

ARTÍCULO DE REVISIÓN

# Defectos en la síntesis de cadena $\zeta$ en el linfocito T, generando señales intracelulares equivocadas, responsables de lupus eritematoso sistémico

Defects in the synthesis of  $\zeta$  chain in T lymphocytes, generating wrong intracellular signals, responsible for systemic lupus erythematosus

Heber Siachoque M.<sup>1</sup>, Federico Rondón<sup>2</sup>, José Félix Restrepo<sup>3</sup>,  
Ruth Pérez<sup>4</sup>, Antonio Iglesias<sup>3</sup>

*Todos los hombres son aptos para perpetuar la especie;  
la naturaleza forma y escoge aquellos que son dignos de perpetuar la idea.*

José María Vargas Vila

## Resumen

La expresión anormal de moléculas claves en señalización y la función defectuosa de los linfocitos T cumplen un papel significativo en la patogénesis de la enfermedad autoinmune. Las células T muestran numerosas anomalías en la señalización del complejo TCR $\zeta$ <sup>1</sup>, estas aberraciones resultan en la alteración de la expresión de citoquinas. Mientras algunas de estas anomalías explican el aumento de la actividad de células B por células T con incremento de los anticuerpos, la disminución en la producción de IL-2 resulta en un aumento en la susceptibilidad a las infecciones, reducción en la activación de las células T, inducción de la muerte celular y prolongada sobrevivencia de las células T autorreactivas<sup>2</sup>.

**Palabras clave:** lupus, TCR $\zeta$ , CTLA-4, Elf-1, Fc $\gamma$ R, LES, ITAM, UTR, CaMKIV.

## Summary

The abnormal expression of key molecules in signaling and the malfunction of the T cell T have a significant activity in the pathogenesis of the autoimmune disease. The cells T exhibit numerous abnormalities in the signaling of the complex TCR<sup>1</sup>, these aberrations result in the alteration of the cytokines. While some of these abnormalities explain the increase of the activity of cells B for cells T with increment of the antibodies production, the decrease in the production of IL-2 induces an increase in the susceptibility to the infections, diminishing in the activation of the cells T, and expansion of the lifespan of the autorreactive cells<sup>2</sup>.

**Key words:** lupus, TCR $\zeta$ , CTLA-4, Elf-1, Fc $\gamma$ R, LES, ITAM, UTR, CaMKIV.

1. MSc, Coordinador de la unidad de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad del Rosario.

2. MD, Profesor Asociado, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia.

3. MD, Profesor titular, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia.

4. MSc, Profesor asistente, Facultad de Medicina, Universidad del Rosario.

Correspondencia: Heber Siachocho: hsiachocho@hotmail.com

Recibido: 16 de marzo de 2010.

Aceptado: 14 de octubre de 2010.

## 1. Papel de los linfocitos en la síntesis de anticuerpos y su importancia en el desencadenamiento de la enfermedad autoinmune

Los autoanticuerpos se pueden encontrar en personas sanas sin causar daño y pueden jugar un papel protector. Los autoanticuerpos patogénicos en pacientes con enfermedades autoinmunes (EAI) tienen propiedades particulares que permiten causar la enfermedad; investigación clínica y estudios en laboratorio con modelos murinos demuestran que anticuerpos IgG de alta afinidad que se unen a DNA de doble cadena causan más daño tisular que los anticuerpos de la clase IgM. La producción de estos anticuerpos IgG de alta afinidad es dirigida por antígenos, el término "dirigido por el antígeno" se refiere al proceso en el cual el antígeno se une a la inmunoglobulina sobre la superficie del linfocito B, por consiguiente estimula a las células a proliferar. En presencia de estímulo antigénico hay una continua presión selectiva favoreciendo a las células

B que muestran sobre su superficie inmunoglobulinas con alta afinidad antigénica. En general este proceso dirigido por el antígeno puede ocurrir únicamente en linfocitos B que son estimulados inicialmente por linfocitos T como por el antígeno. Este proceso es conocido como T dependiente<sup>3-5</sup>.

El concepto de linfocito T ayudador es crítico en el entendimiento de la patogénesis del lupus, cada célula T transporta una molécula receptora de superficie con la habilidad de interactuar con un antígeno particular el cual es presentado al receptor de la célula T en un complejo con una molécula MHC sobre la superficie de la célula presentadora de antígeno. Como se muestra en la Figura 1, la célula presentadora de antígeno puede hacer una segunda interacción molecular con el linfocito T a través de una coestimulación.

Hay diferentes coestimuladores moleculares pares, incluyendo CD40-CD40L y CD28-B7, los cuales pueden generar la segunda señal requerida para la activación del linfocito T. Agentes que

*Figura 1. Reconocimiento y presentación antigénica. Célula presentadora de antígeno uniendo fracción peptídica a una molécula del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) en la superficie celular. El reconocimiento es realizado por el receptor de la célula (TCR). La acción efectora de la célula T depende de la interacción entre moléculas sobre la superficie de las dos células. Dos de estas interacciones alternativas son nombradas B7-CD28, con acción estimuladora y B7-CTLA-4 con acción inhibidora. Tomado y modificado de N Engl J Med 2008;358:929-939.*

bloquean la coestimulación pueden inhibir la respuesta inmune dependiente de Linfocitos T ayudadores. Puesto que la célula T ayudadora es crítica en lupus, tanto el antiCD40 ligando como la proteína 4 IgG1 asociada al linfocito T citotóxico (CTLA-4 Ig), una molécula que bloquea la interacción CD28-B7, son potenciales tratamiento para lupus<sup>6,7</sup>.

