

monografía

ciclo de
conferencias y debates en

ciencias

FUNDACIÓN RAMÓN ARECES
NATURE PUBLISHING GROUP

ENFERMEDADES AUTOINMUNES
AUTOIMMUNE DISEASES

Cuando el sistema inmune deja de reconocer su propio cuerpo
When the immune system stops recognising self tissues

Madrid, 2 de febrero de 2012
FUNDACIÓN RAMÓN ARECES
C/ Vitruvio, 5 • 28006 Madrid



nature publishing group 
iberoamérica

© 2012 Nature Publishing Group Iberoamérica, S. L.

C/ Orfila 3, 2º izq., 28010 Madrid (España)

Tel.: (+34) 91 447 46 43

www.npgiberoamerica.com

Depósito legal: M-7656-2012

Impreso en España – Printed in Spain

ÍNDICE

Enfermedades autoinmunes

PRESENTACIÓN

Raimundo Pérez-Hernández y Torra	7
José María Medina Jiménez	8
Javier Cazaña Aguilar	9

INTRODUCCIÓN

Juan Carlos López	13
-------------------	----

CONFERENCIAS

¿QUIÉN PADECE LA ENFERMEDAD AUTOINMUNE DIABETES TIPO 1 Y POR QUÉ? Mark Peakman	17
DEL LABORATORIO A LA CLÍNICA: RETOS TRASLACIONALES EN ARTRITIS INFANTIL Berent Prakken	25
CREANDO EL MAPA DE LA SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA Y UN MODELO DE PATOGÉNESIS Jorge R. Oksenberg	31
AVANCES EN LA PATOGÉNESIS Y EL MANEJO DEL LUPUS SISTÉMICO ERITEMATOSO Anne Davidson	39

DEBATE

Moderador: Juan Carlos López	
Mesa redonda: Mark Peakman, Berent Prakken, Jorge R. Oksenberg y Anne Davidson	47

Autoimmune diseases

PRESENTATION

Raimundo Pérez-Hernández y Torra	55
José María Medina Jiménez	56
Javier Cazaña Aguilar	57

INTRODUCTION

Juan Carlos López	61
-------------------	----

LECTURES

WHO GETS THE AUTOIMMUNE DISEASE TYPE 1 DIABETES, AND WHY? Mark Peakman	65
FROM BENCH TO BEDSIDE: TRANSLATIONAL CHALLENGES IN CHILDHOOD ARTHRITIS Berent Prakken	71
MAPPING GENETIC SUSCEPTIBILITY AND MODELING PATHOGENESIS IN MULTIPLE SCLEROSIS Jorge R. Oksenberg	75
ADVANCES IN THE PATHOGENESIS AND MANAGEMENT OF SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS Anne Davidson	81

DISCUSSION

Moderator: Juan Carlos López	
Round table: Mark Peakman, Berent Prakken, Jorge R. Oksenberg and Anne Davidson	89

presentación

Raimundo Pérez-Hernández y Torra
Director de la Fundación Ramón Areces

José María Medina Jiménez
Miembro del Consejo Científico de la
Fundación Ramón Areces

Javier Cazaña Aguilar
Director General de
Nature Publishing Group Iberoamérica

Presentación

Deseo expresar mi satisfacción personal e institucional por la colaboración que la Fundación Ramón Areces ha establecido con Nature Publishing Group Iberoamérica (NPGI). Ésta es la cuarta edición de la colaboración entre nuestra institución y la editorial, por lo que ya casi podemos decir que se trata de un encuentro científico y divulgativo obligado para los colectivos médico, científico y del público general interesado por estos temas.

Las tres ediciones anteriores han abordado materias extraordinariamente interesantes, como la medicina personalizada, la revolución nanotecnológica y las pruebas genéticas. Los contenidos de las ponencias y los consiguientes debates entre ponentes y asistentes han sido fielmente recogidos en unas monografías divulgativas que han permitido potenciar la difusión de los contenidos abordados.

Nuestra colaboración con NPGI se justifica por tres importantes razones: porque se trata de una institución de reconocido prestigio dentro del sector de la divulgación científica; porque compartimos una vocación científica y una pasión auténtica por la ciencia y la investigación, y porque hablamos de materias de enorme actualidad: la nanotecnología, la medicina personalizada, el estudio genómico y, ahora, las enfermedades autoinmunes, tema de mayor repercusión y frecuencia de lo que podríamos imaginar.

También me complace enormemente que esta jornada se haya convertido ya casi en un referente y, para aquellos que son fieles y que disfrutan con este acontecimiento, tenemos que decirles que hay una absoluta vocación de continuidad. **I**

Raimundo Pérez-Hernández y Torra
Director de la Fundación Ramón Areces

Nos encontramos ya en la cuarta edición de unas jornadas producto de la colaboración entre la Fundación Ramón Areces y NPGI. En este caso tienen un particular interés porque se abordan las enfermedades denominadas autoinmunes, aquellas que son el resultado de la lucha de nuestro organismo contra una o varias proteínas propias, dirigiéndose a las células que las contienen y produciendo devastadores efectos.

La selección de los temas a revisar ha sido excelente, más aún cuando nos enfrentamos a trastornos que suponen una gran preocupación para la sociedad actual por dos importantes razones: la primera, por sus graves efectos deletéreos, que llevan al sufrimiento de los enfermos; y, la segunda, porque por el momento no tenemos ningún arma terapéutica definitiva que pueda detener o de alguna manera paliar eficazmente todos sus efectos.

En la jornada se va a hablar de la diabetes de tipo 1, que es una de las enfermedades autoinmunes que situaron este grupo de enfermedades en un plano más general, no como algo tan raro como se consideraba hasta ese momento, en el que sólo se conocía el lupus eritematoso sistémico y unos pocos trastornos más. Aunque la diabetes de tipo 1 es mucho menos frecuente que la de tipo 2, su impacto sociosanitario es muy significativo. Desde hace ya cierto tiempo se conoce su carácter autoinmune, donde el enfermo lucha contra sus propias células y produce su muerte, lo que provoca una insuficiencia en la segregación de insulina.

También se revisarán otras enfermedades de creciente importancia, como la artritis infantil, el lupus sistémico eritematoso o la esclerosis múltiple, un problema importantísimo en nuestra sociedad. La temática escogida es de gran actualidad y trascendencia, sobre todo porque no sólo conocemos más sobre las enfermedades autoinmunes, sino que también empezamos a disponer de recursos terapéuticos que podrían ayudar en su control y curación en un futuro próximo. ■

José María Medina Jiménez

Miembro del Consejo Científico de la Fundación Ramón Areces

En nombre de NPGI quiero agradecer un año más a la Fundación Ramón Areces, representada aquí por el Sr. Pérez Hernández y Torra y el Prof. Medina Jiménez, su mecenazgo que, como en ediciones anteriores, hace posible que esta conferencia-debate sea un hecho. A lo largo de estos cuatro años de colaboración, hemos difundido el conocimiento de temas de actualidad e interés científico como han sido las pruebas genéticas, la nanotecnología y la medicina personalizada.

Quiero dar también las gracias a los profesores Peakman, Prakken, Oksenberg y Davidson por haber aceptado nuestra invitación para participar en este evento en el que se abordarán patologías como la diabetes tipo 1, la artritis infantil, la esclerosis múltiple y el lupus sistémico eritematoso.

Agradecer también la fundamental participación del Dr. Juan Carlos López, editor de la revista *Nature Medicine*, publicación número uno en la categoría “Medicine, research and experimental” y con un factor de impacto de 25,43.

En Nature Publishing Group creemos que la ciencia y la innovación son claves para el desarrollo internacional y para mejorar la calidad de vida de la población. Acercar los resultados de la investigación a una audiencia global es una forma de impulsar la innovación, y sigue siendo fundamental dentro de la misión de nuestro grupo. Una manera en la que sabemos que estamos consiguiendo cumplir con esta misión son las citas recibidas, en términos de factor de impacto, del contenido que difundimos, que sigue siendo un claro indicador del uso, la relevancia y el valor científico.

Estamos orgullosos de que la revista *Nature*, en los recientes datos del *Journal of Citation Reports*, llegue a alcanzar un factor de impacto de 36,10. Los nuevos artículos publicados en esta revista recibieron más de medio millón de citas durante el año 2010, siendo la publicación más citada en términos absolutos. Dieciséis títulos de nuestro grupo lideran su categoría en términos de factor de impacto y diecisiete publicaciones del grupo están entre las cincuenta primeras revistas de mayor factor de impacto a nivel mundial.

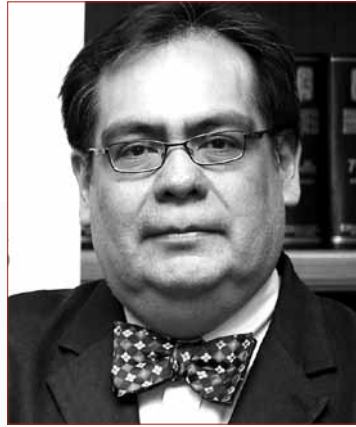
Nos esforzamos por ser responsables y contar con la visión de futuro en la práctica de nuestra actividad, que nos permita continuar proporcionando los mejores contenidos y servicios a la comunidad y muy especialmente a los científicos.

Por encima de todo, el compromiso de nuestro grupo es de servicio a la ciencia y a los científicos. Muchas gracias de nuevo a la Fundación Ramón Areces por compartir esta meta con nosotros y ayudarnos a hacerlo posible. **I**

Javier Cazaña Aguilar

Director General de Nature Publishing Group Iberoamérica

Introducción



Juan Carlos López

Editor de *Nature Medicine*

Licenciado en Investigación biomédica por la Universidad Nacional Autónoma de México, obtuvo el doctorado en neurobiología y conducta en Columbia University (Nueva York), donde se dedicó al estudio de los mecanismos celulares y moleculares de formas simples de memoria, en el laboratorio de Eric Kandel. Antes de introducirse en el mundo editorial, Juan Carlos trabajó en el Instituto Cajal (CSIC, Madrid), estudiando aspectos funcionales de la neurotransmisión inhibitoria. En noviembre de 1999 fue galardonado con el premio europeo de divulgación científica "Estudi General" por su libro *El Taller de la Memoria*. Actualmente es editor jefe de la revista *Nature Medicine* y previamente lo fue de *Nature Reviews Neuroscience*.

Introducción

El sistema inmune tiene como función defendernos de agentes externos que puedan dañar nuestro organismo, como virus, bacterias o cualquier otro agente biológico (microorganismos), químico o físico. En condiciones normales, el sistema inmune los detecta y ataca con procesos como la inflamación y la generación de anticuerpos. Sin embargo, en ocasiones, este sistema deja de reconocer como propios a uno o varios tejidos o componentes del organismo, generando anticuerpos que atacan a sus propias células, tejidos y órganos. Todo este proceso produce la inflamación, la lesión y la destrucción de células sanas, dando lugar a enfermedades autoinmunes, como la diabetes tipo I, la esclerosis múltiple, la psoriasis, la artritis reumatoide o el lupus.

Se desconoce con exactitud la causa de esta pérdida de reconocimiento y todavía se sigue investigando. Sin embargo, parece que en muchos casos existe una predisposición genética y en otras ocasiones un factor externo. ¿Qué peso tiene el componente genético frente al ambiental? ¿Por qué el sistema autoinmune ataca a su propio cuerpo? ¿Están aumentando estas enfermedades? Estas y otras dudas tratarán de responderse en estas conferencias.

Normalmente en este tipo de reuniones tendemos a hablar de cosas que realmente son muy futuribles y de las que aún no se cuenta con resultados; fue el caso de la reunión del pasado año, sobre medicina personalizada, con avances muy prometedores, pero

“En las enfermedades autoinmunes, el organismo genera anticuerpos que atacan a sus propias células, tejidos y órganos.”

aún en el terreno de la especulación y la teoría. Con frecuencia se eligen temas como el cáncer, donde sólo hay modestos avances.

En el caso de la autoinmunidad, los avances en ese ámbito son muy profundos y personalmente soy muy optimista al respecto. Ya hay ciertas terapias nuevas para algunas de esas patologías y habrá más, porque la ciencia en ese campo ya ha realizado significativos progresos en los últimos años; para variar, está muy bien poder hablar de algo que sí que ha obtenido resultados patentes.

Cuando empezamos a preparar este programa, comenzamos a pensar en qué ponentes podríamos escoger para esta reunión. Así, después de seleccionar las cuatro enfermedades autoinmunes que nos parecían más relevantes, quisimos dar un paso más. De esta forma, pensamos que había distintos aspectos de estas patologías que eran muy específicos y en los que ha habido progresos interesantes, lo que nos llevó a contactar con expertos de referencia en cada campo, capaces de ofrecer una visión práctica y a caballo entre la ciencia básica y la ciencia aplicada.

Estoy muy satisfecho con el resultado y estoy seguro de que las charlas serán muy interesantes. **I**

conferencias

¿QUIÉN PADECE LA ENFERMEDAD AUTOINMUNE DIABETES TIPO 1 Y POR QUÉ?

Mark Peakman

Catedrático de Inmunología clínica en la Facultad de Medicina del King's College de Londres, Reino Unido

DEL LABORATORIO A LA CLÍNICA: RETOS TRASLACIONALES EN ARTRITIS INFANTIL

Berent Prakken

Catedrático de Inmunología pediátrica en el Centro de Intervención Molecular y Celular de la Universidad de Utrech, Países Bajos

CREANDO EL MAPA DE LA SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA Y UN MODELO DE PATOGÉNESIS EN ESCLEROSIS MÚLTIPLE

Jorge R. Oksenberg

Jefe del Departamento de Neurología, Universidad de California, San Francisco, Estados Unidos

AVANCES EN LA PATOGÉNESIS Y EL MANEJO DEL LUPUS SISTÉMICO ERITEMATOSO

Anne Davidson

Investigadora del Instituto Feinstein de Investigación Médica, Manhasset, Estados Unidos

¿Quién padece la enfermedad autoinmune diabetes tipo 1 y por qué?

Mark Peakman

Catedrático de Inmunología clínica en la Facultad de Medicina del King's College de Londres, Reino Unido

La diabetes tipo 1 es una enfermedad autoinmune, de carácter metabólico y que se caracteriza por una destrucción selectiva de las células β del páncreas causando una deficiencia absoluta de insulina. Se estima que tan sólo 1 de cada 20 personas diabéticas tiene diabetes tipo I, la cual se presenta más frecuentemente en jóvenes y niños.

