

Hospital Clínico Quirúrgico "Hermanos Ameijeiras"

Patogenía del Lupus Eritematoso Sistémico

*Dra. Elena Kokaína **

* Especialista de 2do. grado en Inmunología

El entendimiento de las enfermedades autoinmunes ha dado pasos de gigantes en la segunda mitad del siglo XX. Hasta el 1937 el Lupus Eritematoso Sistémico (LES) se consideraba una enfermedad dermatológica, luego se convierte en un problema sin solución para los reumatólogos, y mas recientemente ha pasado a ser un apasionante desafío para los inmunólogos, que están comprometidos con descifrar la etiología de esta aún enigmática enfermedad.

Las bases de la naturaleza autoinmune del LES se cimentaron sobre el descubrimiento del fenómeno de las células LE, una consecuencia del recubrimiento por los anticuerpos antinucleares del material nuclear proveniente de células muertas del organismo, dando paso a un valioso método diagnóstico de la enfermedad (1); mas tarde se encontraron anticuerpos antinucleares de diferentes especificidades (2), y la deposición de los complejos de antígeno-anticuerpo en los tejidos. Estos hallazgos condujeron al concepto de inflamación mediada por inmuno-complejos (3). Mas adelante, y lo que parecía paradójico, se demostró que los pacientes con LES a pesar de sus elevados niveles de anticuerpos, respondían pobremente a las inmunizaciones con antígenos

(ags) bacterianos, dando entrever que su sistema inmune esta solamente ocupado en responder a los autoantígenos (4). Se puso de manifiesto además que la inmunidad mediada por células esta afectada en los pacientes con LES (5). Estas fueron las evidencias que consolidaron la clasificación del LES como el prototipo de las enfermedades autoinmunes sistémicas.

NATURALEZA AUTOINMUNE DEL LES

La mejor prueba de la etiología autoinmune de una enfermedad es poder reproducirla en un receptor normal por la transferencia de los autoanticuerpos. Aunque el LES no cumple estrictamente este criterio, pues no ha sido posible reproducirlo ni con la transferencia de los anticuerpos anti-DNA ni con la de los Sm (los anticuerpos mas específicos del LES), hay trabajos experimentales que han demostrado que la transferencia de anticuerpos monoclonales anti-DNA producen GN semejante a la nefritis lupica en el ratón (6). Existe el concepto extendido de que la transferencia transplacental de los anticuerpos anti-Ro y anti-La produce lesiones tí-

picas del lupus cutáneo y bloqueo cardíaco en los recién nacidos de madres enfermas con estos anticuerpos (7). La resolución espontánea de esta enfermedad neonatal coincide con la desaparición de los anticuerpos maternos de la circulación del niño. Sin embargo, la patogenicidad de los anticuerpos anti-Ro y anti-La aun no ha sido demostrada en las madres.

Igualmente, los supuestos autoantígenos del LES, entre ellos el DNA y el Sm, generalmente no han demostrado ser inmunogénicos, puesto que la inmunización con estos, aun con adyuvantes, no ha podido inducir el LES; ni siquiera la producción de anticuerpos anti-DNA en esquemas de inmunizaciones convencionales, al menos que se empleen esquemas de inmunizaciones repetidas y los antígenos nucleares estén acoplados con determinadas proteínas (8). Al respecto, se ha observado que el DNA dañado por irradiación ultravioleta (UV) es mucho mas inmunogenico que el DNA natural, lo que puede explicar las exacerbaciones del LES inducidas por los rayos Ultravioletas (UVA) (9).

La clasificación del LES como una enfermedad autoinmune se debe a la presencia de otros criterios indirectos y circunstanciales, fundamentalmente porque se han encontrado en el LES cerca de 30 especificidades de autoanticuerpos diferentes y es la característica mas sobresaliente de esta enfermedad. Los autoanticuerpos son muy diversos, dirigidos a los antígenos del núcleo, citoplasma, organelos celulares, membranas celulares y otras macromoléculas de la circulación como inmunoglobulinas y fosfolípidos.