Las citoquinas de la célula T afectan a la célula B estimulando la división celular, el switch de clase para la producción de anticuerpos de la clase IgM e IgG y promoviendo un cambio en la secuencia molecular de los anticuerpos secretados; así la célula T ayuda para hacer posible la producción de autoanticuerpos de alta afinidad; esta clase de anticuerpos está estrechamente relacionado con daño tisular en LES. Las células B y T específicas para autoantígenos que interactúan para producir autoanticuerpos perjudiciales están ausentes en personas sanas.

La Figura 2 muestra una célula B y una célula T interactuando y estimulando una a la otra. Varios mecanismos podrían ser considerados en la alteración de la respuesta inmune y en el desencadenamiento de la enfermedad autoinmune, uno de ellos incluye la ausencia de células T reguladoras o la delección de poblaciones claves en el control de la respuesta; algunas células podrían estar presentes pero podrían permanecer anérgicas.

Algunos autores proponen que los cambios en la región variable en las cadenas livianas y pesadas de los anticuerpos, expresados por un linfocito B autorreactivo, podrían ser la explicación de la patología autoinmune<sup>8</sup>.

El uso de ciertos genes, de cadenas livianas de poblaciones de células B de pacientes con lupus, difiere del repertorio de cadenas livianas de personas sanas; esta diferencia podría ser debida a la edición aberrante del receptor (TCR).

*Figura 2. Interacción entre células T y B. Presentación de antígeno por parte de la célula B, coestimulación obtenida a través de la interacción entre CD40 y CD40L. Esta interacción estimula la célula T a producir un número de citoquinas, algunas de las cuales actúan sobre células B para promover la producción de anticuerpos. MHC: complejo mayor de histocompatibilidad, TCR: receptor de células T, TNF: factor de necrosis tumoral. Tomado y modificado de N Engl J Med 2008;358:929-939.*

## 2. Características estructurales del complejo $\zeta\zeta$ TCR/CD3

El complejo  $\zeta\zeta$  TCR/CD3 está compuesto de seis diferentes cadenas polipeptídicas, la especificidad de unión al ligando es dirigida por el receptor clonotípico constituido por cadenas alfa y beta ( $\alpha\beta$ ) en el 95% de las células T o por cadenas gamma y delta ( $\gamma\delta$ ) en el 5% de ellas, siendo el resultado de rearrreglos genéticos, generando millones de receptores diferentes, del orden de  $10^9$ . El heterodímero  $\alpha\beta$  une directamente a péptidos asociados al CMH. Las moléculas accesorias al receptor heterodimérico TCR son el complejo CD3 y el homodímero  $\zeta\zeta$ . El complejo CD3 está constituido por tres tipos de cadenas  $\gamma$ ,  $\delta$  y  $\epsilon$ , rearrregladas por la proteína omega ( $\omega$ ), responsable del ensamblaje y de la expresión en superficie. El homodímero  $\zeta\zeta$  está involucrado en la transducción de la señal en el linfocito T, activando una cascada de cinasas citoplasmáticas las cuales intervienen en la síntesis de interleucina 2 (IL-2)<sup>9</sup>.

Los mecanismos de reconocimiento de células T difieren de los de las células B; las células T reconocen antígenos asociados a moléculas CMH clase I o clase II, los cuales son reconocidos por cadenas polipeptídicas polimórficas (alfa y beta o gamma y delta) que conforman las dos variantes del TCR, el complejo CD3 forma un trímero constituido por cadenas  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ , las cuales se organizan en tres dímeros  $\gamma\epsilon$ ,  $\delta\epsilon$  y  $\zeta\zeta$  llamados colectivamente CD3, formando así el complejo TCR/CD3; cada cadena de CD3 contiene motivos ITAM (inmunorreceptor de tirosinas): uno en cada cadena  $\gamma$ ,  $\delta$ , y  $\epsilon$ , y tres en cada cadena  $\zeta$ . Cuando tiene lugar el reconocimiento antigénico entre el TCR y la molécula CMH que contiene el antígeno, se genera una cascada de reacciones bioquímicas en el citoplasma del linfocito T, dando así lugar al proceso de activación (Figura 3)<sup>9,10</sup>.