En los últimos 35 años se ha llevado a cabo un intenso y extenso trabajo de investigación inmunológica de la diabetes tipo 1, lo que ha permitido desarrollar un modelo capaz de facilitar el conocimiento fisiopatológico de este trastorno y orientar así un tratamiento más efectivo.

Genes y determinados factores ambientales se unen, en una “tormenta perfecta”, para desencadenar la aparición de la enfermedad en determinados sujetos; sin duda, la comprensión e identificación de los genes involucrados en este proceso y los factores ambientales capaces de interaccionar negativamente para originar la enfermedad está aportando grandes avances en su manejo clínico. De hecho, se están generando nuevos abordajes inmunológicos, que en un futuro próximo podrían dar lugar a innovadoras terapias.

Aproximación a la enfermedad

A principios del siglo xx, la diabetes era una enfermedad sin causa médica conocida que afectaba principalmente a niños y jóvenes adultos; su pronóstico era fatal y mortal: en ese momento, el único tratamiento era una rigurosa dieta que, sin embargo, no era funcional

porque finalmente mataba a todo aquel que la sufría, muchas veces semanas o meses después de haber sido diagnosticada la enfermedad.

Recientemente se ha celebrado el 90 aniversario del descubrimiento científico que cambió la manera de afrontar la enfermedad: en 1922 se usó por primera vez la insulina para tratar a un paciente con diabetes tipo 1. Frederick Banting fue el principal responsable del descubrimiento (junto con otros científicos de renombre, como Charles Best) y su trabajo ha salvado incontables vidas alrededor del mundo. Su intervención exitosa en un perro diabético dio lugar a las inyecciones de insulina, que se ha convertido en el tratamiento estándar para estos pacientes. Actualmente muchas personas que sufren la enfermedad viven una vida larga y saludable

Reseña biográfica

El Dr. Peakman se licenció en Medicina y luego llevó a cabo sus estudios de doctorado sobre la respuesta autoinmune de los linfocitos T en la diabetes tipo 1, lo cual se ha convertido en su área de especialización. En la actualidad dirige un grupo de investigación en el Departamento de Inmunología del King's College, centrado principalmente en definir los objetivos moleculares de las células T autorreactivas en las enfermedades autoinmunes y en el empleo de la modulación inmune específica de antígeno para combatir la pérdida de tolerancia subyacente a estas patologías. En la actualidad es el editor jefe de *Clinical and Experimental Immunology*.



Mark Peakman

“Actualmente no se conoce ninguna cura para la diabetes.”

gracias al tratamiento con insulina. Sin embargo, si bien es cierto que se ha recorrido un largo camino desde la primera inyección de insulina en 1922, el problema aún no está totalmente resuelto.

Y es que, como indicó el Dr. Mark Peakman, “con la insulina se han conseguido importantes beneficios para los pacientes, pero no se ha logrado controlar totalmente la glucosa en sangre que se distribuye por el cuerpo y, por lo tanto, debido a la presencia de hiperglucemia crónica se originan en muchos casos graves complicaciones, que van desde el fallo renal o la ceguera hasta la aparición de eventos cardiovasculares precoces”.

Pero, aparte de las consecuencias sociosanitarias, esta enfermedad está teniendo un grave impacto en económico. Por ejemplo, tanto sólo en el Reino Unido, los costes de la diabetes en el National Health Service se sitúan en 6-9 mil millones de euros (prácticamente la mitad se dedica a la diabetes tipo 1). Y su prevalencia va en aumento, por lo que cabe esperar que en los próximos años aumente el número de casos (especialmente en los países occidentales), un hecho que resulta especialmente importante si se tiene en cuenta que, a día de hoy, no se conoce ninguna cura para la enfermedad ni tampoco se produce su remisión espontánea.

Una aproximación patológica a la diabetes tipo 1 permite determinar el papel y la función que desempeña la insulina en estos casos, así como el proceso que se sigue hasta llegar a un déficit crónico de la misma.

La insulina es la hormona que permite disponer a las células del aporte necesario de glucosa para los procesos de síntesis con gasto energético. De esta glucosa, mediante glucólisis y respiración celular, se obtendrá la energía necesaria en forma de adenosina trifosfato. Su función es la de favorecer la incorporación de la glucosa sanguínea en las células, de manera que es liberada por

las células pancreáticas cuando el nivel de glucosa en sangre es alto.

Una manera de detectar si las células β del páncreas producen insulina, es analizando la presencia del péptido C en sangre. Este péptido se libera a la sangre cuando las células β procesan la proinsulina, convirtiéndola en insulina. Cuando sólo entre un 10 y un 20% de las células β están en buen estado, comienzan a aparecer los síntomas de la diabetes. En el momento del diagnóstico de la diabetes tipo 1, más del 80% de los islotes pancreáticos están destruidos.

La diabetes tipo 1 es el resultado de que el sistema inmunológico ataque y destruya a las células pancreáticas que producen insulina. Hasta el momento, el mecanismo por el cual el cuerpo ataca sus propias células productoras de insulina en el páncreas no se entiende completamente. Sin embargo, el equipo del Dr. Peakman ha logrado aislar una célula T de un paciente con diabetes tipo 1 para ver la interacción molecular que da como resultado la muerte de células productoras de insulina en el páncreas. Así, se ha descubierto que los linfocitos T, que ayudan a protegernos de la enfermedad, en determinadas condiciones pueden convertirse en citotóxicos y destruir las células que producen insulina. En definitiva, se ha logrado demostrar cómo las células T pueden desempeñar un papel importante en las enfermedades autoinmunes, como la diabetes, comprobándose, por primera vez, el mecanismo por el cual estas células pueden atacar las células del cuerpo para causar la enfermedad. Para el Dr. Peakman, “esta primera visión de cómo las células T asesinas entran en contacto con las células que producen la insulina es muy esclarecedor y aumenta nuestra comprensión de cómo puede surgir la diabetes tipo 1”.

“Este conocimiento se utilizará en el futuro para predecir quién podría desarrollar la enfermedad y también para crear nuevos enfoques que impidan su aparición. Nuestro objetivo es detectar la enfermedad temprano, antes de que muchas células productoras de insulina

hayan sido dañadas”, añadió este experto. Según opina, una mejor comprensión de este proceso pondrá a los investigadores de diabetes tipo 1 en una posición mucho más fuerte para explorar nuevas formas de prevenir o detener la enfermedad.

Pero no sólo desde el punto de vista patológico se ha dado un paso adelante en este ámbito; también se ha avanzado significativamente en el descubrimiento de los factores genéticos predisponentes. En la última década se ha amplificado sobremanera el conocimiento que se tiene sobre la diabetes tipo 1 gracias, fundamentalmente, a la revolución de la genética y, más específicamente, al empleo y abaratamiento de los estudios de genoma completo. Por ejemplo, se han logrado identificar variantes de genes normales que son mucho más frecuentes en los diabéticos.

Un modelo a seguir

Partiendo de estos progresos en el conocimiento de la patología y genética de la diabetes, el grupo de Mark Peakman ha definido un modelo en el que se incluyen los principales protagonistas del sistema inmunitario implicados en la génesis de esta enfermedad.

En la diabetes tipo 1, los islotes pancreáticos son atacados y agredidos por factores inmunitarios. Se causa inflamación en las células β y las células presentadoras de antígeno viajan hasta el ganglio linfático pancreático más cercano, destruyendo en su camino las células β . Este proceso, donde también interviene el complejo mayor de histocompatibilidad (HLA), termina por activar los linfocitos T que, a su vez, promueven la aparición de citocinas proinflamatorias. Estos factores inflamatorios se trasladan por medio de la sangre a los islotes pancreáticos, cerrándose así un círculo vicioso nefasto e imparable.

En todo este proceso descrito, según subrayó en su conferencia el Dr. Peakman, “la presentación de antígenos a los linfocitos T es un paso clave, erigiéndose en el factor genético predisponente más importante”. En la

susceptibilidad genética a la diabetes mellitus autoinmune de tipo 1A (DM1A) intervienen múltiples genes. El principal gen de predisposición a la enfermedad se localiza en la región HLA del cromosoma 6. Los polimorfismos en este complejo parecen representar del 40 a 50% del riesgo genético de padecer DM1A. Esta región contiene genes que codifican las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II, que presentan el antígeno a las células T colaboradoras y por tanto participan en el inicio de la reacción inmunitaria. La capacidad de las moléculas de clase II del MHC de presentar el antígeno depende de la composición de aminoácidos en el lugar de unión del antígeno. Las sustituciones de aminoácidos pueden influir en la especificidad de la respuesta inmunitaria, alterando la afinidad de los diferentes antígenos por las moléculas de clase II.

La mayoría de los diabéticos de tipo 1A tienen los haplotipos HLA DR3, HLA DR4 o ambos. La depuración de los procedimientos de genotipificación de los *loci* HLA ha permitido demostrar que los haplotipos DQA1*0301, DQB1*0302, DQA1*501 y DQB1*0201 están más fuertemente asociados con la diabetes 1A. Estos haplotipos están presentes en 40% de los niños con DM1A, pero sólo en el 2% de la población sana de Estados Unidos.

Además de las asociaciones al HLA de clase II, al menos 17 *loci* diferentes pueden contribuir a la vulnerabilidad a la DM1A. Por ejemplo, algunos polimorfismos en la región promotora del gen de la insulina explican casi 10% de la predisposición a esta diabetes. También existen genes que confieren protección contra el desarrollo de la enfermedad. Así, los haplotipos DQA1*0102 y DQB1*0602 están presentes en 20% de la población

“En la diabetes tipo 1, el sistema inmune ataca y destruye las células pancreáticas productoras de insulina.”

de Estados Unidos, pero son extremadamente raros en individuos con DM1A (< 1%).

En general, según los estudios del Dr. Mark Peakman, se podrían distinguir tres conjuntos de genes implicados en tres momentos diferentes de la enfermedad, interviniendo en distintos procesos involucrados en la predisposición o no a sufrir este trastorno. Según comentó, “aparte del conjunto de genes relacionados con la presentación de antígenos a los linfocitos T, se han identificado genes especialmente asociados con la regulación del sistema inmune (donde desempeñan un papel determinante las citocinas antiinflamatorias, como IL10) y otro grupo de genes que modulan la susceptibilidad patogénica”. De esta forma, un estímulo medioambiental adecuado o no sobre estos grupos de genes determinará la protección frente a la enfermedad o, por el contrario, iniciará la “tormenta perfecta” que inducirá la destrucción de las células β pancreáticas.

Durante los últimos años, el Instituto Nacional de Investigación en Salud (NIHR) y el Centro de Investigación Biomédica del King's College de Londres se han ocupado preferentemente del estudio de los péptidos que participan en el proceso de presentación de antígenos a las células T, lo que les ha permitido identificar células T citotóxicas que tenían como diana la insulina y que asesinaban a las células β humanas. Entre otros estudios se ha procedido a clonar estas células extraídas de pacientes diabéticos, demostrando por primera vez que éstas podían realmente eliminar células β humanas.

De esta manera, se ha demostrado la asociación directa de las células T autorreactivas con la destrucción de las células β en los islotes pancreáticos humanos de la diabetes tipo 1, así como se ha arrojado algo más de luz sobre la progresión de la enfermedad después del diagnóstico. Una vez conocida la existencia de células T citotóxicas que reconocen la insulina y que son capaces de matar a las células β humanas, el siguiente paso ha sido determinar si estas células podrían estar presentes en los islotes donde fallecen las células β humanas. Un trabajo

de Coppieters et al. ha confirmado que las células T que provocan la muerte de las células β no sólo se encuentran en la sangre, sino que también están en los islotes.

Otro de los ámbitos incipientes de investigación del grupo de trabajo de Peakman se ha centrado en tratar de comprender mejor desde el punto de vista molecular esta interacción entre las células T citotóxicas y las células β . Un artículo de Bulek et al., que próximamente se publicará en *Nature Immunology*, ha desentrañado las bases estructurales del asesinato de células β humanas por parte de las células T CD8+ en la diabetes tipo 1. Aunque se había conseguido conocer las características estructurales de la relación entre los autoantígenos del complejo de histocompatibilidad de clase II con los receptores de células T autorreactivas, se desconocía cómo los receptores para el antígeno de células T interactuaban con complejos de autopéptido y complejos de histocompatibilidad clase I. Sin embargo, como llamó a atención el ponente, “esta interacción documentada ha sido extraordinariamente débil (es la más leve afinidad al antígeno agonista natural encontrada hasta el momento) debido, fundamentalmente, a los contactos limitados con el complejo de histocompatibilidad de clase I. La unión a los receptores de antígeno de células T está dominada por dos residuos de la región determinante de la complementariedad que actúan como un *aromatic cap* sobre el complejo del péptido y el complejo de histocompatibilidad de clase I.

Gracias a estas investigaciones, y tratando de dar un paso más en la traslación de los resultados hacia el manejo clínico de la diabetes tipo 1, se ha llegado a encontrar que un único receptor de célula T autoinmune es capaz de reconocer más de un millón de péptidos diferentes. Un análisis experimental y matemático ideado por Wooldridge et al. ha revelado que un único clon de célula T CD8+ autoinmune derivado de un paciente con diabetes tipo 1 es capaz de reconocer más de un millón de distintos péptidos en el contexto de una simple molécula del complejo de histocompatibilidad de cla-

“El rituximab, utilizado para tratar el cáncer y la artritis reumatoide, podía retrasar el desarrollo de la diabetes tipo 1.”

se I. En este estudio también ha sido posible identificar un gran número de péptidos que actúan como mejores agonistas que los péptidos derivados de la preproinsulina; así, por ejemplo, el péptido RQFGPDFPTI fue más de 100 veces más potente que el péptido índice, a pesar de que difería de su secuencia en 7 de 10 posiciones. Para los autores de este trabajo, la cuantificación de elevados niveles de reactividad cruzada de las células T CD8+ previamente inapreciados representa un importante paso para entender mejor los requerimientos de la inmunidad adaptativa y arroja una información determinante sobre el potencial que tiene la degeneración de receptores de las células T como factor causante de enfermedades autoinmunes. Como mensaje para la reflexión extraído de este estudio, el Dr. Peakman destacó que “nos ha sugerido que el péptido antigénico que estimula la muerte de las células T podría no proceder originariamente de la insulina”.