A pesar de la riqueza de información que disponemos concerniente a los autoanticuerpos en el LES, solo unos pocos han resultado ser patogénicos. Los anti-DNA han sido los mas señalados y existen varios estudios que han encontrado correlación entre los niveles de estos anticuerpos y las exacerbaciones de la enfermedad lúpica, cuando los pacientes son seguidos serialmente (10). La correlación mas fuerte o el

blanco de preferencia de los anticuerpos anti-DNA es el riñón (11). De las lesiones renales se han obtenido anticuerpos anti-DNA y antinucleosomas, los cuales llegan al glomérulo de distintas maneras: 1) Los inmunocomplejos circulantes formados por DNA-anti-DNA pueden quedar atrapados en la membrana basal glomerular lo que da lugar a las reacciones inflamatorias consiguientes, 2) Los anticuerpos anti-DNA patogénicos pueden reconocer y unirse a distintos componentes de la membrana basal glomerular o a los antígenos adheridos en ese sitio como DNA, nucleosomas, heparan sulfato y laminina, lo que genera los cambios inflamatorios, y 3) Los anti-DNA pueden ejercer un efecto patogénico mas directo sobre el riñón al unirse a la superficie de las células epiteliales de los tubulos renales o pueden penetrar en esas células y dirigirse al núcleo, alterando probablemente la función celular (12).

Fuera del riñón, existen escasas evidencias del papel patogénico de los anticuerpos en las lesiones del LES. Aunque los anticuerpos anti-Ro y anti-La pudieran ser importantes en las lesiones de la piel, estas parecen estar sobre todo mediadas por células T (13). El papel de los anticuerpos tampoco ha podido ser confirmado en las manifestaciones neurológicas; en los tejidos del sistema nervioso no se han encontrado depósitos de inmunoglobulinas, ni tampoco infiltración celular (14). Los análisis efectuados de las artritis, así como de la inflamación pleural y pericárdica no han dejado en claro la participación de mecanismos inmunológicos.

El origen autoinmune del LES también puede deducirse del estudio de los modelos genéticos de esta enfermedad que son los ratones: el híbrido F1(NZB x NZW), el MRL/lpr y gld y el BXSB (15).

Otro criterio importante es la asociación de esta enfermedad con diversos genes de la respuesta inmune, como (Cuadro 1) : con genes del sistema de complemento, pues la deficiencia en las proteínas del complemento entorpece la elimina-

Cuadro N° 1

POSIBLES LOCI DE SUSCEPTIBILIDAD PARA EL LES.**Genes de:**

- , Sistema de complemento: C2, C4, C1q, receptores de complemento 1 y 2, proteína enlazante de la manosa.
- , Complejo mayor de histocompatibilidad (HLA): DR3, DR2, DQ2, DQ6
- , Linfocinas: TNF', receptor del TNF, IL-10, IL-6
- , Fc receptores: FcγRIIA, FcγRIIIA.
- , Apoptosis: Poli(ADP-ribosa) polimerasa, Bcl-2, FasL

ción de inmunocomplejos; con genes de las moléculas de histocompatibilidad (HLA), lo cual probablemente se deba a que determinadas moléculas HLA puedan presentar los autoantígenos mejor que otras para iniciar la respuesta autoinmune; con genes de las citocinas, que son las moléculas de comunicación entre las células inmunes, y entre éstas y otras células inflamatorias, de las cuales depende la activación y la extensión de una respuesta inmune e inflamatoria; con genes de los receptores celulares de las inmunoglobulinas (FcR), por la importancia que tienen estos en la eliminación de los inmunocomplejos; y con genes de la apoptosis, porque estos determinan la sobrevivencia o la muerte de las células autoreactivas (16).

Si bien, estos criterios, en su mayoría circunstanciales o indirectos no definen por sí solos una enfermedad como autoinmune, al menos proveen el incentivo para profundizar las investigaciones.

PROBABLES EVENTOS PATOGENICOS DEL LES

Que sabemos y que nos falta por conocer del LES?