## 3. Activación de células T. Vía de señalización

Los linfocitos T circulantes, que expresan receptores tipo II, alfa-beta, se asocian con el homodímero  $\zeta\zeta$ , aunque es posible encontrar for-

*Figura 3. Receptor de célula T (TCR). Grupo de moléculas monomórficas de membrana llamado colectivamente CD3. Asociadas a dos cadenas polipeptídicas polimórficas (alfa y beta o gamma y delta) que constituyen las dos variantes del TCR, se encuentra un grupo de moléculas, que se relacionan con las cadenas  $\zeta\zeta$  formando así el complejo  $\zeta\zeta$ TCR/CD3. Tomado y modificado de Allende LM, Corell A, A. Regueiro, Pacheco JR & Arnaiz-Villena A. Inmunología-online.*

mas alternas  $\zeta\eta$  presentes en un porcentaje reducido de células T. La estructura del homodímero  $\zeta\zeta$  es distinta de los otros péptidos del complejo CD3, ya que su dominio intracelular es de mucho menor tamaño que el extracelular conteniendo tres regiones ITAM (motivos asociados al inmunorreceptor de tirosinas) que se fosforilan cuando el receptor de la célula T se activa. La fosforilación de los ITAM es un evento prioritario en la activación de las células T, el segmento transmembrana de la cadena  $\zeta$  tiene una gran homología con la subunidad  $\gamma$  del receptor Fc de la IgG (Fc $\gamma$ R), y es requerido tanto para su expresión como para la transducción de señal<sup>11</sup> (Figura 4).

La secuencia de eventos de señalización generada por el reconocimiento antigénico de células T, previa presentación por MHC, lleva a la

*Figura 4. Activación de linfocito T. Cascada de eventos que parten del reconocimiento antigénico por parte del receptor (TCR) y continúa con el desplazamiento de la señal hacia el interior de la célula. Tomado y modificado de L. M. Allende, A. Corell, A. Pacheco, J. R. Regueiro y A. Arnaiz Villena, Inmunología-online.*

activación de células T y la consecuente transcripción del gen de IL-2. La secuencia de eventos se inicia con la fosforilación proximal del complejo  $\zeta\zeta$ TCR CD3; la región intracitoplasmática de las subunidades de CD3 se fosforila por tirosinas kinasas de la familia Src, Lck y Fyn, llevando a la movilización y activación de kinasas de la familia Zap-70 y Syk. Las kinasas Zap-70 y Syk activadas fosforilan regiones intracitoplasmáticas con dominios ITAM de los homodímeros  $\zeta\zeta$  o Fc $\gamma$  respectivamente, así como de moléculas adaptadoras SLP-76 y LAT, las cuales forman parte del andamiaje molecular. Las moléculas adaptadoras intervienen en el reclutamiento de intermediarios adicionales que continúan con la activación de pequeñas proteínas que unen GTP como lo son las proteínas Ras, Rac y Rho, llevando a la activación de MAP kinasas, incluyendo a Erk 1/2, JNK y p38<sup>12-14</sup>.

Un evento importante en la activación de células T, sumado a lo anterior, es el aumento del

flujo de calcio y la activación de la proteína cinasa C, con un efecto sobre las vías de las MAP kinasas las cuales promueven la translocación y movilización de factores de transcripción<sup>15</sup>. Esta cascada de eventos establece las conexiones moleculares que culminan en la activación de factores de transcripción en el núcleo y la reorganización del citoesqueleto, facilitando el contacto de la célula T con la célula presentadora de antígeno (CPA).

#### **4. Mecanismos moleculares implicados en la mala regulación de las cadenas $\zeta\zeta$ del complejo $\zeta\zeta$ TCRCD3 y señal anormal en células T de pacientes con enfermedades autoinmunes**

##### **Expresión anormal de TCR $\zeta$**

La expresión anormal de moléculas claves en señalización y la función defectuosa en los linfocitos T juegan un papel preponderante en la

patogenia de las enfermedades autoinmunes y son altamente estudiadas en pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES). Dentro del repertorio de genes que pueden predisponer al LES se encuentra la expresión defectuosa de cadena  $\zeta$ , observada en la mayoría de los pacientes. El gen TCR $\zeta$  está localizado en el cromosoma 1q23.1. (Figura 5). Los estudios genómicos realizados recientemente han encontrado cierta asociación entre el cromosoma 1 y la susceptibilidad al LES. Las células T de pacientes con LES expresan una marcada disminución de transcritos mRNA para cadena  $\zeta$  al igual que defectos en la proteína expresada; sin embargo, los eventos de señalización iniciados por  $\zeta\zeta$ TCRCD3 se incrementan comparados con células T normales<sup>16-20</sup>.

Los mecanismos patológicos precisos desencadenantes de la función anormal de las células T en pacientes con LES no han sido esclarecidos; la identificación de eventos genéticos fundamentales así como los mecanismos bioquímicos pueden contribuir al entendimiento de la etiopatogénesis del lupus, además de proveer nuevos blancos terapéuticos para una futura intervención farmacológica. En vista de este significativo esfuerzo por descubrir la alteración en la expresión de algunos genes que pueden predisponer la aberrante respuesta a autoantígenos y la causa patológica de la producción de autoanticuerpos, se descubrió que la cadena  $\zeta$  asociada al receptor de la célula T es una molécula vital en señalización, que es crítica para el