En cuanto a la influencia de ciertos genes en la inmunorregulación, un estudio recientemente publicado por Arif et al. ha señalado que las respuestas de las células T autorreactivas muestran una polarización proinflamatoria en la diabetes, pero no así en un fenotipo regulatorio en modelos sanos. Por su parte, Tree et al. han concluido que las células T CD4 humanas surgidas de forma natural y que reconocen los islotes autoantígenos y secretan IL10 se encargan de regular las respuestas de las células T proinflamatorias por medio de un proceso de supresión. Se pone de manifiesto que el balance de células Th específicas de los islotes en sangre periférica en la diabetes tipo 1 es anormal.

En la diabetes se produce un fenómeno de inmunorregulación defectuosa, en el que está involucrado un

conjunto definido de genes que se encargan de controlar la respuesta inmunitaria (*CD25, CTLA4, IL10*). En este sentido, el ponente recordó que la IL10 se comporta de forma protectora frente a la diabetes, existiendo en estos momentos estudios en los que se apunta que las personas con niveles elevados de esta interleucina desarrollan la enfermedad, por término medio, unos 7 años más tarde en comparación con aquellas que registran tasas más bajas.

El tercer conjunto de genes sobre el que se está centrandose la investigación de Mark Peakman es el que está implicado en la susceptibilidad patógena. Ahí se han logrado identificar los siguientes genes candidatos: *IFIH1, EBI2, TLR7/TLR8, BACH2* y *FUT2*. Se ha sugerido que este grupo de genes, que se encargan de controlar cómo se interactúa con patógenos externos, podrían estar relacionados con un complejo proceso de sensibilidad frente a los patógenos, informado incluso sobre cuándo es demasiado elevada la respuesta inmunológica frente al daño progresivo que se produce en las células β de las personas con riesgo de sufrir diabetes.

Opciones terapéuticas

Una vez diseñado y asumido el modelo patogénico y genético de la diabetes tipo 1, se abren numerosas opciones terapéuticas. Para el Dr. Peakman, se plantean dos posibles tipos de abordaje de esta enfermedad.

Por un lado, se puede optar por la denominada supresión inmunológica. En pacientes con diabetes tipo 1, la respuesta autoinmune destruye las células productoras de insulina en los islotes pancreáticos; para evitar la enfermedad, las células inmunoautorreactivas necesitan ser suprimidas o eliminadas sin producir efectos secundarios. Como ejemplo de este tipo de abordaje, se cuenta con datos sugerentes con antiCD3, rituximab o abatacept.

Una de las terapias desarrolladas frente a la eliminación de las células productoras de insulina es la administración de un anticuerpo contra la molécula

“Es posible que en la próxima década haya una revolución terapéutica que permita curar la diabetes.”

CD3 que producen la mayoría de las células T. Este anticuerpo promueve el funcionamiento de las células T reguladoras, que frenan una respuesta inmune excesiva. Se ha apuntado que la combinación de un tratamiento oral de anticuerpos CD3, además de la administración intranasal de péptidos proinsulínicos, consigue revertir en ratones la diabetes tipo 1 de reciente aparición, con resultados mucho más satisfactorios que en el caso de la monoterapia antiCD3 o de péptidos en solitario. La supresión de la respuesta inmune en este sentido promueve la regeneración de las células pancreáticas productoras de insulina mediante un proceso regenerativo natural en modelos animales.

Lograr depleciones selectivas de los linfocitos B gracias al uso de rituximab, un anticuerpo antiCD20, también ha despertado un gran interés terapéutico. Este anticuerpo, que se utiliza para tratar ciertos tipos de cáncer y artritis reumatoide, también podría tener un buen efecto en el retraso del desarrollo de la diabetes tipo 1. Distintos trabajos han indicado que el uso de este fármaco puede agotar las células B relacionadas con el desarrollo de diabetes; después de una eliminación exitosa de las células B, las células reguladoras (B y T) emergen para continuar con la supresión de la respuesta inflamatoria y autoinmune aún después de que regresen las células B. La evidencia experimental muestra que, en ratones mutados, las células B desempeñan un papel fundamental en las enfermedades autoinmunes al interactuar con las células T del sistema inmune, las cuales destruyen las células productoras de insulina en el páncreas, provocando la diabetes tipo 1.

Por su parte, abatacept es un modulador de coestimulación selectivo, dado que inhibe la coestimula-

ción de las células T. Este fármaco impide que la célula presentadora de antígeno tipo 1 (APC) envíe la señal coestimuladora a las células T con el fin de activarlas. Generalmente, la activación total de la célula T requiere: 1) la unión del receptor de células T al antígeno HLA en la célula presentadora de antígeno; y 2) una señal coestimuladora provista por la unión de la proteína CD28 de las células T a la proteína B7 de la APC. Abatacept, que posee un sitio de alta afinidad al B7, actúa uniéndose a la proteína B7 en las APC, evitando así que estas células envíen la señal coestimuladora al linfocito T para su activación total. En pacientes diabéticos que se encuentran en la denominada “fase de luna de miel” de la enfermedad (período en el que disminuye momentáneamente la necesidad diaria de insulina), abatacept ha demostrado que puede proteger a las células β del ataque autoinmune.

Sin embargo, Mark Peakman también encuentra algunas limitaciones a este tipo de abordaje, “puesto que la diabetes tipo 1 afecta sobre todo a niños y no debemos olvidar que este tipo de tratamiento que se está investigando se basa en una estrategia inmunosupresora, lo cual despierta muchos recelos cuando se plantea su administración a largo plazo en una población tan susceptible”.

Por este motivo, Mark apuesta por otro tipo de terapias que, de una forma más sutil, pueden combatir los déficits inmunitarios encontrados en la génesis de esta enfermedad. En este sentido, emerge el concepto de la inmunoterapia específica de antígeno para hacer frente a las enfermedades autoinmunes. Se trata, en definitiva, de administrar autoantígenos para inducir o reestablecer la tolerancia al mismo antígeno o a los tejidos diana de la respuesta autoinmune. Patologías alérgicas y enfermedades como la esclerosis múltiple ya se están beneficiando de este tipo de estrategia terapéutica. Sin embargo, como recordó el experto británico, “esta forma de tratar las enfermedades no es nueva” y ya hay ejemplos en la literatura médica de hace casi un siglo que

evidencian, por ejemplo, el beneficio de la inoculación profiláctica capaz de desarrollar una inmunidad activa frente a la toxina responsable de la fiebre del heno.

Como ejemplo de una aproximación terapéutica similar, recientemente se ha utilizado una sofisticada “vacuna” basada en nanotecnología para curar a ratones con diabetes tipo 1 y frenar el comienzo de la enfermedad en otros en riesgo de contraerla. Un estudio, llevado a cabo en la Universidad de Calgary en Alberta (Canadá), ha mostrado que es posible detener la respuesta autoinmune causa de la diabetes tipo 1 sin dañar las células inmunitarias que brindan protección contra infecciones. Los investigadores desarrollaron una vacuna única compuesta por nanopartículas, cuyo tamaño es miles de veces más pequeño que el de una célula. Estas nanopartículas están revestidas con péptidos específicos de la diabetes tipo 1 y se unen a moléculas HLA, que desempeñan un papel crítico en la presentación de péptidos a las células T. La función de la vacuna de nanopartículas consiste en incrementar el número de células reguladoras T específicas del péptido que suprimen la agresión inmunitaria específica responsable de la destrucción de las células β . Las células reguladoras específicas de péptido así fortalecidas neutralizan la agresión autoinmune al prevenir que las células autoinmunitarias agresivas se vean estimuladas, ya sea por los péptidos presentes en la vacuna o por cualquier autoantígeno específico de la diabetes tipo 1 presente simultáneamente en la misma célula portadora del antígeno. Esta investigación también abre importantes perspectivas respecto a la posibilidad de traducir estos resultados obtenidos con ratones en terapias para diabéticos: unas nanopartículas que contenían moléculas humanas relacionadas con la diabetes pudieron restablecer niveles glucémicos nor-

males en un modelo de diabetes humana reproducida en ratones. Sólo aquellas células inmunitarias específicamente centradas en la agresión y destrucción de células β respondieron a la vacuna de nanopartículas antígeno-específica, por lo que el tratamiento no afectaba al resto del sistema inmune.

También ha despertado grandes perspectivas una terapia específica que explota las ventajas de la inmunoterapia para prevenir y revertir la diabetes tipo 1, como es la inmunoterapia de péptidos de proinsulina. Un trabajo ya clásico de Thrower et al. mostró los resultados de seguridad obtenidos con esta terapia (inyecciones intradérmicas mensuales, probándose dosis de 10, 100 y 1.000 μg) en el primer paciente sometido a una administración intradérmica de un péptido natural de proinsulina (C19-A3). El estudio evidenciaba que este recurso es seguro y bien tolerado, no asociándose con el riesgo de hipersensibilidad alérgica sistémica o inducción/reactivación de daño proinflamatorio mediado por células T. Se observa cómo tras la administración de dosis bajas del péptido de proinsulina se induce una respuesta IL10; no se aprecia incremento de autoanticuerpos ni de anticuerpos antipéptido, ni inducción de citocinas proinflamatorias. Gracias a estos hallazgos, se está evaluando si esta inmunoterapia podría tener efectos beneficiosos sobre los marcadores de autoinmunidad de la células T y sobre la preservación de la masa de células β . Incluso, se ha puesto en marcha un estudio fase Ib para tratar de reproducir estos resultados.

Sin duda, concluyó el ponente, “con estos avances y, especialmente con el conocimiento que se está acumulando en relación con la patogénesis y la implicación genética de esta enfermedad, esperamos que en la próxima década haya una verdadera revolución terapéutica que permita la curación de la diabetes tipo 1”.

Del laboratorio a la clínica: retos traslacionales en artritis infantil

Berent Prakken

Catedrático de Inmunología pediátrica en el Centro de Intervención Molecular y Celular de la Universidad de Utrech, Países Bajos

La artritis infantil y juvenil es un trastorno que, a pesar de su trascendencia sociosanitaria y económica, suele infravalorarse. Para avanzar en su manejo, y según se desprende de un documento de consenso de expertos reunidos en la Royal Academy of Sciences, se deben superar con éxito los tres grandes retos que se plantean actualmente en relación con el abordaje de las enfermedades autoinmunes: 1) impulsar una medicina personalizada, capaz de ofrecer una terapia a la medida de cada paciente (o subgrupo de pacientes); 2) alcanzar una remisión duradera de la enfermedad (con prolongados períodos de tiempo libres de progresión); y 3) identificar y emplear nuevos biomarcadores.

Partiendo de esta exigencia, y puntualizando uno de los aspectos señalados, el Prof. Berent Prakken insistió especialmente en el beneficio que se puede extraer de un tipo de aproximación terapéutica más personalizada, puesto que “esto no sólo supondría aumentar las tasas de eficacia actuales, sino también reducir significativamente los frecuentes (y en algunos casos debilitantes y graves) efectos adversos derivados del tratamiento”.

Un primer paso, esencial, para acercar la posibilidad de establecer terapias más individualizadas es identificar adecuadamente los distintos subtipos de artritis existentes, ya que esto abre la posibilidad de adecuar los recursos terapéuticos a las características propias de cada subclase de patología. En estos momentos se distinguen, básicamente, tres subtipos de artritis idiopática: no remitente, autolimitante y autoinflamatoria.

La artritis idiopática juvenil (AIJ) es un grupo heterogéneo de enfermedades que afecta a niños menores de 16 años; en la mayor parte de los casos, se desconoce la inmunopatogénesis. Aunque el inicio y el curso de la enfermedad difieren mucho de unas a otras, los subtipos de AIJ comparten algunos rasgos comunes: aparición de inflamación crónica en las articulaciones, con infiltraciones de células inmunocompetentes que secretan mediadores inflamatorios.

En la AIJ, el sistema inmunitario ataca a la membrana sinovial (tejido que recubre la articulación). La membrana sinovial se inflama, causando hinchazón,

Reseña biográfica

Estudió Medicina en la Universidad de Groningen y se especializó en Pediatría en la Universidad de Utrech, donde también realizó su residencia en Inmunología clínica y se doctoró cum laude en 1997. Continuó su investigación en la Universidad de California, San Diego. Desde el año 2000 dirige un grupo de investigación que estudia la regulación de la inflamación en las enfermedades inflamatorias crónicas, centrándose principalmente en el papel de las células reguladoras en el control de la inflamación, el desarrollo de una terapia inmune para la artritis y el papel de las proteínas *heat shock* como dianas para la regulación inmune específica. El trabajo de este grupo de investigación ha recibido numerosos premios nacionales e internacionales. EL Dr. Prakken también es el director científico del Instituto Eureka para Medicina Traslacional.



Berent Prakken

“Para establecer terapias individualizadas es necesario identificar los subtipos de artritis existentes.”

dolor y rigidez. Este proceso puede diseminarse a los tejidos circundantes, lo que deteriora el cartilago y el hueso.

No se sabe exactamente qué es lo que provoca la artritis reumatoide en los niños. Las investigaciones indican que se trata de una enfermedad autoinmune. En las enfermedades autoinmunes, los glóbulos blancos pierden la capacidad de detectar la diferencia entre las células y los tejidos del propio cuerpo, por un lado, y los gérmenes invasores como las bacterias y los virus, por el otro. El sistema inmunitario, que se supone debería proteger al organismo de esos invasores nocivos, libera unas sustancias químicas que atacan a los tejidos sanos del propio cuerpo, provocando inflamación y dolor.

El papel de la inflamación

Estudios pivotaes publicados en los últimos 5-6 años en pacientes con AIJ han supuesto un importante progreso en varias áreas, desde una mejor clasificación de los subtipos de artritis juvenil hasta el desarrollo de nuevos tratamientos.

Por su parte, los estudios de perfiles de expresión génica han hecho posible además la identificación de diferentes mecanismos inmunológicos en distintos subtipos de la enfermedad, y están ayudando a redefinir los criterios para clasificar la AIJ. Sin embargo, “a diferencia de lo que sucede con la diabetes tipo 1, la AIJ es tremendamente heterogénea y hay muchos genes implicados en su desarrollo; además, también los factores ambientales desempeñan en este caso un papel determinante”, afirmó el Dr. Prakken; en concreto, aventuró, “puede haber un millón de desencadenantes, lo que produce daños tisulares e inflamación local en la articulación”.

En el momento en el que existe inflamación en la articulación, se evidencia la expresión de autoantígenos y empieza a ponerse en marcha la maquinaria del sistema inmunológico. Una vez establecida la inflamación local, existen factores capaces de empeorar el proceso inflamatorio iniciado.