Conocemos las alteraciones funcionales de esta enfermedad que consisten en una exagerada producción de autoanticuerpos de distintas especificidades asociada a la hiper-respuesta o respuesta excesiva de las células B, y una respuesta deficiente de las células T. Pero no sabe-

mos aun cuales son los mecanismos moleculares que dan lugar a estos trastornos, ni tampoco cuales son los genes y los agentes ambientales que los condicionan y en que medida contribuyen cada uno.

La anormalidad funcional que revela el LES es la excesiva actividad de las células productoras de anticuerpos. Se han propuesto diversos mecanismos patogénicos para esta aberración inmune, los cuales serán analizados a continuación.

En condiciones de salud el organismo elimina las células autoinmunes que surgen tanto en los órganos linfoides generativos, como en los periféricos, mediante la muerte fisiológica o apoptosis de estas células potencialmente peligrosas. En esencia, la apoptosis es un proceso de autodigestión celular. Sus moléculas efectoras son unas proteasas, llamadas caspasas, las cuales una vez activadas terminan activando la endonucleasa que fragmenta el DNA celular. La apoptosis es regulada por diversas proteínas que la promueven, llamadas pro-apoptóticas como el ligando de la molécula Fas (FasL), el factor de necrosis tumoral (TNF), y el BH3 (Bim); y otras que la inhiben, que son anti-apoptóticas, como la familia Bcl-2, la FLIP y la BAFF (17). La apoptosis depende también de la IL-2, pues en ratones deficientes de esta citocina se presenta linfoproliferación y autoinmunidad. Recientemente se ha observado que las células carentes de la cadena Z de la molécula CD3 son resistentes a la

apoptosis (18). Se conocen varios ejemplos donde los defectos de genes de la muerte celular conducen a la enfermedad autoinmune. Uno de ellos es el ratón *lpr* que no expresa la molécula de la muerte Fas, y desarrolla extensa proliferación linfóide expresada en la hipertrofia de los órganos linfoides y manifestaciones de autoinmunidad sistémica. El ratón que no expresa la proteína proapoptótica Bim (*Bim*^{-/-}) acumula cantidades anormales de células plasmáticas y desarrolla enfermedad autoinmune renal (19). Igualmente, la expresión transgénica de un gen que evita la muerte celular conduce a la autoinmunidad. El ratón transgénico para la proteína anti-apoptótica Bcl-2 fue la primera prueba experimental de que la inhibición de la muerte celular puede causar una enfermedad autoinmune semejante al LES (20).

La apoptosis tiene un papel central en preservar la tolerancia y prevenir las enfermedades autoinmunes. El primero y uno de los más importantes filtros de las células autoinmunes ocurre en los sitios de su formación por el mecanismo de Selección Negativa, mientras que el mecanismo encargado de eliminar las células autoinmunes que han escapado al primer filtro y han pasado a la periferia es la Muerte Celular Inducida por la Activación (AICD, del inglés: Activation Induced Cell Death). Ambos dependen de la apoptosis. Hasta ahora no se podido atribuir ninguna enfermedad autoinmune a defectos de la Selección Negativa, además el hecho de que las enfermedades autoinmunes no se presentan en el periodo neonatal, ni tampoco en edades tempranas de la vida, le resta protagonismo a este mecanismo. Sin embargo, recientemente se ha conocido que el 77% de los pacientes con LES tienen disminuida expresión de la cadena Z de la molécula CD3; una síntesis disminuida de la cadena Z se ha encontrado también en los pacientes con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) (21). La señal transmitida por la cadena Z del CD3 influye sobre distintos aspectos de la respuesta inmune. Se ha probado que los modelos experimentales con ausencia de esa molécula (CD3Z/-

-) presentan fallos en la Selección Negativa de los timocitos, lo que favorece la salida de las células autoreactivas a la periferia, ocasionando manifestaciones autoinmunes (22).