*Figura 5. Estructura molecular de cadena zeta ( $\zeta$ ) humana. DNA genómico de cadena zeta asociada al receptor de la célula T (TCR), mRNA y región promotora. El DNA genómico para cadena TCR $\zeta$  está localizado en el brazo largo del cromosoma 1 y está compuesto de 8 exones separados por una distancia de 0,7 a 8 Kb. La región separada de mRNA de 1472 kb es producto del splicing de 8 exones que tienen una región codificante de 492 pares de bases (pb) y una región no traducida de 906 pb localizada corriente abajo. La región promotora es de 358 pb y contiene dos sitios de unión para el factor de transcripción Elf-1. El splicing alternativo del mRNA para TCR $\zeta$  es generado con pérdida de una región entre los nucleótidos 672 a 1233. Tomado y modificado de Journal of Biological Chemistry 2008;280:18959-18966.*

desarrollo y la función de la célula T; su defecto en la gran mayoría de pacientes con LES y en otras enfermedades autoinmunes la podrían ubicar como la causa más importante del desencadenamiento de la enfermedad autoinmune<sup>21-22</sup>.

### **Defectos en la expresión de cadena TCR $\zeta$ en pacientes con LES**

La cadena  $\zeta$  del TCR es considerada un factor determinante entre las ocho subunidades del receptor T ( $\alpha\beta$ ,  $\gamma\epsilon$ ,  $\delta\epsilon$  and  $\zeta\zeta$ ), es importante en el ensamblaje, transporte y expresión en superficie y es crucial en la señalización del TCR. El gen que codifica para cadena  $\zeta$  está localizado en el brazo largo del cromosoma 1q23; se ha sugerido que los defectos en la expresión contribuirían en la predisposición genética al LES<sup>23-25</sup>. El gen que codifica para cadena  $\zeta$  está localizado en la misma región de los genes para Fc $\gamma$ RI, Fc $\gamma$ RII y Fc $\gamma$ RIII, un locus candidato en la susceptibilidad genética al desarrollo de enfermedades autoinmunes<sup>26</sup>. La identificación de la deficiencia de cadena  $\zeta$  en pacientes con LES fue realizada inicialmente por análisis de fosforilación de tirosinas en TCR/CD3, los cuales revelaron disminución en la expresión de la proteína en células T de pacientes con LES, la cual fue identificada como cadena  $\zeta$ . El déficit en la expresión de cadena  $\zeta$  ha sido reportado por varios grupos de investigación, sugiriendo que no está restringido a un grupo poblacional<sup>27-29</sup>. La prevalencia de la deficiencia de cadena  $\zeta$  en pacientes con LES entre individuos de diferentes grupos raciales, con diferentes niveles de actividad de la enfermedad determinados por el índice de SLEDAI, muestra una prevalencia del 78%, siendo de gran relevancia en la inmunopatogénesis del LES<sup>30</sup>.

### **Aspectos moleculares relacionados con una baja expresión de cadena $\zeta$ en pacientes con LES**

La cadena  $\zeta$  del complejo receptor T  $\zeta$ TCRCD3 juega un papel crítico en el ensamblaje y transporte del complejo a la superficie celular y en la transducción de señal a través de la activación inicial TCR-péptido. El entrecruzamiento del complejo receptor lleva a un incremento de los niveles de calcio intracitoplasmático y fosforilación de tirosinas de proteínas citosólicas<sup>31</sup>; esta

sobreexcitabilidad de las células T de pacientes con LES puede ser atribuida a la pérdida de la expresión de cadena TCR  $\zeta$ , la cual es reemplazada por la cadena Fc $\gamma$ R con agregación en los "lipid rafts<sup>32</sup>" en la membrana celular. El reemplazo de la cadena  $\zeta$  causa aberraciones en la cascada de señalización, lo cual podría generar defectos en la síntesis de IL-2; es claro que la disminución en la expresión de  $\zeta$  es el evento central más relevante en el desencadenamiento de la enfermedad<sup>33</sup>.

Aunque los mecanismos moleculares que determinan la disminución en los transcritos del mRNA para cadena  $\zeta$  y de la proteína en células T de los pacientes con LES no han sido esclarecidos, los avances en biología molecular han permitido identificar una región de 31Kb en el RNA que contiene la información de la proteína, el transcrito generado como producto del splicing alternativo está formado por ocho exones separados por distancias que oscilan entre 0,7 y 8 Kb<sup>34,35</sup> (Figura 6). Análisis de secuencia de nucleótidos del gen TCR $\zeta$  muestra un incremento en la frecuencia de splicing alternativo con pérdida de varios exones en células T de pacientes con LES<sup>36</sup>. Análisis de la región no traducida UTR en el extremo 3' muestran una pérdida de secuencia entre los nucleótidos 672 al 1233 del exón VIII en el mRNA que codifica para cadena  $\zeta$ <sup>37</sup>.

### **Contribución de las células T y B en la inmunopatogénesis del LES**

Aunque el LES es reconocido primariamente como una enfermedad de células B con una alta producción de anticuerpos patogénicos, el aporte de las células T en la inmunopatología no es cuestionable. Las células T activadas expresan CD 40 ligando (CD40L) y apoyan a las células B a diferenciarse en células plasmáticas a través del contacto con CD40 presente en la superficie celular<sup>38,39</sup>.