Estudios inmunológicos han conseguido demostrar que la artritis idiopática juvenil sistémica es una enfermedad autoinflamatoria adquirida, lo que ha dado lugar a estudios que han alcanzado un relevante grado de éxito a la hora de confirmar el beneficio que se puede derivar del bloqueo de las interleucinas 1 (IL1) y 6 (IL6). En algunas formas de la enfermedad, la inflamación sinovial es la consecuencia de un balance alterado de células efectoras proinflamatorias (como las células Th17) y las células antiinflamatorias reguladoras (como las células T reguladoras, Treg).

El equilibrio inflamatorio es un delicado proceso, que puede alterarse por la mínima influencia de una serie de factores desencadenantes o precipitantes. La cirugía cardíaca se ha convertido en un modelo adecuado para analizar estos aspectos, dado que se trata de una situación en la que se consigue reproducir una acusada y aguda inflamación que tiene un carácter remitente y transitorio. En este modelo se puede obtener una muestra del paciente antes (en una hipotética situación de equilibrio inflamatorio), durante (con un repunte extraordinario de los factores proinflamatorios) y después de la intervención (cuando el sistema inmunológico tiende a equilibrar los factores pro y antiinflamatorios); por todo ello, la cirugía cardíaca se ha constituido en un modelo adecuado para visualizar claramente el proceso de activación inmunológica.

Recientemente, Schadenberg et al. han publicado un estudio que ofrece pistas cruciales sobre el papel de las células Treg en el proceso inflamatorio, utilizando para ello un modelo de inflamación transitorio (cirugía pediátrica para corrección de un defecto en el *septum* cardíaco). Asumido el rol protagonista de las células Treg

en el control de la inflamación, los expertos que trabajan con el Dr. Prakken han dado un paso más. Aunque el factor de transcripción FOXP3 es el marcador fenotípico más aplicable para las Treg, éste no caracteriza indiscutiblemente por sí solo la función supresora durante la activación de las células T in vitro. Por ello, se trató de dilucidar cuál es la funcionalidad de las células T FOXP3(+) durante la inflamación in vivo.

Estos expertos han investigado las células T FOXP3(+) en un modelo humano de inflamación aguda debido a la realización de una cirugía cardíaca. Tras la intervención quirúrgica pudieron observar una respuesta inflamatoria sistémica transitoria acompañada por un aumento de la proporción de células T CD25 con un fenotipo Treg mantenido. Durante esta activación inmunitaria transitoria, se elevó tanto el porcentaje de células CD4(+) FOXP3(+) como el nivel de expresión de FOXP3 en la población CD4(+), CD25 y CD127. Mientras que las células Treg estuvieron presentes durante la inflamación sistémica y continuaron siendo anérgicas, se redujo la capacidad de suprimir células T efectoras. Se sugiere, además, que el estado supresor reducido de las Tregs pudo inducirse in vitro con plasma obtenido durante el pico inflamatorio tras la cirugía. Según los autores de este estudio, los hallazgos obtenidos revelan que la inflamación inhibe la función Treg por medio de factores solubles presentes en el plasma, así como subrayan el papel funcional de Treg FOXP3(+) durante la inflamación in vivo.

Partiendo de estas explicaciones, el ponente se preguntó por qué no todos somos capaces de desarrollar autoinmunidad ante una pequeña inflamación. Son muchas las respuestas que se están defendiendo, pero posiblemente la clave está en las células T reguladoras del sistema inmunológico.

La principal dificultad, según comentó el Berent, “es que la mayor parte de evidencias que acumulamos en este ámbito de la investigación proceden de la experimentación animal y luego tenemos serias dificultades

“A pesar de haber múltiples estudios en ratas, ningún modelo de artritis juvenil se ha validado en humanos.”

para trasladar los hallazgos a humanos”. Hay más de 4.000 artículos recogidos en PubMed sobre el tratamiento de la artritis en ratas, pero no hay un modelo validado para la AIJ y, por lo tanto, ninguno de esos tratamientos estudiados puede actualmente aplicarse en los pacientes que sufren esta enfermedad.

Artritis oligoarticular y sistémica

La mejor forma de afrontar este obstáculo es basarse en subtipos de AIJ bien definidos clínicamente, como la AIJ oligoarticular, una enfermedad autoinmune, autolimitante y autorremite. En este grupo, la artritis afecta a cuatro o menos articulaciones en los primeros seis meses de la enfermedad. Si después de estos seis meses se ven afectadas más de cuatro articulaciones, se define como artritis oligoarticular extendida; de lo contrario, se conoce como artritis oligoarticular persistente.

Principalmente afecta a niñas de 1 a 3 años de edad, que superan a los niños en una proporción de 4:1. A pesar de que todas las razas pueden verse afectadas, ocurre con menor asiduidad en no caucásicos. Cerca del 70% de los pacientes con AIJ oligoarticular tienen anticuerpos antinucleares (ANA) positivos. En orden de frecuencia, las articulaciones más afectadas son las rodillas, los tobillos y las articulaciones pequeñas de las manos. La mayoría de los niños se quejan de dolor, rigidez matinal y limitación funcional. Sin embargo, el 25% de los niños niega dolor y sólo se observa hinchazón articular. En la oligoartritis, hasta el 20% de los pacientes pueden desarrollar iridociclitis, que suele ser asintomática, siendo más frecuente en los niños con ANA positivo. En cuanto al laboratorio, los reactantes de fase aguda pueden estar elevados, pero esto no siempre ocurre. El

“La investigación de enfermedades pediátricas no es un interés prioritario para la industria.”

hemograma no presenta mayores alteraciones y el factor reumatoide es negativo.

Tratando de hallar justificación al carácter auto-remitente de este subtipo de AIJ, el experto holandés retomó su discurso sobre la importancia de las células Treg. Se han descrito dos tipos de células T reguladoras en la artritis idiopática infantil: 1) las células Treg CD4+FOXP3+ naturales; y 2) las células T Hsp60-específicas. Una mayor o menor presencia de cada una de ellas podría determinar, en gran parte, el pronóstico de los pacientes.

En cuanto a la artritis sistémica, se caracteriza por artritis, fiebre diaria de 39 °C o más durante más de dos semanas y al menos uno de los siguientes trastornos: exantema evanescente, linfadenopatía, serositis o hepatoesplenomegalia. La fiebre se presenta característicamente en picos diarios de al menos 39 °C, una o dos veces al día, acompañada de una erupción evanescente macular/urticariiforme. La complicación más seria de este tipo de AIJ es el síndrome de activación de macrófagos (SAM), que se caracteriza clínicamente por anemia, ictericia, hepatoesplenomegalia, púrpura y encefalopatía; la determinación de laboratorio incluye anemia, pancitopenia (mínimo de dos líneas celulares), aumento de aminotransferasas y bilirrubina, prolongación del TP y del TTPA, hipofibrinogenemia, elevación de ferritina, CD25 y CD163 solubles. La mortalidad es elevada y el tratamiento controvertido, utilizándose altas dosis de esteroides, ciclosporina o etoposide. En los estudios de laboratorio de la AIJ de inicio sistémico, se pueden encontrar niveles muy elevados de proteína C reactiva y velocidad de sedimentación globular, neutrofilia, trombocitosis y anemia. El ANA es negativo y el factor reumatoide puede estar normal o elevado.

Aunque es una patología con una significativa carga genética, se trata de una enfermedad adquirida en la que se han dado importantes pasos en los últimos años para conocer la causa que la provoca. La opción de emplear citocinas como biomarcadores en esta enfermedad está plenamente justificada, tanto por el hecho de que la fase efectora de la autoinmunidad está dirigida por citocinas como por la posibilidad de utilizar los receptores de las citocinas diana como caldo de cultivo para el desarrollo de terapias específicas.

Dando el paso hacia la clínica

En este sentido, el Dr. Prakken resaltó los estudios (gran parte de ellos firmados por Jager et al.) que han permitido identificar biomarcadores específicos que pueden servir de guía para un tratamiento individualizado de esta enfermedad, situando la IL18 como un factor de esencial trascendencia en estos casos.

Utilizando el *immunoassay multiplex*, el equipo del Prof. Prakken examinó 30 citocinas en el plasma de 65 pacientes con artritis idiopática juvenil; estos datos fueron comparados con plasma de 20 controles sanos y de 9 pacientes con diabetes tipo 1. Los autores concluyeron que varias citocinas (IL18, MIF, CCL2, CCL3, CCL11, CXCL9 y CXCL10) podrían corresponderse con el estatus de activación durante la inflamación en la AIJ, pudiéndose utilizar para monitorizar la actividad de la enfermedad y los resultados de posibles inmunoterapias.

Partiendo de estos hallazgos, recientemente se ha hipotetizado que la IL18 podría elevar la función de las células *natural killer* (NK), inducir la liberación de perforina y la expresión de IFN γ , y tener una señalización similar a la producida en la vía IL1. Este grupo ha comprobado en sus estudios cómo la IL18 se une al receptor de células NK en la AIJ sistémica, aunque fracasa a la hora de inducir la señalización *downstream* debido a un defecto de fosforilación en el receptor β de la IL18. “Aunque los niveles de citocinas en plasma por sí so-

los tienen un valor muy limitado, un análisis múltiple podría ofrecer una información adicional de interés”, declaró Berent.

Estas evidencias han abierto numerosas posibilidades terapéuticas. Actualmente está pendiente de publicación un estudio de Jager y Vastert en el que han investigado si el bloqueo con un antagonista del receptor IL1 restaura el eje IL18/células NK en la artritis juvenil idiopática. Los resultados preliminares muestran cómo el antagonista IL1R es altamente eficaz como primera línea de tratamiento en la AIJ y se correlaciona con un incremento del número de células NK y una mejora en la funcionalidad de estas células. Por lo tanto, adelantó el ponente, “un tratamiento precoz basado en el bloqueo de la IL1 podría restaurar la biología de la artritis juvenil idiopática sistémica, reestableciendo el nivel de IL18; en concreto, se ha observado que casi el 80% de los casos refieren remisión de la enfermedad y en la mayor parte de ellos se ha podido suspender la medicación”.

Sin embargo, desde el punto de vista clínico, Berent Prakken reconoció las dificultades para trasladar estos hallazgos a enfermedades pediátricas. “Por una parte, la investigación en enfermedades pediátricas no es la punta de lanza de la investigación ni de primer interés para la industria, la prensa, las fundaciones, la universidad...

Junto a ello, es evidente la completa falta de modelos relevantes aplicables. Además, muchos de los fármacos investigados no han sido adecuadamente ni suficientemente probados en niños. Finalmente, la posible aparición de efectos secundarios es un problema de primer orden, que despierta especiales susceptibilidades cuando concurren en la población pediátrica.”

Como ejemplo de estas dificultades, cabe reseñar la reciente advertencia de la FDA sobre el uso de tratamiento anti-TNF en niños. Este anuncio viene motivado por el aumento de incidencia de tumores en niños tratados con bloqueantes del TNF, así como el incremento de otras enfermedades inmunes asociadas al cáncer (linfoma, leucemia...). Dado el número y los tipos de tumores referidos, así como el reducido número de niños tratados con esta terapia, esta alarma está plenamente justificada.

El Dr. Prakken puso punto y final a su alocución destacando el papel que está desarrollando el Eureka Institute for Translational Medicine, una institución de reconocido prestigio que se ha marcado como objetivo preparar a la comunidad de profesionales para asumir los dictados de la medicina traslacional, que facilita la evolución desde la identificación de la prueba de concepto hasta los humanos. |

Creando el mapa de la susceptibilidad genética y un modelo de patogénesis en esclerosis múltiple

Jorge R. Oksenberg

Catedrático del Departamento de Neurología, Universidad de California. San Francisco, Estados Unidos

El modelo más aceptado hasta el momento en la comunidad científica para estudiar y entender la esclerosis múltiple (EM) esboza el siguiente escenario patológico: por mecanismos aún no bien conocidos, se inicia una respuesta inmunitaria no regulada en la periferia que termina por inducir inflamación en el sistema nervioso central (donde se produce una lucha por defenderse de la excesiva respuesta inmunitaria), dando lugar finalmente a neurogeneración (caracterizada fundamentalmente por una destrucción de la mielina).

Sin embargo, recientemente algunos científicos han propuesto un nuevo escenario que explicaría el desarrollo patogénico de la EM, señalando que al menos en algunos individuos la enfermedad muestra un patrón diferente: la esclerosis múltiple comienza como un proceso neurodegenerativo y de destrucción de la mielina, lo que provoca una respuesta inmune que, a su vez, precipita una exagerada inflamación en el sistema nervioso central que agrava la neurodegeneración. Se establece, por lo tanto, un círculo vicioso retroalimentado que tiene la neurodegeneración como principal factor precipitante.

Una visión de la esclerosis múltiple

La EM es una enfermedad debilitante y discapacitante que consiste en la aparición de lesiones desmielinizantes, neurodegenerativas y crónicas del sistema nervioso central. Se trata de una enfermedad inflamatoria crónica, con un fuerte componente genético y, de hecho, varias líneas de evidencia apoyan un papel

importante los factores genéticos (que influyen tanto en la susceptibilidad a la enfermedad como en los resultados clínicos).

La incidencia de EM se ha elevado sin pausa durante el siglo xx. Se cree que, en la actualidad, hay aproximadamente de 250.000 a 350.000 personas en Estados Unidos con EM diagnosticada por un médico, lo que indicaría que cada semana se diagnostican aproximadamente 200 casos nuevos en este país. Lo cierto es que su prevalencia es especialmente elevada en Europa del Norte y América del Norte; en estas zonas, aproximadamente una de cada 1.000 personas sufre EM (en Europa Central es la enfermedad inflamatoria del sistema central nervioso más común).

Reseña biográfica

El Dr. Oksenberg ostenta la Cátedra G.A. Zimmermann de Neurología en la Universidad de California. Realizó su doctorado en Inmunología en la Universidad de Jerusalén, Israel, y se trasladó a la Universidad de California en 1993 después de realizar una estancia posdoctoral en la Universidad de Stanford. Desde 1979, su investigación se ha centrado en el área de la inmunogenética humana y el control de la respuesta inmune. Es autor de numerosos artículos y revisiones en este campo. El Dr. Oksenberg es el investigador principal del Consorcio Internacional de Genética de Esclerosis Múltiple. Desde 2005, además, es editor asociado de *Annals of Neurology*.



