1016/j.expneurol.2014.03.009 (2014) (in the press).
  17. Panitch HS, Hirsch RL, Haley AS, Johnson KP. Exacerbations of multiple sclerosis in patients treated with gamma interferon. *Lancet* 1987; 1: 893-5.
  18. Panitch HS, Hirsch RL, Schindler J, Johnson KP. Treatment of multiple sclerosis with gamma interferon: exacerbations associated with activation of the immune system. *Neurology* 1987; 37: 1097-1102.
  19. Deiss A, Brecht I, Haarmann A, Buttmann M. Treating multiple sclerosis with monoclonal antibodies: a 2013 update. *Expert Rev Neurotherapeutics* 2013; 13: 313-35.
  20. Fernández Ó, Arnal-García C, Arroyo-González R, et al. Review of the novelties presented at the 28th Congress of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis (ECTRIMS) (III). *Revista de Neurología* 2013; 57: 317-29.
  21. Codarri L, Gyölvézi G, Tosevski V, et al. ROR $\gamma$ mat drives production of the cytokine GM-CSF in helper T cells, which is essential for the effector phase of autoimmune neuroinflammation. *Nature Immunol* 2011; 12: 560-7.
  22. El-Behi M, Ciric B, Dai H, Yan Y, et al. The encephalitogenicity of T(H)17 cells is dependent on IL-1- and IL-23-induced production of the cytokine GM-CSF. *Nature Immunol* 2011; 12: 568-75.
  23. Ponomarev ED, Shriver LP, Maresz K, Pedras-Vasconcelos J, Verthelyi D, Dittel BN. GM-CSF production by autoreactive T cells is required for the activation of microglial cells and the onset of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol* 2007; 178: 39-48.
  24. Peters A, Pitcher LA, Sullivan JM, et al. Th17 cells induce ectopic lymphoid follicles in central nervous system tissue inflammation. *Immunity* 2011; 35: 986-96.
  25. Quintana FJ, Farez MF, Izquierdo G, Lucas M, Cohen IR, Weiner HL. Antigen microarrays identify CNS-produced autoantibodies in RRMS. *Neurology* 2012; 78: 532-9.
  26. Babbe H, Roers A, Waisman A, Lassmann H, et al. Clonal expansions of CD8(+) T cells dominate the T cell infiltrate in active multiple sclerosis lesions as shown by micromanipulation and single cell polymerase chain reaction. *J Exp Med* 2000; 192: 393-404.
  27. Booss J, Esiri MM, Tourtellotte WW, Mason DY. Immunohistological analysis of T lymphocyte subsets in the central nervous system in chronic progressive multiple sclerosis. *J Neurol Sciences* 1983; 62: 219-32.
  28. Hauser SL, Bhan AK, Gilles F, Kemp M, Kerr C, Weiner HL. Immunohistochemical analysis of the cellular infiltrate in multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 1986; 19: 578-87.
  29. Melzer N, Meuth SG, Wiendl H. CD8+ T cells and neuronal damage: direct and collateral mechanisms of cytotoxicity and impaired electrical excitability. *FASEB J* 2009; 23: 3659-73.
  30. Bitsch A, Schuchardt J, Bunkowski S, Kuhlmann T, Bruck W. Acute axonal injury in multiple sclerosis. Correlation with demyelination and inflammation. *Brain* 2000; 123: 1174-83.
  31. Kuhlmann T, Lingfeld G, Bitsch A, Schuchardt J, Bruck W. Acute axonal damage in multiple sclerosis is most extensive in early disease stages and decreases over time. *Brain* 2002; 125: 2202-12.
  32. Neumann H, Cavalie A, Jenne DE, Wekerle H. Induction of MHC class I genes in neurons. *Science* 1995; 269: 549-52.
  33. Luessi F, Siffrin V, Zipp F. Neurodegeneration in multiple sclerosis: novel treatment strategies. *Exp Rev Neurotherapeutics* 2012; 12: 1061-77.
  34. Medana IM, Gallimore A, Oxenius A, Martinic MM, Wekerle H, Neumann H. MHC class I-restricted killing of neurons by virus-specific CD8+ T lymphocytes is effected through the Fas/FasL, but not the perforin pathway. *Eur J Immunol* 2000; 30: 3623-33.
  35. Giuliani F, Goodyer CG, Antel JP, Yong VW. Vulnerability of human neurons to T cell-mediated cytotoxicity. *J Immunol* 2003; 171: 368-79.
  36. Baldwin RL, Stolowitz ML, Hood L, Wisniewski BJ. Structural changes of tumor necrosis factor alpha associated with membrane insertion and channel formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 1021-6.
  37. Kagan BL, Baldwin RL, Munoz D, Wisniewski BJ. Formation of ion-permeable channels by tumor necrosis factor-alpha. *Science* 1992; 255: 1427-30.