Las células T de pacientes con LES muestran un fenotipo de linfocitos de memoria con un porcentaje relativamente bajo de células T naive. Las poblaciones de células T reguladoras se encuentran disminuidas en pacientes con LES<sup>40,41</sup>. El interferón gama (INF- $\gamma$ ) y la IL-2 también se

*Figura 6. Secuencia de la proteína TCR $\zeta$  normal, producto del splicing alternativo, formado por 8 exones separados por distancias que oscilan entre 0,7 y 8 Kb. Nambiar M P, Fisher Yuang TJ, Sandeep K, Tsokos GC. International Reviews of Immunology 2004;23:1-19.*

encuentran disminuidos, mientras que la IL-6 y la IL-10 se encuentran aumentadas. Una disminución en los niveles de IL-2 reduce la activación de células T induciendo muerte celular (AICD) y la persistencia de autorreactividad así como un incremento en el número de células T de memoria.

La cadena  $\zeta$  es única en lo que se refiere a la presencia de sitios de fosforilación (ITAM), más que el complejo CD3, y es considerada crítica en la transmisión de señales al interior de la célula. La disminución en la expresión de  $\zeta$  ha sido observada en linfocitos T de sangre periférica en pacientes con enfermedades autoinmunes como: artritis, escleroderma y lupus<sup>42,43</sup>. Varios mecanismos contribuyen a la disminución en la expresión de  $\zeta$  en células T de pacientes con LES. Estos incluyen disminución de la actividad del promotor de  $\zeta$ , disminución de la estabilidad del mRNA y aumento de la degradación de la proteína.

El más importante factor de transcripción para la regulación de la expresión de cadena  $\zeta$  en cé-

lulas de pacientes con LES es Elf-1. Tsokos y cols. investigaron dos grupos de pacientes con LES con diferentes anomalías en la expresión y función de Elf-1; en el primer grupo encontraron que las células T no producen la forma de 98 Kd que se une al DNA, y en el segundo grupo de pacientes la forma de 98 Kd de Elf-1 encontrada en células T de pacientes con LES no logró unirse al DNA por lo que no está apropiadamente fosforilada<sup>44-46</sup>. Las células T de pacientes con LES muestran un significativo aumento de los niveles de mRNA con splicing alternativo en la región 3', con la región UTR no traducida, resultado de la pérdida de los nucleótidos 672 a 1233 del transcrito  $\zeta$ . La estabilidad del mRNA para  $\zeta$  es baja en pacientes con LES comparada con el transcrito mRNA para  $\zeta$  tipo silvestre.

En células T de pacientes con LES la disminución de TCR $\zeta$  es reemplazada por cadenas FCR $\gamma$  (receptor Fc de cadena  $\zeta$ ), las cuales no se expresan en células T normales<sup>47</sup>. FCR $\gamma$  se asocia con CD3 $\epsilon$  y la cinasa Syk, la cual no se expresa



regularmente en las células T. La pérdida de TCR $\zeta$  involucra también la pérdida de la proteína zap-70; sin embargo, el complejo TCR es reagrupado como FCR $\gamma$ -Syk reemplazando a  $\zeta$ -Zap-70. Esta conmutación genera una mayor activación calculada en más de cien veces en el linfocito T de pacientes con LES, el cual es manifestado con un aumento del flujo de iones calcio y una mayor fosforilación de proteínas citosólicas<sup>48</sup>. Otro componente crítico asociado a los lipid raft es una proteína tirosina cinasa específica de linfocitos T (PTP: Lck). La Lck es importante para mantener el estado de reposo de las células T y la cascada de señales de activación. La Lck fosforila los ITAMs de CD3<sup>49</sup>.

Zap-70 es reclutada a  $\zeta\zeta$  uniéndose a los ITAMs fosforilados; una vez reclutada, zap-70 es fosforilada por Lck o Fyn, volviéndose catalíticamente activa, conduciendo a la fosforilación de sustratos corriente abajo. La Lck es crítica para la fosforilación y activación de la MAP quinasa-ERK y la función efectora de la célula T con la consecuente producción de citoquinas. La actividad de la Lck es regulada por la fosforilación de tirosinas, la cual es mediada por PTP CD45. La CD45 mantiene la Lck en estado de alerta, así que la célula T puede responder rápidamente a la activación por defosforilación. En células T normales CD45 es excluida de los "lipid raft" después de la estimulación, mientras en células T de pacientes con LES se mantiene por periodos largos de tiempo. La ubiquitinación está asociada con una disminución en la expresión de Lck y aumento de la actividad de la enfermedad en pacientes con LES<sup>50</sup>.

### **Aumento del flujo de calcio y de la expresión de la kinasa CaMKIV en células T de pacientes con LES**

Como se ha mencionado antes, uno de los primeros eventos después de la estimulación de las células T es el aumento del calcio libre citoplasmático incrementando los niveles en pacientes con LES. Sin embargo, este aumento del calcio no lleva a una sobrerregulación de los genes dependientes de calcio; entre tanto se induce un aumento en la expresión de CD154 (CD40 ligando) en células T, generando un mayor estímulo en las células B. La producción de

IL-2 se ve afectada negativamente, resultando en una disminución de la muerte celular inducida por activación (AICD)<sup>51,52</sup>.