Jorge R. Oksenberg

“Cada semana se diagnostican 200 casos nuevos de esclerosis múltiple.”

El clima, la dieta, el geomagnetismo, ciertas toxinas, la luz solar, los factores genéticos y las enfermedades infecciosas se han propuesto como posibles causas de estas diferencias regionales.

Los primeros síntomas suelen aparecer en personas con edades comprendidas entre los 20 y los 40 años, y rara vez por debajo de los 15 o por encima de los 60. Como es el caso de muchas enfermedades autoinmunes, es de 2 a 3 veces más común entre mujeres que en hombres. Entre los niños, que rara vez desarrollan la enfermedad, la proporción puede llegar a tres niñas por cada niño; pero en los casos de personas de más de 50 años suele tratarse de hombres.

Como factores relacionados con la probabilidad de aparición de esta enfermedad, el Prof. Oksenberg destacó “los estudios que han demostrado cierta influencia de la latitud, así como de la herencia, en el riesgo de desarrollo”. Especialmente importante, a su juicio, es la carga genética, “registrándose en aproximadamente un 20% de los casos una historia familiar de enfermedad”. Y es que, según la calificó, “la EM se inscribe dentro de las llamadas enfermedades genéticas humanas complejas”.

Generalmente, las enfermedades genéticas complejas se caracterizan por un riesgo de heredabilidad modesto y unas polifacéticas y multifactoriales interacciones entre ambiente y genes. En el caso de la EM, más allá del impacto de las configuraciones germinales, el riesgo de aparición y progresión está influenciado por mecanismos epigenéticos. Por ello, como explicó el experto argentino, “últimamente el principal objetivo que nos planteamos en la investigación biomédica de la EM no es sólo tratar de explicar su heredabilidad, sino ir más allá y tratar de entender los mecanismos subya-

centes de la enfermedad y usar este conocimiento para desarrollar estrategias preventivas y terapéuticas”.

Desentrañando las bases genéticas

Los factores genéticos pueden desempeñar un papel relevante para determinar la susceptibilidad de una persona a desarrollar EM. Algunas poblaciones, como los gitanos, los esquimales y los bantúes, nunca contraen la EM. Los indios nativos de Norteamérica y Sudamérica, los japoneses y otros pueblos asiáticos tienen tasas de incidencia de EM muy bajas. Sin embargo, aún no está claro si esto se debe principalmente a factores genéticos o a factores ambientales.

En la población en general, la probabilidad de adquirir EM es muy baja. Sin embargo, si un miembro de una familia tiene EM, los familiares de primer grado (padres, hijos y hermanos) de esa persona tienen una probabilidad del 1-3% de contraer la enfermedad. En el caso de los gemelos idénticos, la probabilidad de que el segundo gemelo pueda contraer EM si el primero la tiene es de un 30% aproximadamente. Los gemelos fraternos (que no heredan fondos de genes idénticos) tienen una probabilidad mayor que la de los hermanos no gemelos (un 4%). El hecho de que los gemelos idénticos contraigan la EM en una tasa significativamente más baja del 100% indica que la enfermedad no está totalmente controlada por factores genéticos.

Indicaciones adicionales de que más de un gen entra en juego en la susceptibilidad a la EM provienen de los estudios de familias en las que más de un miembro padece EM. Varios equipos de investigación han encontrado que las personas con EM heredan ciertas regiones en genes individuales más frecuentemente que las personas sin EM. De interés particular es la región del antígeno de leucocitos humanos (HLA, en sus siglas en inglés) o del complejo de histocompatibilidad principal en el cromosoma 6. Los antígenos de leucocitos humanos son proteínas genéticamente determinadas que influyen en el sistema inmunológico.

Los patrones de antígenos de leucocitos humanos de los pacientes que padecen EM tienden a ser diferentes de los de las personas libres de la enfermedad. Las investigaciones realizadas en Europa del Norte y en Estados Unidos han detectado tres antígenos de leucocitos humanos más prevalentes en las personas con EM que en la población general.

Los estudios de los pacientes norteamericanos con EM han demostrado que las personas con EM también tienden a presentar estos antígenos de leucocitos humanos en combinación (tienen más de uno de los tres antígenos de leucocitos humanos) con más frecuencia que el resto de la población. Además, hay pruebas de que diferentes combinaciones de antígenos de leucocitos humanos pueden corresponder a variantes tanto en la gravedad como en el progreso de la enfermedad.

Los estudios de familias con casos múltiples de EM y la investigación en la que se comparan las regiones genéticas de seres humanos con las de ratones con encefalomiелitis alérgica experimental (modelo murino de la EM) indican que otra área relacionada con la susceptibilidad a la EM puede estar situada en el cromosoma 5. También se han identificado otras regiones en los cromosomas 2, 3, 7, 11, 17, 19 y X como posibles lugares que contienen genes involucrados en el desarrollo de la EM.

Estos estudios fortalecen la teoría de que la EM es el resultado de un número de factores combinados, en vez de ser el resultado de un solo gen u otro agente. Es probable que el desarrollo de la EM esté influenciado por las interacciones de cierto número de genes, cada uno de los cuales (individualmente) surte sólo un efecto moderado.

“Aunque la caza de posibles genes y variantes genéticas implicados en el desarrollo de la EM se inició hace más de cuatro décadas, con el descubrimiento del HLA como un determinante importante del riesgo, es ahora, gracias a recursos tecnológicos potentes y un mejor conocimiento de la patogénesis, cuando estamos dando un salto definitivo”, aseguró el Dr. Oksenberg. En el De-

“Uno de cada 5 pacientes con EM tiene un pariente de primer grado con esta enfermedad.”

partamento de Neurología de la Universidad de California se está haciendo un especial hincapié en el estudio de la base genética de la EM utilizando el estudio de asociación del genoma completo (GWAS), que “permite en un único experimento capturar la mayor parte de las variaciones en el genoma humano individual”.

Explicando una de sus investigaciones llevadas a cabo en este ámbito, el ponente describió cómo utilizaron miles de marcadores para tratar de valorar posibles variaciones genéticas entre pacientes con EM y controles. En la EM se han publicado actualmente unos diez GWAS, el primero de los cuales data de 2007, con el primer informe llevado a cabo por el Wellcome Trust Case-Control Consortium, y el último de 2011, promovido por el International Multiple Sclerosis Genetics Consortium (IMSGC). Salvo este último caso (en el que se emplearon 9.772 casos y 17.376 controles), la mayor parte de los estudios incorporaba un número relativamente pequeño de casos y controles. Con todo, gracias a estos estudios, en opinión del Dr. Jorge R. Oksenberg, “ha sido posible crear un verdadero mapa genético de la EM”.

Hasta hace poco tiempo, el único *locus* de susceptibilidad a la EM claramente confirmado en múltiples estudios, tanto de ligamiento como de asociación, era el HLA de clase II. Sin embargo, se desconoce si los propios alelos de susceptibilidad en los genes del HLA o otros en desequilibrio de ligamiento con ellos son los responsables del incremento de susceptibilidad en los pacientes.

Por este motivo, ha sido de especial interés el trabajo desarrollado por el IMSGC, señalando claramente las perspectivas de uso de ciertos genes para predecir el riesgo de aparición de la EM. En este estudio cola-

“Dentro de un par de años un solo técnico podrá secuenciar el genoma completo de un paciente a tiempo real.”

borativo de asociación de genoma completo no sólo se han logrado replicar las evidencias obtenidas en otros muchos ensayos previos, en relación con *locus* de susceptibilidad, sino que también se han podido identificar otros nuevos *loci*. Este mejor conocimiento de los genes de riesgo ha permitido establecer un modelo genético de riesgo.

En este trabajo se emplearon datos de genotipado de 6 genes de riesgo en 591 pacientes con EM y en 600 controles, con el objetivo de investigar el valor predictivo de la combinación de alelos de riesgo. Seguidamente, los *loci* de riesgo de EM (tanto el nuevo como el ya replicado) se utilizaron para construir modelos de riesgo genético simulando una población de 100.000 personas. Finalmente, se evaluaron los número requeridos, las frecuencias y las razones de riesgo (OR) de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP).

Así, se comprobó que los individuos con 10-12 alelos de riesgo tenían una probabilidad significativamente más elevada de sufrir EM que los controles. En el estudio de simulación, se demostró que el área bajo la curva (AUC, en sus siglas en inglés) para un riesgo basado en 6 SNP fue de 0,64; esta cifra se elevó hasta 0,66 usando los 24 SNP que ya se habían replicado adecuadamente y hasta 0,69 cuando se incluyeron en el modelo de riesgo tanto los SNP replicados como los hallados por primera vez. Se calcula que para elevar el AUC hasta el nivel de 0,70 serían necesarios 20 SNP adicionales, pudiéndose elevar hasta 0,84 con al menos 50 variantes nuevas más.

Debido a estos y otros trabajos, actualmente se cuenta con un amplio listado de genes candidatos que se asocian, en mayor o menor medida, con la susceptibilidad a sufrir EM. Aunque ninguna de las variantes genéticas

documentadas es capaz de explicar por sí sola la aparición de la enfermedad o el riesgo a desarrollarla, combinadas ofrecen una visión mucho más útil y completa. Además, muchas de estas variantes genéticas tienen un efecto muy profundo en la función del gen que codifican, por lo que se hace necesario distinguir entre estimaciones estadísticas del riesgo y el efecto biológico en los pacientes. En cualquier caso, lo más importante, como expuso el Dr. Oksenberg, “es que muchas de estas variantes genéticas son prometedoras dianas terapéuticas”.

Resumiendo las principales lecciones que deja este amplio registro de genes de riesgo, el ponente indicó que “ha permitido descubrir que la mayor parte de los genes identificados tienen un cierto aire inmunológico, es decir, que son principalmente genes inmunorrelacionados”; así, por ejemplo, se ha objetivado el relevante papel que desempeñan muchos de estos genes de susceptibilidad en la vía de diferenciación de células T colaboradoras (T helper). Este hecho vendría a confirmar, desde el punto de vista genético, el patrón de autoinmunidad que rige esta enfermedad. Y, como otra consecuencia práctica que se desprende de este hallazgo, apostilló: “nos estamos dando cuenta de que la EM comparte muchos puntos en común con otras enfermedades autoinmunes y, por ese mismo hecho, algunos de los fármacos que se están utilizando con éxito en algunos de estos trastornos podrían rescatarse o extender su uso a otros donde hay menos opciones terapéuticas o éstas son menos eficaces”.

Sin embargo, la respuesta inmunitaria no proporciona, por sí sola, la solución definitiva y completa sobre la genética de la EM. No hay genes buenos ni genes malos, sino que hay redes de genes que actúan en colaboración y que pueden desencadenar eventos positivos o negativos; en ciertas situaciones, capaces de alterar el funcionamiento de estas redes, surgen modificaciones en la forma de actuar de estos genes y aparecen problemas. Teniendo esto en cuenta, Baranzini et al. han desarrollado una forma de analizar los genes (no sólo

atendiendo a su funcionamiento individual) cuando están en conexión con otros genes afines; su grupo de trabajo ha sido capaz de construir algoritmos para estudiar redes de genes que se asocian con la presencia de EM (solapando para ello los datos extraídos de los GWAS con redes de interacción proteína-proteína). En definitiva, ahora más que tener genes que informan de forma limitada sobre un posible riesgo de desarrollar EM, se han identificado redes de genes afines que, en conjunto, marcan un importante riesgo de padecer o no este trastorno.

El ejemplo de los multicasos familiares

Todo esto ha dado lugar a la creación del denominado *MS Genetic Burden* (MSGB), un concepto basado en la idea de agregar múltiples variantes genéticas de riesgo. Aproximadamente uno de cada cinco pacientes con EM va a tener un pariente de primer grado afectado con esta enfermedad. Estos individuos (conocidos como multicasos) parece que portan más alelos de susceptibilidad que los casos esporádicos de EM, es decir, poseen una mayor carga genética que podría explicar por qué en ese núcleo familiar se registra más de un caso. Un estudio de Gourraud et al. ha comparado la agregación de marcadores de riesgo genético de EM en familias multicaso y en familias con un caso esporádico, corroborando que existe una alta agregación de variantes de susceptibilidad en los multicaso (las madres presentan una mayor carga genética de riesgo que las madres de los casos aislados); además, este análisis subraya la alta variabilidad de la carga familiar, con variantes genéticas comunes y conocidas. Para el Dr. Oksenberg, “la trascendencia de este concepto reside en su capacidad para integrar de forma acumulativa factores genéticos de riesgo para sufrir EM”.

Otra reciente evidencia obtenida del análisis por menorizado de la carga genética en las familias con multicasos de EM ha puesto de relieve que los hermanos afectados de EM portan un número similar de genes asociados con la enfermedad, mientras que

“Los gitanos, los equimales y los bantúes no padecen esclerosis múltiple.”

los hermanos que no tienen la enfermedad tienen una carga genética de riesgo mucho menor para esta enfermedad.

Partiendo de estas observaciones, cabe preguntarse si a día de hoy es posible predecir con cierto grado de éxito qué componentes de una familia van a desarrollar EM o no. Sin embargo, siendo tajante, el Dr. Oksenberg aseguró que “en estos momentos no somos capaces de llevar a cabo esta misión, sobre todo porque nos enfrentamos a variantes genéticas que son muy comunes en la población general”. Por eso, propuso, “quizá podemos dar una mejor respuesta si, en lugar de ocuparnos de las variantes de riesgo frecuentes en la población, nos centramos en aquellos alelos raros e infrecuentes que se asocian con un mayor riesgo de EM; seguramente estas variantes más inusuales pueden tener una mayor penetrancia y capacidad de predecir los miembros de una familia que sufrirán o no la enfermedad en un futuro”.

Mirar al pasado para avanzar

Para tratar de progresar en el conocimiento de las bases genéticas de la EM, se debe echar la vista atrás. Aunque es difícil fijar una fecha exacta en la que se documente por primera vez un caso de EM, dadas las limitaciones del análisis clínico-patológico en Neurología antes del siglo xx, se suele fijar en 1822 la primera descripción clara de la enfermedad; esta identificación se hace en los diarios escritos por Augustus D’Este, nieto ilegítimo del rey Jorge III. A partir de esta primera documentación de la EM, se empezó a constatar un imparable y abrupto crecimiento en las tasas de prevalencia de la enfermedad, con una especial progresión en las últimas décadas.