  38. Venters HD, Dantzer, Kelley KW. Tumor necrosis factor-alpha induces neuronal death by silencing survival signals generated by the type I insulin-like growth factor receptor. *Ann New York Acad Sci* 2000; 917: 210-20.
  39. Venters HD, Dantzer R, Kelley KW. A new concept in neurodegeneration: TNFalpha is a silencer of survival signals. *Trends Neurosciences* 2000; 23: 175-80.
  40. Mizuno T, Zhang G, Takeuchi H, et al. Interferon-gamma directly induces neurotoxicity through a neuron specific, calcium-permeable complex of IFN-gamma receptor and AMPA GluR1 receptor. *FASEB J* 2008; 22: 1797-1806.
  41. Hauser SL, Waubant E, Arnold DL, et al. B-cell depletion with rituximab in relapsing-remitting multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2008; 358: 676-88.
  42. Bar-Or A, Fawaz L, Fan B, et al. Abnormal B-cell cytokine responses a trigger of T-cell-mediated disease in MS? *Ann Neurol* 2010; 67, 452-61.
  43. Piccio L, Naismith RT, Trinkaus K et al. Changes in B- and T-lymphocyte and chemokine levels with rituximab treatment in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2010; 67: 707-14.
  44. Yeste A, Quintana FJ. Antigen microarrays for the study of autoimmune diseases. *Clin Chem* 2013; 59: 1036-44. Quintana FJ, Yeste A, Weiner HL, Covacu R. Lipids and lipid-reactive antibodies as biomarkers for multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2012; 248: 53-7.
  45. Quintana FJ, Patel B, Yeste A, et al. Epitope spreading as an early pathogenic event in pediatric multiple sclerosis. *Neurology*. In press.
  46. Quintana FJ, Farez MF, Viglietta V, et al. Antigen microarrays identify unique serum autoantibody signatures in clinical and pathologic subtypes of multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 18889-94.
  47. Aslam M, Kalluri SR, Cepok S, et al. The antibody response to oligodendrocyte specific protein in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2010; 221: 81-6.
  48. Chan A, Decard BF, Franke C, et al. Serum antibodies to conformational and linear epitopes of myelin oligodendrocyte glycoprotein are not elevated in the preclinical phase of multiple sclerosis. *Multiple sclerosis* 2010; 16: 1189-92.
  49. Ransohoff RM, Perry VH. Microglial physiology: unique stimuli, specialized responses. *Ann Review Immunol* 2009; 27: 119-45.
  50. Goldmann T, Prinz M. Role of microglia in CNS autoimmunity. *Clin Dev Immunol* 2013; 2013: 208093.
  51. Mantovani A, Biswas SK, Galdiero MR, Sica A, Locati M. Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodelling. *J Pathology* 2013; 229: 176-85.
  52. Krausgruber T, Blazek K, Smallie T, et al. IRF5 promotes

- inflammatory macrophage polarization and TH1-TH17 responses. *Nature Immunol* 2011; 12: 231-8.
53. Peterson JW, Bo L, Mork S, Chang A, Trapp BD. Transected neurites, apoptotic neurons, and reduced inflammation in cortical multiple sclerosis lesions. *Ann Neurology* 2001; 50: 389-400.
  54. Singh S, Metz I, Amor S, van der Valk P, Stadelmann C, Brück W. Microglial nodules in early multiple sclerosis white matter are associated with degenerating axons. *Acta Neuropathol* 2013; 125: 595-608.
  55. Diestel A, Aktas O, Hackel D, et al. Activation of microglial poly(ADP-ribose)-polymerase-1 by cholesterol breakdown products during neuroinflammation: a link between demyelination and neuronal damage. *J Exp Med* 2003; 198: 1729-40.
  56. Farez MF, Quintana FJ, Gandhi R, Izquierdo G, Lucas M, Weiner HL. Toll-like receptor 2 and poly(ADP-ribose) polymerase 1 promote central nervous system neuroinflammation in progressive EAE. *Nature Immunol* 2009; 10: 958-64.
  57. Hanisch UK. Microglia as a source and target of cytokines. *Glia* 2002; 40: 140-55.
  58. Olson JK, Miller SD. Microglia initiate central nervous system innate and adaptive immune responses through multiple TLRs. *J Immunol* 2004; 173: 3916-24.
  59. Takeuchi H, Jin S, Wang J, et al. Tumor necrosis factor- $\alpha$  induces neurotoxicity via glutamate release from hemichannels of activated microglia in an autocrine manner. *J Biol Chem* 2006; 281: 21362-8.