En respuesta al aumento de calcio se activan varias cinasas asociadas a calmodulina y calcineurina. Los blancos corriente abajo de la calcineurina son el factor nuclear de activación de linfocitos T (NAFT) el cual se encuentra aumentado en células T de pacientes con LES y unido a promotores de genes asociados a IL-2 y CD 154<sup>53</sup>. Sin embargo, mientras NFAT media el aumento en la transcripción de CD154, un aumento en la unión de NFAT al promotor de IL-2, no induce una mayor síntesis de IL-2. Una razón para la respuesta dicotómica es el hecho de que NFAT puede unirse a sitios *cis* del promotor o a la proteína AP1. El promotor de CD154 define un sitio NFAT pero esta actividad no depende de AP-1; en contraste, el promotor de IL-2 define un sitio NFAT adyacente al sitio AP-1. La actividad de AP-1 disminuye en células T de pacientes con LES<sup>54</sup>.

La unión de NFAT al promotor de IL-2 no resulta en un aumento de la actividad transcripcional de la citoquina, resulta en un incremento en la expresión de CD 40L (CD 154). Otra razón para este fenómeno dicotómico es la activación y aumento de la traslocación nuclear de la kinasa 4 calcio calmodulina<sup>55-57</sup>. Un importante blanco de CaMKIV es el elemento modulador CREM dependiente de cAMP. El represor transcripcional CREM $\alpha$  incrementa su actividad en células T de pacientes con LES, suprimiendo la actividad del promotor para IL-2<sup>58</sup>.

La activación policlonal y el incremento en la síntesis de anticuerpos por parte de las células B en pacientes con LES podría ser debida a una sobreestimulación, resultado de la sobreexpresión de CD40L por parte de las células T.

En conclusión, las células T de pacientes con lupus presentan muchas anormalidades, con alteraciones en vías de señalización que favorecen su activación y funciones efectoras anormales donde se modifican factores de transcripción que amplifican la respuesta humoral. El resultado es una célula T que combina algunas características de célula efectora y de célula anérgica. La molécula clave en esta patología es sin duda la

cadena zeta, ya que orquesta la vía más importante de la señalización intracelular del linfocito T, además es una molécula crítica para el desarrollo y la función de las células T, encontrándose defectuosa en la mayoría de pacientes con LES.

### Agradecimientos

Al departamento de Medicina Interna, Unidad de Reumatología de la Universidad Nacional de Colombia por sus valiosos aportes en la revisión del tema y a los comentarios en la edición del artículo. Al apoyo obtenido en la convocatoria a proyectos de posgrado de la facultad de medicina, 2008, mediante código quipú número 2010100 11337, que nos proporcionó la ayuda económica para el desarrollo experimental del proyecto y a la Asociación Colombiana de Reumatología.