Vista esta tendencia, la primera explicación lógica aceptada sobre las causas de EM se centró en la presencia de algunos factores medioambientales desencadenantes. Sin embargo, Jorge Oksenberg propuso otra, basada en la vertiginosa mutación experimentada por el genoma humano. En tan sólo los últimos dos siglos, donde ha habido cerca de una decena de generaciones, se ha producido un extraordinario aumento mutacional en el genoma del hombre (por lo menos en Europa, se asume que en cada generación se produce un aumento del 8-10% en el número de mutaciones). De esta manera, la población contemporánea arrastra un número exageradamente elevado de mutaciones en su genoma.

La publicación del Proyecto Genoma Humano (PGH), en el año 2001, con la secuenciación por primera vez del genoma del hombre, no sólo cambió el devenir de la investigación básica y clínica de las enfermedades, modificando incluso la forma de prevenir, diagnosticar, tratar y seguir estos trastornos, sino que ha supuesto una revolución médica que está cambiando la concepción tradicional de la medicina.

La posibilidad de secuenciar el genoma humano y, además, de una forma más económica y rápida, también ha contribuido a alumbrar una nueva época en el estudio genético de la EM. El PGH, que consistió en secuenciar alrededor de una decena de genomas y ensamblarlo todo, fue un esfuerzo descomunal de 13 años de duración, con 16 centros, 6 países, casi 3.000 investigadores y técnicos, y un coste total de dos mil millones de euros.

En el año 2007 se publicó la primera secuencia completa de una persona conocida: Venter, uno de los padres del PGH. Esto se hizo con técnicas y plataformas de secuenciación más avanzadas que las del PGH, y para ello se tardaron 4 años, intervinieron 31 investigadores, participaron muchos menos países y centros, y fue casi 30 veces más barato que el PGH. Un año después se publicó la secuencia completa de Watson, otro de los pioneros del PGH, que se realizó con una

plataforma de nueva generación en 4,5 meses, con 27 investigadores, 2 instituciones y solo país, y que costó un millón de euros.

Esta evolución hace que los expertos planteen que en únicamente un par de años un solo técnico y por un coste muy asequible (unos 800 euros) será posible secuenciar, en tiempo real, el genoma completo de un paciente. Las posibilidades que esto abre para la medicina genómica y la Individualiza son enormes. Por eso, el cuello de botella de las investigaciones en este ámbito, en palabras del Dr. Oksenberg, “no es ahora la tecnología ni su precio, sino la bioinformática: necesitamos personal suficiente y adecuadamente formado, y potentes equipos de análisis, para poder almacenar y manipular adecuadamente todos los datos que estamos generando”.

Ya, a modo de ejemplo práctico, el ponente mostró la secuencia genómica completa de algunas de las familias con EM multicaso que están analizando en su centro, “donde se localizan más de 4,5 millones de variantes genéticas que deberían analizarse”.

Aunque aún se sabe demasiado poco sobre las relaciones genotipo-fenotipo, las interacciones de distintas variantes génicas entre sí y con el ambiente, y sobre los mecanismos moleculares que determinan la susceptibilidad a padecer esta enfermedad complejas, cada día se conocen nuevos genes de riesgo: *VCAM*, *PLEK*, *MERT*, *SP140*, *EOMES*, *CD86*, *IL12B*, *BACH2*, *THEMIS*, *MYB*, *IL22RA2*, *TAGAP*, *ZNF767*, *MYC*, *PVT1*, *CLECL1*, *ZFP36L1*, *BATF*, *GALC*, *MALT1*, *TNFSF14*, *MPV17L2*, *DKKL1*, *MAPK1*, *SCO2*, *NFKB2*, *CXCR5*, *SOX8*, *RP-S6KB1*, *TNFRSF6*, *CYP27B1* y *CYP24A1*. Desde que en 1972 se documentó por primera vez la asociación entre la EM y el HLA (que sigue siendo el predictor más fuerte de la enfermedad), se han ido acumulando numerosos hitos que han permitido progresar en la identificación de la susceptibilidad genética a la EM: primera y segunda generación de estudios de genoma completo, primera generación de GWAS, metanálisis de los GWAS, secuenciación de todo el genoma de geme-

los con EM, segunda generación de GWAS (con más de 10.000 pacientes), etc.

Gracias a todos estos avances, en menos de medio siglo se ha dado un vuelco definitivo en el manejo de la esclerosis múltiple. La situación actual dista mucho de la descrita por el Dr. John N. Walton en 1958 (en *Harrison's Principles of Internal Medicine*), que señalaba que “lo único que se puede hacer en la EM es reconfortar y animar al paciente a través de la práctica de ejercicio moderado y medidas de ayuda [...]; durante un episodio agudo de la enfermedad, lo preferible es decirle al enfermo que se va a recuperar y mantener el silencio a su alrededor”.

La situación es radicalmente distinta ahora. “No sólo disponemos ya de un completo, eficaz y cada vez mejor tolerado arsenal terapéutico para hacer frente a la EM, sino que existe una enorme y prometedora cartera de fármacos (tanto por vía inyectable como oral) que están en distintas fases de investigación y desarrollo clínico (interferones, vacunas, dirigidos específicamente a la regulación inmune o a regular el tráfico de linfocitos, agentes antiproliferación...)”, resaltó el ponente, quien certificó que “la medicina molecular y la biogenética van a deparar grandes avances en el manejo de esta enfermedad, ayudando a seleccionar el mejor tratamiento para cada paciente”.

En la última década, las tecnologías de secuenciación han mejorado sensiblemente; además, en los últimos cinco años se ha registrado un progreso extraordinario en las tecnologías de imagen (tanto a nivel orgánico como tisular), permitiendo una deconstrucción no invasiva del fenotipo (por ejemplo, ahora se puede saber cuánto glutamato hay en el cerebro destruyendo las neuronas). Por su parte, los avances en microscopía hacen posible la observación de células individuales, incluyendo la posibilidad de evaluar el comportamiento de las neuronas cuando los genes están activados o no. Las mejoras también son más factibles con la obtención de modelos de resolución celular y molecular del sistema nervioso central. Igualmente, el progreso también viene determinado e impulsado por las mejoras en el desarrollo de sistemas y aproximaciones basadas en el trabajo en red, facilitando la interpretación de los datos biológicos.

En definitiva, sentenció Oksenberg, “la convergencia de las ciencias -ómicas con la próxima generación de sistemas médicos electrónicos de registro, de imagen e informática permitirá, entre otras cosas, aplicar estos conocimientos en los puntos de atención a los pacientes y de toma de decisiones, generar un mapa genético que guíe el descubrimiento y la síntesis de nuevos fármacos, y poner en práctica una verdadera medicina personalizada”. ■

Avances en la patogénesis y el manejo del lupus sistémico eritematoso

Anne Davidson

Investigadora del Instituto Feinstein de Investigación Médica, Manhasset, Estados Unidos

El lupus sistémico eritematoso (LSE) es un trastorno sistémico crónico que puede afectar a la piel, las articulaciones, los riñones, el cerebro y otros órganos diana. Se trata de una enfermedad autoinmune en la que existe una inflamación prolongada (crónica). El LSE puede ser leve o tan grave como para causar la muerte. La enfermedad es mucho más común en mujeres que en hombres y puede presentarse a cualquier edad, pero aparece con mayor frecuencia en personas cuyas edades están comprendidas entre los 10 y 50 años. Las personas de raza negra y las asiáticas resultan afectadas con más frecuencia que las personas de otras razas. Se caracteriza clínicamente por cursar con sucesivas exacerbaciones y remisiones, serológicamente por la presencia de múltiples autoanticuerpos (en especial anticuerpos antinucleares) y patológicamente por inflamación en diversos órganos con depósitos inmunes.

El lupus es una enfermedad autoinmune de la que se desconocen realmente sus causas. Aunque en su desarrollo existe un componente genético y hereditario, y probablemente también tenga un importante componente ambiental, aún no se entiende bien qué la produce. Haciendo una aproximación a la patogénesis de la enfermedad, la investigadora resumió en tres los tipos de factores que están en la génesis del LSE: el riesgo genético, la exposición ambiental y la casualidad. La combinación de estos tres factores provoca respuestas inmunes adaptativas e innatas, que dan como resultado el fenotipo de enfermedad. Se produce así un daño en

los órganos diana, que interactúa con el sistema inmune; además, en este proceso se descubre un mecanismo de amplificación que termina perpetuando la patología aunque ya no exista la causa original.

Autoinmunidad sistémica

El LSE suele ser un rasgo familiar y existe un componente genético. Para los gemelos idénticos, la probabilidad de que ambos reproduzcan la enfermedad es del 30%, pero para hermanos esta probabilidad sólo es del 2 o 3% (al igual que de madres a hijos). Es común, sin embargo, que los hijos puedan desarrollar otro tipo de enfermedades autoinmunes, como trastornos tiroideos o diabetes, porque algunos de los genes que causan lupus también pueden provocar este tipo de enfermedades.

Reseña biográfica

Investigadora en el Instituto Feinstein de Investigación Médica, los intereses de la Dra. Davidson son la patogénesis y los nuevos tratamientos del lupus sistémico eritematoso. Es responsable de organizar los seminarios de Reumatología experimental y las conferencias de Inmunología del Instituto.



Anne Davidson

Tiene una amplia experiencia docente en Reumatología de su anterior puesto como Directora de la Facultad de Medicina Albert Einstein y en la Universidad de Columbia. Actualmente es miembro de los comités científicos de las Fundaciones para la Artritis y el Lupus Sistémico Eritematoso de Nueva York.

“El sistema inmune innato es la primera línea de defensa contra los microorganismos invasores.”

Una hipótesis emergente sobre su origen es que el lupus se debe a una excesiva respuesta del cuerpo ante la muerte celular. Millones de células mueren cada día y el cuerpo debe afrontarlo sin activar su sistema inmune.

Además, se ha identificado una serie de defectos genéticos que causan una sobrecarga de complejos inmunológicos o de partículas apoptóticas, como los polimorfismos del receptor F, una eliminación alterada de la nucleasa (por ejemplo, la mutación en el gen *Trex1*), un aclaramiento ineficiente (como, por ejemplo, las deficiencias del complemento) o un exceso de muerte celular.

En la inmunopatología del LSE están involucrados múltiples mecanismos, destacando la pérdida de los mecanismos reguladores de la tolerancia, que llevan a la activación de linfocitos T y linfocitos B autorreactivos. En sus eventos iniciales se encuentran las alteraciones de la apoptosis y la falla en el barrido de los restos apoptóticos, lo que se traduce en la liberación constante de autoantígenos modificados que son expuestos a un sistema inmune con susceptibilidades genéticas para autoinmunidad.

“El LSE se asocia con un aclaramiento anómalo de los desechos que contienen ácidos nucleicos. Diariamente se produce en el organismo una ingente cantidad de residuos, producto de la muerte celular, que debe retirarse de forma segura para evitar la aparición de posibles trastornos asociados”, defendió la Dra. Davidson. Bajo un contexto genético que predispone a algunos individuos a sufrir una enfermedad autoinmune, la eficiencia de los responsables de retirar la basura decrece y, por lo tanto, disminuye su capacidad para depurar las células apoptóticas. En estas condiciones, se incrementa el tiempo de vida y la cantidad de productos de degradación circulantes.

Cuando existe un exceso de este detritus en el organismo, se puede sobrecargar el sistema inmunológico y, como resultado, se puede producir una inmunorrespuesta frente a estos componentes. Se distinguen dos tipos de inmunorrespuesta en esta situación: 1) la innata, inmediata ante cualquier agresión para el sistema inmune; y 2) la adaptativa, que es el resultado de la activación, proliferación y expansión de los linfocitos B y T.

El sistema inmune innato actúa como la primera línea de defensa contra los microorganismos invasores, pero también tiene funciones importantes en la regulación de la respuesta inmune adaptativa. En los últimos años se ha asignado un rol clave en la etiopatogenia del LSE al sistema inmune innato debido a que la mayoría de los pacientes con LSE muestran un aumento de la expresión de los genes reguladores de interferones (IFN) de tipo I. En el sistema inmune innato, los IFN de tipo I, producidos principalmente por las células dendríticas plasmocitoides (también llamadas células naturales productoras de IFN) en respuesta a la unión de complejos inmunes que contienen ácidos nucleicos, promueven y mantienen una respuesta inmune autorreactiva debido a sus efectos inmunomoduladores sobre la respuesta inmune adaptativa.

El ADN y el ARN viral son los típicos activadores de la producción de IFN de tipo I, los que actúan sobre la célula diana para inducir la producción de proteínas que inhiben la replicación viral. Diversos tipos celulares producen pequeñas cantidades de IFN de tipo I, pero son las células dendríticas plasmocitoides las que producen grandes cantidades de IFN α en respuesta a infecciones virales, algunas bacterias y protozoos.

La síntesis de IFN de tipo I se logra a través de la activación de receptores de tipo Toll (TLR) de membrana (TLR3) y endosomales (TLR7 y TLR9) que reconocen ARN y ADN. Los TLR4 (receptores de membrana para lipopolisacáridos) también inducen la expresión de IFN

de tipo I a través del reconocimiento de ciertas proteínas virales. Por otra parte, existen vías intracelulares independientes de los TLR que median la producción de IFN de tipo I a través de la entrada de ARN al citosol.

En el LSE, las células dendríticas plasmocitoides son activadas a través de la unión de complejos inmunes (que contienen ácidos nucleicos) a los receptores FcγRIIa expresados sobre su superficie, siendo internalizados para alcanzar los endosomas y estimular vía TLR la activación de factores de transcripción que resulta en una masiva producción de IFNα

En base a sus propiedades antivirales, los IFN de tipo I tienen profundos efectos inmunomoduladores en el sistema inmune adaptativo. De esta manera, los IFN de tipo I actúan como puente entre la respuesta inmune innata y la respuesta inmune adaptativa, y pueden verse como una “hormona de estrés” en el sistema inmune, señalando peligro y contribuyendo a su activación. Sin embargo, esto también puede promover y mantener una respuesta inmune autorreactiva.

Evidencias de los estudios genéticos

Los GWAS (capaces de evaluar la variabilidad genética a lo largo de todo el genoma, sin el soporte de una hipótesis previa) realizados en LSE, además de identificar un gran número de genes o *loci* de susceptibilidad, han confirmado de forma consistente la asociación con la enfermedad de factores genéticos ya conocidos, como el antígeno leucocitario humano (HLA), IRF5, FCGR2A, PTPN22 y STAT4. Una conclusión de interés que se extrae de estos análisis, según la Dra. Davidson, “es que la mayor parte de los genes asociados con el lupus intervienen, en mayor o menor medida, en la inducción y la respuesta al IFN de tipo I”.