Por otra parte se sugiere que la eliminación defectuosa de las células autoinmunes en la periferia, consistente en la AICD, podría ser un evento patogénico importante en el desarrollo de enfermedades autoinmunes como el LES, la esclerosis múltiple y la enfermedad inflamatoria intestinal. De hecho, se ha observado que la muerte de los linfocitos activados está disminuida en el LES, lo que pudiera corresponder con que se han encontrado niveles disminuidos del TNF alfa en esta enfermedad (23). Además, la AICD depende de las señales transmitidas por el receptor de las células T (TCR), donde la cadena Z juega un importante papel. Es probable que en el LES la deficiencia combinada del TNF alfa y de la cadena Z pueda contribuir a la defectuosa AICD de manera aditiva. También la AICD depende de la IL-2, que está en defecto en el LES, y pudiera ser el otro factor que impida la eliminación oportuna de las células autoreactivas de la periferia.

La producción incontrolada de anticuerpos pudiera deberse a un desbalance en las subpoblaciones de células T regulatorias a favor de las células Th2, permisivas de la producción de anticuerpos. Esta hipótesis puede estar sustentada por los niveles elevados de IL-6 y IL-10, propias de células Th2, que caracterizan el LES, y el déficit de IL-2 e IFN-gamma, secretados por las Th1. Los resultados alentadores que se han obtenido con la administración terapéutica de los anticuerpos monoclonales frente a la IL-10, los cuales ya han pasado a la clínica, podrían explicarse en base al restablecimiento del equilibrio de células Th1/Th2 que estos inducen (24).

El defecto angular del LES pudiera ser una anomalía intrínseca de las células B. Se sugiere que la hiperactividad de las células B pudiera deberse a alteraciones en la transmisión de la señal de activación por el receptor antigénico de la célula B (BCR). A diferencia de las células B nor-

males, las células B de pacientes con L al ser estimuladas por sus BCR (con anti-IgM o -IgD) responden con liberación excesiva del calcio intracelular, una consistentemente elevada producción de Inositol trifosfato (InsP3) y una producción aumentada de proteínas fosforiladas a nivel de la tirosina (25).

El Ca^{+2} libre es un segundo mensajero que influencia la transcripción de genes a través de la vía de la calcineurina y otros factores nucleares (NFAT, nuclear factor of activated T cells). Entre estos genes esta el gen del ligando de la molécula de membrana CD40 (CD40L), lo que guarda relación con que los linfocitos de los pacientes con LES expresan cantidades elevadas del CD40L en su superficie como producto de una liberación masiva del Calcio intracelular (26). Este ligando se expresa en las células T y B. Entonces es posible que las interacciones entre CD40 y el CD40L ocurran sobre la misma célula B, dando lugar a una estimulación perpetuada de estas células para producir anticuerpos. El bloqueo de estas interacciones mediante la administración de los anticuerpos monoclonales anti-CD40L ha conllevado a una significativa disminución en la producción de los autoanticuerpos patogénicos en modelos experimentales, lo que ha permitido la aplicación de los anticuerpos anti-CD40L en ensayos clínicos (27).

Recientemente se ha acumulado una serie de evidencias que señalan que el evento patogénico básico y de mayor importancia que da lugar al LES es la deficiente eliminación de las células nativas muertas, células apoptóticas. En condiciones normales las células muertas del organismo son fagocitadas por los macrófagos vecinos, por las células de limpieza, sin inducir respuesta inmune, ni inflamación. Se plantea que en el LES, los residuos celulares no se eliminan oportunamente por las células de limpieza y estimulan una respuesta autoinmune que conlleva al daño de tejidos y órganos (28).

Esta hipótesis esta sustentada por el hecho de que el defecto genético de mayor riesgo para

el LES es el déficit de la proteína C1q del complemento (29). Esta proteína es una de las que interviene en el recubrimiento y opsonización del material celular muerto del organismo, para hacerlo mas visible por las células de limpieza. Los ratones con ausencia del gen del C1q presentan glomerulonefritis con depósito de inmunocomplejos y residuos apoptóticos en los glomérulos. Al igual que la ausencia de la SAP (componente P del amiloide sérico), molécula que une y solubiliza la cromatina expuesta por las células apoptóticas, conduce a autoinmunidad y nefritis muy semejante a la nefritis lupica (30).