### Referencias

1. Iliopoulos AG, Tsokos CG. Immunopathogenesis and spectrum of infections in systemic lupus erythematosus. *Semin. Arthritis Rheum* 1996;25:318-336.
2. Tsokos CG, Nambiar MP, Tenbrock K, Juang YT. Rewiring the T-cell: signaling defects and novel prospects for the treatment of SLE. *Trends Immunol* 2003;24:259-263.
3. Ravirajan CT, Rahman MA, Papadakis L. Genetic, structural and functional properties of an IgG DNA-binding monoclonal antibody from a lupus patient with nephritis. *Eur J Immunol* 1998;28:339-350.
4. Ehrenstein MR, Katz DR, Griffiths MH. Human IgG anti-DNA antibodies deposit in kidneys and induce proteinuria in SCID mice. *Kidney Int* 1995;48:705-711.
5. Okamura M, Kanayama Y, Amatsu K. Significance of enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for antibodies to double stranded and single stranded DNA in patients with lupus nephritis: correlation with severity of renal histology. *Ann Rheum Dis* 1993;52:14-20.
6. Davidson A, Diamond B, Wofsy D, Daikh D. Block and tackle: CTLA4 Ig takes on lupus. *Lupus* 2005;14:197-203.
7. Isenberg D, Rahman A. Systemic lupus erythematosus 2005 annals mirabilis? *Nat Clin Pract Rheumatol* 2006;2:145-152.
8. Dörner T, Lipsky PE. Immunoglobulin variable-region gene usage in systemic autoimmune diseases. *Arthritis Rheum* 2001;44:2715-2727.
9. Call ME, Wucherpfennig KW. The T cell receptor: critical role of the membrane environment in receptor assembly and function. *Annu Rev Immunol* 2005;23:101-125.
10. Call ME, Wucherpfennig KW. Molecular mechanisms for the assembly of the T cell receptor-CD3 complex. *Mol. Immunol* 2004;40:1295-1305.
11. Ford ML, Evavold BD. Degenerate recognition of T cell epitopes: impact of T cell receptor reserve and stability of peptide: MHC complexes. *Mol Immunol* 2004;40:1019-1025.
12. Jordan MS, Singer AL, Koretzky GA. Adaptors as central mediators of signal transduction in immune cells. *Nat Immunol* 2000;4:110-116.
13. Cantrell DA. GTPases and T cell activation. *Immunol Rev* 2003;192:122-130.
14. Rincon M. MAP-kinase signaling pathways in T cells. *Curr Opin. Immunol* 2001;13:339-345.
15. Northrop JP, Ho SN, Chen L. NF-AT components define a family of transcription factors targeted in T-cell activation. *Nature* 1994;369:497-502.
16. Jensen JP, Bates PW, Yang M, Vierstra RD, Weissman AM. Identification of a family of closely related human ubiquitin conjugating enzymes. *J Biol Chem* 1995;270:30408-30414.
17. Moser KL, et al. Genome scan of human systemic lupus erythematosus: evidence for linkage on chromosome 1q in African-American pedigrees. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:14869-14874.
18. Gaffney PM, Kearns GM, Shark KB, Ortmann WA, Selby SA, Malmgren ML, Rohlf K E, Ockenden TC, Messner RP, King RA, Rich SS, Behrens TW. A genome-wide search for susceptibility genes in human systemic lupus erythematosus sib-pair families. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:14875-14879.
19. Shai R, Quismorio FP, et al. 1999. Genomewide screen for systemic lupus erythematosus susceptibility genes in multiplex families. *Hum Mol Genet* 1999;8:639-644.
20. Chowdhury B, Krishnan S, Tsokos CG, et al. Stability and translation of TCR zeta mRNA are regulated by the adenosine-uridine-rich elements in splice-deleted 3'untranslated region of zeta-chain. *J Immunol* 2006;177:8248-8257.
21. Tsokos GC, Lioussis SN. Immune cell signaling defects in lupus: activation, anergy and death. *Immunol. Today* 1999;20:119-124.
22. Finke JH, Zea AH, Stanley J, Longo DL, Mizoguchi H, Tubbs RR, Wiltrout RH, O'Shea JJ, Kudoh S, Klein E. Loss of T-cell receptor zeta chain and p56lck in T-cells infiltrating human renal cell carcinoma. *Cancer Res* 1993;53:5613-5616.
23. Weissman AM, Baniyash M, Hou D, Samelson LE, Burgess WH, Klausner RD. Molecular cloning of the zeta chain of the T cell antigen receptor. *Science* 1988;239:1018-1021.
24. M. Stacey A, Barlow M, Hulten. Human T-cell receptor zeta chain gene Map Q7 position 1q23.1, *Chromosome Res* 1997;5:279.
25. Moser KL, Neas BR, Salmon JE, Yu H, Gray-McGuire C, Asundi N, Bruner GR, Fox J, Kelly J, Henshall S, Bacino D, et al. Genome scan of human systemic lupus erythematosus: Evidence for linkage on