Éste se entiende como un claro indicio de la activación del sistema inmunológico innato en el lupus. Más recientemente, también se ha observado como no son sólo los TLR los que desempeñan un papel determinante en este sistema, sino que también hay otros recepto-

“El estrés y el tabaco pueden impulsar y agravar el daño en la barrera hematoencefálica”.

res inmunológicos que eliminan ácidos nucleicos del citoplasma. Esto puede inducir la aparición de citocinas inflamatorias y agravar el daño tisular.

La formación de complejos inmunes es el mecanismo de daño tradicionalmente descrito para el LSE, principalmente aquellos formados por anticuerpos antiADNs que participan en el daño renal y cutáneo. Sin embargo, hay otros mecanismos de daño celular.

Como principales ideas aportadas en relación con este tema, la Dra. Davidson puso de manifiesto que las células moribundas terminan dejando residuos que sirven como dianas antigénicas para las células autorreactivas. Los complejos inmunes formados de autoanticuerpos y de autoADN y ARN pueden depositarse en órganos dianas, activar complementos y la respuesta innata, activar a las células B autorreactivas, unirse al FcγR en células inmunes (con la consiguiente liberación de IFN de tipo I y citocinas), activar células presentadoras de antígeno, activar macrófagos infiltrantes tisulares y la respuesta inflamatoria. Todo ello provoca una lesión tisular.

En cuanto a la aportación concreta de los estudios genéticos al conocimiento del lupus y su abordaje, la Dra. Davidson se mostró cauta pero esperanzada. “Estos estudios (GWAS) han servido para identificar vías patogénicas (como TLRs, ITF, activación linfocitaria...) y pueden llevarnos hacia una medicina más personalizada; sin embargo, sólo han ofrecido pequeñas contribuciones sobre el riesgo genético y, por lo tanto, se precisan otros abordajes para identificar alelos raros con un alto grado de riesgo de susceptibilidad”, afirmó.

En cuanto al sistema inmunológico adaptativo, aclaró que las células B y T desempeñan un papel crucial, siendo especialmente llamativa su capacidad para decidir en qué tipo de células se quieren convertir. Los

“La mayor parte de los genes asociados con el lupus intervienen en la inducción y la respuesta al IFN α 1.”

linfocitos B participan en la patogénesis del lupus a través de la formación de autoanticuerpos y a través de la presentación de péptidos propios a los linfocitos T autorreactivos. Con respecto a los linfocitos T, se ha descrito una disminución de la función de los Treg, no siendo capaces de suprimir la presencia de los linfocitos T helper autorreactivos. El grupo de trabajo de la Dra. Davidson ha abierto una línea de investigación fructífera, con la que no sólo se pretenden conocer mejor los factores que impulsan a las células T, sino también sugerir nuevas dianas terapéuticas.

Recientemente, Tsokos et al. han evidenciado que las células T en pacientes de lupus reaccionan de forma anormal. En este sentido, destacó la ponente, “debemos quedarnos con la idea de que se produce una elevación significativa de las concentraciones de calcio celular, dando lugar a una regulación a la baja de IL2 y una regulación al alza de IL17”.

Daño orgánico local

Aparte de la respuesta sistémica inflamatoria que se describe en el lupus, cobra también una gran trascendencia su impacto a nivel local. En el LSE se encuentran anticuerpos y muchos mediadores inflamatorios solubles que pueden producir daño en diferentes órganos y de distintas maneras.

Por ejemplo, los autoanticuerpos por sí solos pueden llegar a producir directamente lesiones cerebrales, sin necesitar muchos más mediadores inflamatorios; la existencia de un daño en la barrera hematoencefálica puede permitir la entrada de los anticuerpos, iniciando así un importante deterioro cerebral. El estrés, el tabaco y otros desencadenantes exógenos ambientales, son al-

gunos de los factores conocidos que pueden impulsar y agravar el daño en la barrera hematoencefálica.

Sin embargo, la situación es distinta en otros órganos. En el caso del riñón, los anticuerpos entran en este órgano, pero es necesaria la existencia de una cascada inflamatoria mediada por el receptor Fc y el complemento para que se inicie el daño.

La distinta forma de afectación orgánica en el lupus, a juicio de esta experta, tiene especial interés a la hora de desarrollar algunos estudios clínicos, “puesto que si estudiamos los mediadores inmunológicos en pacientes con lupus que tienen enfermedad cerebral y en otros que presentan daño renal, los resultados serán muy distintos”.

En pacientes con lupus se ha objetivado la existencia una disfunción endotelial, encontrándose algunos desórdenes de interés clínico: reducción de células progenitoras circulantes, aumento de micropartículas endoteliales circulantes, presencia de anticuerpos antiendoteliales, defectos de reparación y diferenciación en ratas, aumento del riesgo cardiovascular (en concreto, se ha estimado que el riesgo a los 10 años de sufrir un evento coronario o un ictus es 5,5-17 veces más elevado en estos pacientes).

En el paciente con LSE que tiene el riñón afectado se distingue claramente la presencia de una lesión tisular, que se debe a trastornos como inflamación, hipertensión, estrés, hipoxia y fibrosis/remodelado tisular. Sin embargo, existe una importante heterogeneidad en la expresión de este tipo de lesiones.

Aunque los modelos de experimentación animal utilizados en estos momentos para estudiar el LSE distan mucho de ser óptimos, en una experiencia propia la Dra. Davidson mostró los hallazgos obtenidos en modelos de ratones con lupus. Se ha estudiado y comparado la expresión génica en el riñón en tres cepas de ratón, registrándose entre ellas grandes diferencias: así, mientras que en una predomina el componente de citocinas, células T y macrófagos, en otra hay una preponderancia

de fenómenos de hipoxia, estrés y apoptosis, y la tercera cepa muestra una expresión mixta de signos inflamatorios e inmunológicos.

Estos modelos de animales también sirven como patrón para estudiar la nefritis por LSE en humanos, lo que ha permitido identificar varios nodos de interés compartidos por ratones y por humanos. Así, se ha podido visualizar la presencia de procesos relevantes, como la activación de macrófagos, del endotelio y del sistema inmunológico innato. Gracias a estos resultados, indicó la Dra. Davidson, “hemos variado recientemente el enfoque investigador que seguíamos en nuestro laboratorio, pasando de analizar las células B y T que pasan al riñón a estudiar las células dendríticas que penetran en este órgano”.

Tratamiento

Sobre las posibilidades que se abren con estos nuevos enfoques investigadores para el tratamiento de los pacientes con LSE, la Dra. Davidson declaró que “se ha avanzado mucho en inmunología general, y ahora comprendemos mejor cómo actúan los diferentes jugadores que intervienen en esta patología, por lo que puede ser más fácil enfocar las terapias. Hay nuevos tratamientos en desarrollo o que se están probando, y la comunidad científica tiene muchas esperanzas en que alguna de estas terapias funcione”.

La realidad es que ahora se conocen mejor los mecanismos subyacentes en las respuestas que ofrecen el sistema inmune y el sistema adaptativo en el lupus. Sin embargo, siendo realistas, “el éxito logrado hasta hoy en el tratamiento del LSE es muy limitado. A pesar de probarse nuevas alternativas, ninguna de ellas ha ofrecido una solución totalmente satisfactoria”, recaló la ponente.

Entre las opciones probadas para interferir positivamente en el sistema innato, la ADNasa I ha fracasado y se mantienen los estudios con antiIFN α . Respecto a las células B, LJP toleragen y rituxan han sido un fracaso, ataccept ha tenido que detenerse por problemas de

“Ningua alternativa terapéutica ha ofrecido una solución satisfactoria.”

toxicidad, con belimumab se ha alcanzado una modesta tasa de éxito y siguen en marcha los estudios con los antiCD22. En cuanto a la coestimulación, se ha detenido la investigación con los antiCD40L por toxicidad y se estima que los estudios con abatacept tampoco ofrecen los resultados esperados. Finalmente, las opciones terapéuticas enfocadas en el ámbito de las citocinas han sido decepcionantes, debiendo detenerse por excesiva toxicidad los estudios con antiIL6 y con antiTNF.

Belimumab ha sido, por lo tanto, el único de estos fármacos incipientes que ha logrado alcanzar con éxito la fase de comercialización. Recientemente, la FDA aprobó Benlysta[®] para el tratamiento de pacientes adultos con LSE que tienen un alto grado de actividad de la enfermedad, desde el punto de vista clínico e inmunológico, y en los que la enfermedad no está controlada a pesar de las terapias que reciben en ese momento. Benlysta[®] es un tratamiento específicamente indicado para reducir la actividad de la enfermedad en LSE. Su mecanismo de acción es innovador. Es un anticuerpo monoclonal humano que se une específicamente a la forma soluble de la proteína estimuladora de linfocitos B humanos (BLyS). Éste es un factor de supervivencia de los linfocitos B que se cree desempeña un importante papel en la producción de anticuerpos que atacan y destruyen los tejidos sanos del propio organismo. Los niveles de BLyS están elevados en pacientes con LSE y otras enfermedades autoinmunes. El fármaco actúa bloqueando la unión de BLyS soluble a sus receptores en los linfocitos B.

Sin embargo, ésta es la excepción que confirma la regla: la tasa de fracaso en el desarrollo de nuevos fármacos en lupus es inasumible. Y es que, según Anne Davidson, “son muchos los retos pendientes en el pro-

ceso de desarrollo de nuevas terapias para el LSE. Si pensamos en esta enfermedad como una patología de susceptibilidad genética que depende de ciertos factores desencadenantes, con estadios de remisión y brotes, y que en sus fases finales hay implicados muchos inmunomecanismos, sin duda debemos cambiar nuestra forma de afrontarla: debemos adaptarla a las características propias de la enfermedad en cada uno de sus estadios”.

De esta manera, la propuesta pasa por acompañar el objetivo terapéutico de cada estadio de la enfermedad con la diana específica a la que se debe llegar en cada una de esas fases. Así, en la fase inicial (donde sólo se documenta susceptibilidad genética), el objetivo es la prevención y las dianas deben ser las células B y T naïve; cuando ya se ha iniciado el cuadro clínico, el objetivo es la remisión y habrá que interferir en los mediadores inflamatorios y las células activadas; en la fase de progresión, para prevenir los brotes y reestablecer la tolerancia, necesariamente se requiere actuar sobre las células plasmáticas y de memoria; ya en las fases terminales de la enfermedad con daño en órgano diana, el objetivo será conseguir una terapia de apoyo, actuando sobre la fibrosis. Como muestra de este tipo de abordaje, dirigido y adecuado específicamente a la fase de desarrollo de la enfermedad y a los mecanismos patogénicos preponderantes, la ponente presentó los excelentes resultados obtenidos en las cepas de ratón previamente citadas,

concluyendo que la respuesta en cuando a la inducción de remisión de la enfermedad dependió de la cepa y el estadio de evolución de su enfermedad.

En su resumen final, la Dra. Anne Davidson comentó que “el LSE es una enfermedad multigénica que implica la pérdida de tolerancia tanto de la vía inmunológica adaptativa como de la innata. Son muchos los desencadenantes que se han estudiado y que podrían estar involucrados en el inicio y perpetuación de esta enfermedad. Sin duda, la exposición continua al excesivo material que contiene ácido nucleico amplifica el progreso de la enfermedad. La inflamación crónica puede establecer vías de activación anómalas y mantiene el fenotipo inflamatorio de células efectoras de vida prolongada”.

Respecto al futuro de la investigación y tratamiento del LSE, esta experta destacó que “hay nuevas oportunidades terapéuticas dirigidas tanto a la inflamación local como a la autoinmunidad sistémica. Además, las mejoras en el diseño de los ensayos clínicos, junto con la integración de la información genética y de biomarcadores, ya se está empleando en grandes cohortes de pacientes. Estas estrategias, junto con el descubrimiento basado en modelos animales apropiados, debe trasladarse a la práctica clínica, previéndose un descenso de la morbimortalidad en pacientes con LSE en las próximas décadas”.

debate

Moderador:

Juan Carlos López

Mesa redonda:

*Mark Peakman, Berent Prakken, Jorge R. Oksenberg y
Anne Davidson*

Debate

Juan Carlos López: En vuestras conferencias habéis comentado el tema de la medicina personalizada. En el campo de las enfermedades oncológicas, hemos aprendido que el cáncer no es una patología única, sino que hay muchos subtipos. ¿Creéis que en el caso de las enfermedades inmunes sobre las que se ha hablado también se puede aplicar esta aproximación? ¿Y cómo puede afectar esto a nuestros esfuerzos en el futuro a la hora de intentar curarlas?

Jorge R. Oksenberg: Respecto a la heterogeneidad, se plantean algunas dudas, puesto que ¿hablamos de diferentes enfermedades o distintas manifestaciones de la misma? En el caso de la esclerosis múltiple ocurre algo bastante interesante en el campo de la medicina personalizada, puesto que nuestro mayor interés es saber qué pacientes van a obtener una mala respuesta y muy tóxica ante un fármaco. La heterogeneidad para nosotros consiste realmente en encontrar individuos que sean susceptibles a una muy mala respuesta.

La segunda parte de la pregunta tiene que ver con muchas de las



Los doctores Prakken, Peakman y Davidson durante el debate.

otras cosas de las que hemos hablado. Hay muchas similitudes en estas enfermedades y comprender la base molecular de estas semejanzas nos va a permitir desarrollar una nueva taxonomía de las enfermedades, basándonos en los mecanismos y no en los síntomas.

Berent Prakken: Me interesan mucho estos dos puntos. Por una parte, creo que podemos aprender mucho de lo que los oncólogos han hecho, estratificando a los pacientes de acuerdo con el riesgo y luego tratándolos en consecuencia. En mi presentación he tratado de mostrar cómo la forma antigua de atender a los pacientes, basándonos en síntomas clínicos, ya no es válida; de-

beríamos pasar al objetivo último de esta tipificación biológica de los pacientes, redefiniendo los subtipos de la enfermedad y combinando datos clínicos con datos biológicos. Lo que intentamos hacer ahora también está basado en lo que se ha hecho en el campo del cáncer: hacemos grandes estudios a nivel europeo y empezamos a tratar a los pacientes muy pronto basándonos en riesgos clínicos; si esperamos demasiado para golpear duramente a la enfermedad, entramos en una fase en la que se vuelve resistente al tratamiento. De hecho, hemos iniciado recientemente un gran estudio donde comparamos la forma normal en que la que el médico trata al pacien-



Las enfermedades autoinmunes generaron una gran expectación.

te con un tratamiento inicial agresivo, y creo que podemos aprender mucho de esta experiencia.