  60. Sofroniew MV, Vinters HV. Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathol* 2010; 119: 7-35.
  61. Brosnan CF, Raine CS. The astrocyte in multiple sclerosis revisited. *Glia* 2013; 61: 453-65.
  62. Mayo L, Trauger SA, Blain M, et al. B4GALT6 controls astrocyte activation during CNS inflammation. *Nat Med. In press.*
  63. Mascanfroni ID, Yeste A, Vieira SM, et al. IL-27 acts on DCs to suppress the T cell response and autoimmunity by inducing expression of the immunoregulatory molecule CD39. *Nature Immunol* 2013; 14: 1054-63.
  64. Monif M, Burnstock G, Williams DA. Microglia: proliferation and activation driven by the P2X7 receptor. See comment in PubMed Commons below *Int J Biochem Cell Biol* 2010; 42: 1753-6.
  65. Matute C, Torre I, Pérez-Cerdá F, et al. P2X(7) receptor blockade prevents ATP excitotoxicity in oligodendrocytes and ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroscience* 2007; 27: 9525-33.
  66. Basso AS, Frenkel D, Quintana FJ, et al. Reversal of axonal loss and disability in a mouse model of progressive multiple sclerosis. *J Clin Inv* 2008; 118: 1532-43.
  67. Mayo L, Quintana FJ, Weiner HL. The innate immune system in demyelinating disease. *Immunol Rev* 2012; 248: 170-87.
  68. Boulanger JJ, Messier C. From precursors to myelinating oligodendrocytes: Contribution of intrinsic and extrinsic factors to white matter plasticity in the adult brain. *Neuroscience* 2014; 269C: 343-66.
  69. Franklin RJ, Gallo V. The translational biology of remyelination: Past, present, and future. *Glia*. doi:10.1002/glia.22622 (2014). See comment in PubMed Commons below [Epub ahead of print].
  70. Mi S, Pepinsky RB, Cadavid D. Blocking LINGO-1 as a therapy to promote CNS repair: from concept to the clinic. *CNS drugs* 2013; 27: 493-503.
  71. Huang JK, Jarjour AA, Nait Oumesmar B, et al. Retinoid X receptor gamma signaling accelerates CNS remyelination. *Nature Neuroscience* 2011; 14: 45-53.
  72. Lundgaard I, Luzhynskaya A1, Stockley JH, et al. Neuregulin and BDNF induce a switch to NMDA receptor-dependent myelination by oligodendrocytes. *PLoS biology* 2013; 11, e1001743, doi:10.1371/journal.pbio.1001743.
  73. Walczak A, Siger M, Ciach A, Szczepanik M, Selmaj K. Transdermal application of myelin peptides in multiple sclerosis treatment. *JAMA Neurol* 2013; 70: 1105-9.
  74. Wraith DC. Therapeutic peptide vaccines for treatment of autoimmune diseases. *Immunol Lett* 2009; 122: 134-6.
  75. Bar-Or A, Vollmer T, Antel J, et al. Induction of antigen-specific tolerance in multiple sclerosis after immunization with DNA encoding myelin basic protein in a randomized, placebo-controlled phase 1/2 trial. *Arch Neurol* 2007; 64: 1407-15.
  76. Garren H, Robinson WH, Krasulová E, et al. Phase 2 trial of a DNA vaccine encoding myelin basic protein for multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2008; 63: 611-20.
  77. Quintana FJ, Carmi P, Cohen IR. DNA vaccination with heat shock protein 60 inhibits cyclophosphamide-accelerated diabetes. *J Immunol* 2002; 169: 6030-5.
  78. Quintana FJ, Carmi P, Mor F, Cohen IR. Inhibition of adjuvant arthritis by a DNA vaccine encoding human heat shock protein 60. *J Immunol* 2002; 169: 3422-8.
  79. Quintana FJ, Carmi P, Mor F, Cohen IR. DNA fragments of the human 60-kDa heat shock protein (HSP60) vaccinate against adjuvant arthritis: identification of a regulatory HSP60 peptide. *J Immunol* 2003; 171: 3533-41.
  80. Quintana FJ, Carmi P, Mor F, Cohen IR. Inhibition of adjuvant-induced arthritis by DNA vaccination with the 70-kd or the 90-kd human heat-shock protein: immune cross-regulation with the 60-kd heat-shock protein. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 3712-20.
  81. Quintana FJ, Cohen IR. DNA vaccines coding for heat-shock proteins (HSPs): tools for the activation of HSP-specific regulatory T cells. *Expert opinion on biological therapy* 2005; 5: 545-54.
  82. Quintana FJ. Nanoparticles for the induction of antigen-specific Tregs. *Immunotherapy* 2013; 5: 437-40.
  83. Yeste A, Nadeau M, Burns EJ, Weiner HL, Quintana FJ. Nanoparticle-mediated codelivery of myelin antigen and a tolerogenic small molecule suppresses experimental autoimmune encephalomyelitis. *Proc Natl Acad Sciences USA* 2012; 109: 11270-5.