Las células apoptóticas que no han sido eliminadas oportunamente sufren cambios catabólicos y morfológicos, apareciendo en su superficie unas vesículas o ampollas citoplasmáticas, donde están secuestrados los antígenos nucleares, los cuales también tienen tiempo de someterse a cambios catabólicos y de unirse a otras proteínas, incluso a proteínas virales, si estos coexisten en la célula, o sea, los antígenos nucleares sufren modificaciones en las células muertas tardías (31). Finalmente estas células se hacen accesibles para las células dendríticas (DC), que son las células mas eficientes en activar los linfocitos T e iniciar una respuesta inmune.

Esta hipótesis explica muy bien las agudizaciones del LES con los rayos UV, pues en individuos con defectos en la eliminación de células muertas, la exposición al sol puede resultar en acumulación de las células apoptóticas en un tejido altamente inmunocompetente que contiene gran numero de células dendríticas, como la piel, lo que desencadena la respuesta autoinmune.

Sobre la base de las investigaciones recientes, la patogenia del LES puede describirse como sigue: en circunstancias normales, las células apoptóticas son eliminadas por los macrófagos sin producir respuesta inmune. En cambio, en el LES, los macrófagos tardan o fallan en eliminar tempranamente las células apoptóticas, lo que conlleva a su acumulación. Los antígenos nucleares modificados, derivados de estas células

apoptóticas son atrapados por las DC y las células B. Los autoantígenos procesados por las DC activan a las células T autoreactivas, las cuales le ofrecen ayuda a las células B específicas de antígenos nucleares para la producción de anticuerpos. Este proceso culmina en una producción masiva de anticuerpos antinucleares y formación de inmunocomplejos, los cuales se depositan en diferentes órganos, activando mecanismos efectores humorales a base de complemento, y mecanismos efectores celulares con la participación de granulocitos y macrófagos, lo que ocasiona las lesiones tisulares.

Queda por probar cual o cuales de estas posibles causas de trastornos de la regulación inmune predominan en el LES con vista a seleccionar la terapéutica mas específica y eficaz para esta enfermedad.

BIBLIOGRAFIA

1. Hargraves M, Richmond H, Morton R. Presentation of two bone marrow elements: "Tart cell" and LE cell. *Proc Staff Meetings Mayo Clin* 1948; 23: 25-8.
2. Friou GJ. Antinuclear antibodies: diagnostic significance and methods. *Arthritis Rheum* 1967;10: 151-9.
3. Koffler D, Schur PH, Kunkel HG. Immunological studies concerning the nephritis of systemic lupus erythematosus. *J Exp Med* 1967;126:607-24.
4. Gottlieb AB, Lahita RG, Chiorazzi N, Kunkel HG. Immune function in systemic lupus erythematosus: impairment of in vitro T-cell proliferation and in vivo antibody response to exogenous antigen. *J Clin Invest* 1979;63:885-92.
5. Hahn BH, Bagby MK, Osterland CK. Abnormalities of delayed hypersensitivity in systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 1973;55:25-31.
6. Ehrenstein MR, Katz DR, Griffiths MH. Human IgG anti-DNA antibodies deposit in kidneys and induce proteinuria in SCID mice. *Kidney Int* 1995; 48: 705-11.
7. Buyon JP, Ben-Chetrit E, Karp S, et al. Acquired congenital heart block: pattern of maternal antibody response to biochemically defined antigens of the SSA/Ro-SSB/La system in neonatal lupus. *J Clin Invest* 1989; 84: 627-34.
8. Madaio MP, Hodder S, Schwartz RS, Stollar BD. Responses of autoimmune and normal mice to nucleic acid antigens. *J Immunol* 1984; 132: 872-5.
9. Desai DD, Krishnan MR, Swindle JT, Marion TN. Antigen specific induction of antibodies against native mammalian DNA in nonautoimmune mice. *J Immunol* 1993; 151: 1614-26.
10. Lefkowitz JB, Gilkeson GS. Nephritogenic autoantibodies in lupus. *Arthritis Rheum* 1996;39: 894-903.
11. Lefkowitz JB, Kiehl M, Rubinstein J. Heterogeneity and clinical significance of glomerular binding antibodies in systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest* 1996; 98: 1373-80.
12. Hahn BH. Antibodies to DNA. *N Engl J Med* 1998; 338: 1359-68.
13. Lee LA, Gaither KK, Coulter SN, Norris DA, Harley JB. Pattern of cutaneous immunoglobulin G deposition in subacute cutaneous lupus erythematosus is reproduced by infusing purified anti-Ro (SSA) autoantibodies into human skin-grafted mice. *J Clin Invest* 1989;83:1556-62.
14. Elkon K, Weissbach H, Brot N. Central nervous system function in systemic lupus erythematosus. *Neurochem Res* 1990;15:401-6.
15. Eisenberg R. Mechanisms of systemic autoimmunity in murine models of SLE. *Immunol Res* 1998; 17: 41-7.
16. Gulko PS, Winchester RJ. Genetics of systemic lupus erythematosus. En: Kammer GM, Tsokos GC (eds.), *Lupus: Molecular and cellular pathogenesis*, Humana Press, 1999: 101-23.
17. Vaux DL, Flavell RA. Apoptosis genes and autoimmunity. *Curr Opin Immunol* 2000; 12: 719-24.
18. Vaishnaw AK. Apoptosis in the rheumatic