- chromosome 1q in African-American pedigrees. *Proc Natl Acad* 1998;95:14869-14874.
26. Jensen JP, Hou D, Ramsburg MA, Taylor DM, Weissman AM. Organization of the human T cell receptor zeta-eta gene and its genetic linkage to the Fc gamma RII-Fc gamma RIII gene cluster, *J Immunol* 1992;148:2563-2571.
  27. Lioussis SN, Ding DZ, Dennis GJ, Tsokos GC. 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;101:1448-1457.
  28. Takeuchi T, Tsuzaka k, Pang M, Amano K, Koide J, Abe T. TCR zeta chain lacking exon 7 in two patients with systemic lupus erythematosus. *Int Immunol* 1998;10:911-921.
  29. Brundula V, Rivas LJ, Blasini AM, Paris M, Salazar S, Stekman IL, Rodriguez MA, Diminished levels of T cell receptor zeta chains in peripheral blood T lymphocytes from patients with systemic lupus erythematosus, *Arthritis Rheum* 1999;42:1908-1916.
  30. Nambiar MP, et al. Abnormal expression of various molecular forms and distribution of T cell receptor z chain in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2002;46:163-174.
  31. Vassilopoulos D, Kovacs B, Tsokos GC. TCR/CD3 complex mediated signal transduction pathway in T cells and T cell lines from patients with systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 1995;155:2269-2281.
  32. Krishnan S, Nambiar MP, Warke VG, et al. Alterations in lipid raft composition and dynamics contribute to abnormal T cell responses in systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 2004;172:7821-7831.
  33. Nambiar MP, Fisher CU, Warke VG, et al. Reconstitution of deficient T cell receptor zeta chain restores T cell signaling and augments T cell receptor/CD3-induced interleukin-2 production in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2003;48:1948-1955.
  34. Vaishali R, Vasileios C, Yuang TJ, Tsokos GC. Post-Transcriptional Regulation of T Cell Receptor zeta Chain in Systemic Lupus Erythematosus. *Clinical Immunology* 2007;123:66.
  35. Nambiar MP, Enyedy EJ, Warke VG, Krishnan S, Dennis G, Wong HK, Kammer GM, Tsokos GC. T cell signaling abnormalities in systemic lupus erythematosus are associated with increased mutations/polymorphisms and splice variants of T cell receptor chain messenger RNA. *Arthritis Rheum* 2001;44:1336-1350.
  36. Chowdhury B, Tsokos CG, Krishnan S, Robertson J, Fisher C, et al. Decreased Stability and Translation of T Cell receptor mRNA with an Alternatively Spliced 3 Untranslated Region Contribute to Chain Down-regulation in Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *The journal of biological chemistry* 2005;280:18959-18966.
  37. Nambiar MP, Enyedy EJ, Warke VG, Krishnan S, Dennis G, Kammer GM, Tsokos GC. Polymorphisms mutations of TCR-zeta-chain promoter and 3' untranslated region and selective expression of TCR zeta-chain with an alternatively spliced 30 untranslated region in patients with systemic lupus erythematosus. *J Autoimmun* 2001;16:133-142.
  38. Kyttaris VC, et al. Increased levels of NF-ATc2 differentially regulate CD154 and IL-2 genes in T cells from patients with systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 2007;178:1960-1966.
  39. Desai-Mehta A, Lu L, Ramsey-Goldman R, Datta SK. Hyperexpression of CD40 ligand by B and T cells in human lupus and its role in pathogenic autoantibody production. *J Clin Invest* 1996;97:2063-2073.
  40. Fritsch RD, Shen X, Illei GG, et al. Abnormal differentiation of memory T cells in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2006;54:2184-2197.
  41. Amasaki Y, Kobayashi S, Takeda T, et al. Up-regulated expression of Fas antigen (CD95) by peripheral naive and memory T cell subsets in patients with systemic lupus erythematosus (SLE): a possible mechanism for lymphopenia. *Clin Exp Immunol* 1995;99:245-250.
  42. Mudd PA, Teague BN, Farris AD. Regulatory T cells and systemic lupus erythematosus. *Scand J Immunol* 2006;64:211-218.
  43. Irving BA, Chan AC, Weiss A. Functional characterization of a signal transducing motif present in the T cell antigen receptor zeta chain. *J Exp Med* 1993;177:1093-103.
  44. Maurice MM, Lankester AC, Bezemer AC, et al. Defective TCR-mediated signaling in synovial T cells in rheumatoid arthritis. *J Immunol* 1997;159:2973-2978.
  45. Juang YT, Solomou EE, Rellahan B, Tsokos GC. Phosphorylation and O-linked glycosylation of Elf-1 leads to its translocation to the nucleus and binding to the promoter of the TCR zeta-chain. *J Immunol* 2002;168:2865-2871.
  46. Juang YT, Tenbrock K, Nambiar MP, Gourley MF, Tsokos GC. Defective production of functional 98-kDa form of Elf-1 is responsible for the decreased expression of TCR zeta-chain in patients with systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 2002;169:6048-6055.
  47. Enyedy EJ, Nambiar MP, Lioussis SN, Dennis G, Kammer GM, Tsokos GC. Fc epsilon receptor type I gamma chain replaces the deficient T cell receptor zeta chain in T cells of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2001;44:1114-1121.
  48. Krishnan S, Warke VG, Nambiar MP, Tsokos GC, Farber DL. The FcR gamma subunit and Syk kinase replace the CD3 zeta-chain and ZAP-70 kinase in the TCR signaling complex of human effector CD4T cells. *J Immunol* 2003;170:4189-4195.
  49. Lovatt M, Filby A, Parravicini V, Werlen G, Palmer E, Zamoyka R. Lck regulates the threshold of activation in primary T cells, while both Lck and Fyn contribute to the magnitude of the extracellular signal-related kinase response. *Mol Cell Biol* 2006;26:8655-8665.
  50. Jury EC, Kabouridis PS, Flores-Borja F, Mageed RA, Isenberg DA. Altered lipid raft associated signaling

- and ganglioside expression in T lymphocytes from patients with systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest* 2004;113:1176-1187.
51. Koshy M, Berger D, Crow MK. Increased expression of CD40 ligand on systemic lupus erythematosus lymphocytes. *J Clin Invest* 1996;98:826-837.
  52. Kyttaris VC, Wang Y, Juang YT, Weinstein A, Tsokos GC. Increased Levels of NFATc2 Differentially Regulate CD154 and IL-2 Genes in T Cells from Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *J Immunol* 2007; 178:1960-1966.
  53. Kyttaris VC, Juang YT, Tenbrock K, Weinstein A, Tsokos GC. Cyclic adenosine 5'-monophosphate response element modulator is responsible for the decreased expression of c-fos and activator protein-1 binding in T cells from patients with systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 2004;173:3557-3563.
  54. Juang YT, Wang Y, Solomou EE, et al. Systemic lupus erythematosus serum IgG increases CREM binding to the IL-2 promoter and suppresses IL-2 production through CaMKIV. *J Clin Invest* 2005;115:996-1005.
  55. Heist EK, Srinivasan M, Schulman H. Phosphorylation at the nuclear localization signal of Ca2p/calmodulin-dependent protein kinase II blocks its nuclear targeting. *J Biol Chem* 1998;273:19763-19771.
  56. Anderson KA, Kane CD. Ca2p/calmodulin-dependent protein kinase IV and calcium signaling. *Biometals* 1998;11:331-343.
  57. Powell JD, Lerner CG, Ewoldt GR, Schwartz RH. The -180 site of the IL-2 promoter is the target of CREB/CREM binding in T cell anergy. *J Immunol* 1999;163: 6631-6639.
  58. Rahman A, Isenberg DS. Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2008;358:929-939.