- diseases. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1917-27.
19. Bouillet P, Metcalf D, Huang DCS, Tarlinton DM, Kay TWH, Kontgen F et al. Proapoptotic Bcl-2 relative Bim required for certain apoptotic responses, leukocyte homeostasis, and to preclude autoimmunity. *Science* 1999; 286: 1735-8.
20. Strasser A, Whittingham S, Vaux DL, Bath ML, Adams JM, Cory S et al. Enforced Bcl-2 expression in B lymphoid cells prolongs antibody responses and elicits autoimmune disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 8661-5.
21. Liossis SN, Tsokos GC, Iliopoulos AG, Kammer GM, Dayal AK. Altered pattern of TCR/CD3-mediated protein-Tyrosyl phosphorylation in T cells from patients with systemic lupus erythematosus. Deficient expression of the T-cell receptor zeta chain. *J Clin Invest* 1998; 101: 1448-57.
22. Shores EW, Love PE. TCR zeta chain in T cell development and selection. *Curr Opin Immunol* 1997; 9: 380-9.
23. Kovacs B. Defective CD3-mediated cell death in activated T cells from patients with systemic lupus erythematosus: role of decreased intracellular TNF-alfa. *Clin Immunol Immunopathol* 1996; 81: 293-302.
24. Llorente L. Clinical and biologic effects of anti-interleukin-10 monoclonal antibody administration in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 1790-8.
25. Tsokos GC, Liossis SN. Immune cell signaling defects in lupus: activation, anergy and death. *Immunol Today* 1999; 20: 119-24.
26. Koshy M, Berger D, Crow MK. Increased expression of CD40 ligand on systemic lupus erythematosus lymphocytes. *J Clin Invest* 1996; 98: 826-37.
27. Illei GG, Klippel JH. Novel approaches in the treatment of lupus nephritis. *Lupus* 1998; 7: 644-8.
28. Herrmann M, Voll RE, Kalden JR. Etiopathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Immunol Today* 2000; 21: 424-6.
29. Petry F. Molecular basis of hereditary C1q deficiency. *Immunobiology* 1998; 199: 286-94.
30. Bickerstaff MC. Serum amyloid P component controls chromatin degradation and prevents antinuclear autoimmunity. *Nat Med* 1999; 5: 694-7.
31. Casciola-Rosen L, Rosen A. Ultraviolet light-induced keratinocyte apoptosis: a potential mechanism for the induction of skin lesions and autoantibody production in LE. *Lupus* 1997; 6: 175-80.