Anne Davidson: El lupus es un gran reto en este campo. Sabemos, por ejemplo, que las células B pueden convertirse en buenas o malas; por eso, hay que comprender qué pacientes van a evolucionar de una forma u otra, puesto que la intervención para cada uno de estos escenarios sería totalmente distinta. Sin duda, tenemos mucho que aprender en este campo y yo tengo grandes esperanzas en que parte de esta información resultará útil en la terapia para nuestros pacientes.

Mark Peakman: En el caso de la diabetes, creo que el núcleo de la enfermedad es común en todos los pacientes, por lo que yo me resisto a la idea de decir que las cosas no funcionan debido a la heterogeneidad; más bien diría que no hemos hecho los estudios correctos ni hemos administrado las terapias correctas. Me resisto a la idea de que todo es demasiado heterogéneo.

Jorge R. Oksenberg: Pero, al margen de la heterogeneidad, en estas enfermedades nos enfrentamos a otro aspecto que las hace complejas, como es su naturaleza dinámica. En cualquier caso, yo, a diferencia de Mark, creo que la heterogeneidad explica muchas cosas.

Juan Carlos López: Voy a intentar reconciliar esos dos puntos de vista. El problema con el término heterogéneo radica en cuando lo llevamos al extremo de decir que todo el mundo es diferente, y ahí es donde deja de ser útil. Probablemente podemos encontrar algo distinto donde la enfermedad es heterogénea y comprendemos lo que es diferente y, de hecho, podemos agrupar la enfermedad en subconjuntos: a lo mejor habrá cuatro o veinte, pero sabremos qué es lo que hay en estas personas que las constituye en subgrupo.

Anne Davidson: Uno de los experimentos que estamos haciendo en nuestro laboratorio es tomar tres modelos distintos de ratón con lu-

pus y utilizar estos datos para compararlos con la información que existe en humanos. De esta forma, tratamos de descubrir qué vías se comparten entre todos estos individuos heterogéneos y, después, intentamos intervenir terapéuticamente esas áreas comunes a todos los pacientes, más que dedicarnos a actuar en aspectos diferenciales.

Pregunta: *En su presentación ha mostrado que el funcionamiento del receptor T es diferente en los pacientes y en la población normal, en parte por la hiperactivación del SIC. En lupus, ¿hay experimentos en curso con inhibidores? ¿Se ha probado esto en lupus alguna vez?*

Berent Prakken: Los inhibidores SIC se han probado en modelos animales para lupus, donde han tenido algún efecto, y también algún otro de los mediadores en esta vía, como los inhibidores ROC. Los inhibidores SIC se han utilizado en artritis reumatoide, y en un estudio publicado el año pasado se ha demostrado que eran eficaces en pacientes con artritis reumatoide. Lo único por lo que nos tenemos que preocupar es por la toxicidad, ya que el SIC es bastante ubicuo y se ha observado un aumento de la toxicidad en comparación con otros fármacos utilizados en artritis reumatoide. Esto es preocupante para los pacientes con lupus, que son más susceptibles a la toxicidad infecciosa.

Pregunta: *Ya que las vacunas son tan eficaces para eliminar las enfermedades infecciosas, ¿nadie ha pensado en algún momento utilizar vacunas para parar los patógenos que causan estas enfermedades autoinmunes, es decir, vacunas para patógenos normales que pueden reducir el riesgo para toda la población de estas enfermedades autoinmunes?*

Jorge R. Oksenberg: Aunque personalmente no confío demasiado en ello, muchos de mis colegas creen que el virus de Epstein-Barr (VEB) es el desencadenante de la esclerosis múltiple. Lo cierto es que hay sólidos datos epidemiológicos que asocian esta infección y la mononucleosis infecciosa con la EM. Una vez que haya una vacuna eficaz contra el VEB, la comunidad médica la intentará probar en EM, pero no la hay todavía.

Mark Peakman: Finlandia tiene la mayor incidencia de diabetes tipo 1 en el mundo. Allí hay una pequeña compañía de biotecnología que basa su estrategia en desarrollar una vacuna de enterovirus para la diabetes. Están intentando ver qué enterovirus incluir, porque prácticamente cada semana hay una nueva cepa. Por lo tanto, ésta es una tarea muy difícil, ya que deben decidir entre cinco o diez distintas cepas que pueden ponerse en las vacunas. Pero, efectivamente, es una estrategia muy atractiva.



El Dr. Oksenberg respondió a numerosas preguntas durante el debate.

Berent Prakken: Existe una controversia acerca de si la vacunación en los niños podría desencadenar el desarrollo de la autoinmunidad o aumentarla. Por vez primera ahora hay buenos estudios documentados que analizan los casos pre- y posvacunación, lo que sirve para hacernos una idea sobre las posibles consecuencias. No debemos olvidar que el inicio de la artritis juvenil suele coincidir prácticamente en el tiempo con el período de vacunación en niños. Realmente nadie sabe si esto es una causa o no, pero ahora hay estudios bien definidos que apuntan a la inexistencia de una relación entre la aparición de la enfermedad y la vacunación.

Juan Carlos López: Tengo un pequeño comentario. En el ámbito inmunológico, especialmente en el de la alergias, está especialmente asumida y extendida la teoría de la higiene, de forma que indica que actualmente somos demasiado limpios y esto nos desprotege frente a ciertas infecciones y alérgenos. Parte del problema con muchas vacunas y

antibióticos es que no permiten estimular nuestro sistema inmunitario suficientemente, no producimos suficiente IFN γ y eso tiende a sesgar nuestro sistema inmunitario para producir más respuestas inmunitarias. Se ha sugerido que una de las razones por las que las alergias se han vuelto tan comunes y frecuentes es porque nuestro medio ambiente es demasiado limpio.

Pregunta: *Enfermedades como la miastenia gravis y la enfermedad de Crohn tienen una clara relación con el estrés. ¿Cuál es la conexión entre el estrés y el LSE? En general, ¿creen que la incidencia de las enfermedades autoinmunes está conectada con el estrés?*

Anne Davidson: Hay diversos estudios que indican que el sistema nervioso autónomo (parte de este sistema neurovegetativo que responde al estrés) también controla la respuesta inmunitaria. En un reciente artículo se evidenció que existe una sinapsis entre el sistema nervioso y los linfocitos T en el bazo, una sinapsis ori-



La sede de la Fundación Ramón Areces acogió la cuarta conferencia de este ciclo.

ginal mediada a través de neuronas no adrenérgicas y una secundaria mediada por acetilcolina; todo esto puede resultar en una activación de linfocitos T y en una respuesta más inflamatoria. Por lo tanto, se están haciendo muchos experimentos hoy en día para intentar bloquear este control autónomo del sistema nervioso. El segundo componente del estrés tiene que ver con la barrera hematoencefálica. Este trabajo se ha llevado a cabo en mi institución y muestra que algunos neurotransmisores pueden afectar a la barrera hematoencefálica en distintas partes del cerebro: un neurotransmisor afecta a las respuestas del temor, otro al hipocampo, etc. Sin duda, hay mucho que aprender sobre cómo la barrera hematoencefálica responde al estrés y permite la entrada de anticuerpos, citocinas y todos los mediadores inmunitarios con los que tratamos. Creo que éste es un nuevo campo de la inmunología que evolucionará mucho en el futuro.

Berent Prakken: Creo que se trata de un punto tremendamente importante. En la pubertad, el sistema nervioso autónomo también está un poquito más activado, lo cual es una de las razones por la que los niños tienen problemas al levantarse por la mañana. En nuestro instituto ya hace tiempo estamos estudiando la desregulación autónoma en los niños con enfermedades inflamatorias y todos estos pacientes, especialmente en la pubertad, tienen una desregulación masiva en este sistema nervioso, por lo que duermen mal, siempre tienen frío, están de mal humor... Obviamente, todo el que vive con un adolescente sabe de lo que estoy hablando, pero esto se ve aumentado en estas situaciones.

Mark Peakman: Aunque el estrés es muy importante, puede que no sea el desencadenante principal. Creo que es más bien un facilitador del proceso.

Jorge R. Oksenberg: Aunque parece que durante la Segunda Guerra

Mundial hubo una menor incidencia de diabetes, algunos estudios han tratado de mostrar correlaciones entre situaciones especialmente estresantes y la recaída de esclerosis múltiple; sin embargo, los datos no han mostrado una clara correlación.

Pregunta: *Me gustaría saber la relación de las hormonas, especialmente el papel de la progesterona y el estradiol, sobre el lupus y la autoinmunidad en general.*

Anne Davidson: Es cierto que la incidencia del lupus es nueve veces superior en mujeres que en hombres y, por lo tanto, se ha investigado mucho el papel de las hormonas femeninas en el lupus. En ratones se ha demostrado que los estrógenos, a través de su interacción con el receptor de estrógenos tipo 1, son muy importantes para el lupus; sin embargo, esto no se ha traducido en una terapia útil en los humanos. Los estudios hormonales que se han llevado a cabo en humanos

con lupus han sido decepcionantes, debido a que tuvo lugar una gran respuesta al placebo. Por ello, se han llevado a cabo otros muchos estudios; por ejemplo, se ha visto que en mujeres premenopáusicas con lupus es relativamente seguro administrar la píldora anticonceptiva. Esto no quiere decir que las hormonas no estén involucradas en el inicio de la enfermedad, solamente que no hemos podido utilizar este abordaje como posible alternativa terapéutica. Recientemente ha habido cierto interés en investigar cómo la genética y la epigenética del cromosoma X pueden contribuir a la enfermedad.

Pregunta: *No me refería a una posible terapia hormonal, sino por qué cuando la mujer entra en el estado menopáusico suele ser habitual que disminuya la actividad de la enfermedad.*

Anne Davidson: En una fase posterior en la vida de la mujer, en la que hay menos carga hormonal, es cierto que la incidencia de lupus es más baja, siendo más activa la enfermedad cuando en las mujeres hay una mayor activación hormonal. Por lo tanto, después de la pubertad, en el estadio premenopáusico es donde se encuentra una mayor incidencia de la enfermedad. Y, de hecho, yo no administro hormonas a mujeres que han pasado la menopausia, porque no está clara la evidencia de que sea una opción segura. Por lo tanto,

hay una evidencia claramente epidemiológica de asociación entre el momento en que la mujer es activa hormonalmente y el momento en que es susceptible al lupus; sin embargo, esta realidad no hemos podido utilizarla para nuestro beneficio clínico.

Pregunta: *Se ha hablado sobre el papel que tienen las células NK en la autoinmunidad. Aunque se ha hablado sobre el rol de la activación de las NK en el lupus y la artritis juvenil, hay varios informes del año pasado que muestran la sobreexpresión de los ligandos NK con los glomérulos en las células β del páncreas, incluso en el cerebro. ¿Cómo se puede compatibilizar esta regulación a la baja de la activación de las NK con la sobreexpresión de ligandos que activan NK?*

Berent Prakken: Hay muchos informes sobre activación de las células NK en distintas formas de la enfermedad. Se ha descrito un defecto genético de deficiencia de perforina, que conlleva la deficiencia de NK; en esta situación, los pacientes con un defecto congénito de perforina mueren en los primeros 2-3 años de la enfermedad, refiriendo fiebre alta, órganos agrandados, etc. A lo mejor hay varios factores de riesgo genéticos que hacen que estos pacientes tengan un mayor riesgo de desarrollar esta disfunción de célu-

las NK, pero también hay que tener en cuenta los factores medioambientales.

Anne Davidson: Las células NK están infraestudiadas en el lupus.

Mark Peakman: En el caso de la diabetes, creo que sería muy interesante profundizar en esta línea de investigación e, incluso, creo que actuar terapéuticamente sobre las NK puede ser una buena estrategia a seguir.

Pregunta: *¿Qué relación puede existir entre el funcionamiento del microbioma y el desarrollo del sistema inmunológico? ¿Se sabe qué asociación concreta puede existir entre la IL10 y el microbioma?*

Jorge R. Oksenberg: Lo cierto es que sabemos que podemos cambiar la progresión de la patología en animales interviniendo en el microbioma, manipulando la flora intestinal. La modificación del intestino, del sistema digestivo humano, a través de la dieta ha ofrecido clásicamente buenas evidencias. Además, ahora disponemos de recursos técnicos de secuenciación que facilitan el estudio pormenorizado del microbioma, pero aún no hay resultados definitivos.

Mark Peakman: Creo que es muy interesante una vía de investigación en la que se profundice en el estudio del intestino y su papel en la inducción de la tolerancia inmunológica y, de hecho, hay muchos productos

identificados que podrían ser útiles para este fin. En los próximos cuatro o cinco años tendremos grandes progresos en este ámbito.

Pregunta: *Se ha hablado sobre la posibilidad de inducción de células Treg, con el fin de crear un medio para regular el sistema inmunológico y tratar de detener la enfermedad autoinmune; sin embargo, en la práctica clínica actual, hasta que lleguemos a este punto, ¿qué podemos hacer, ya que estamos utilizando terapia inmunosupresora? ¿Cómo podemos saber qué paciente se podrá beneficiar de la terapia inmunosupresora?*

Mark Peakman: Creo que esta pregunta aún no tiene respuesta. Sospecho que algunas terapias utilizadas actualmente no están siendo muy específicas; son demasiado agresivas inmunológicamente y, por lo tanto, se debe dar un paso más para conseguir opciones terapéuticas mejor toleradas y más dirigidas. En cuanto a la posibilidad de disponer de perfiles de pacientes con mayor o menor probabilidad de responder a estos tratamientos, hay que desarrollar enfoques en los que se pueda evaluar la parte reguladora natural y no sólo la parte de la regulación de células T.

Pregunta: *¿Cuánto tenemos que esperar, cuántas generaciones, para dar un salto definitivo en el*

conocimiento genético y tratamiento de estas enfermedades?

Jorge R. Oksenberg: Es frecuente cometer el error de pensar en las enfermedades autoinmunes como si fuesen mendelianas, y no podemos esperar que haya un cambio genético dramático único que produzca un nuevo fenotipo. En este caso, hablamos de patologías en las que influyen muchos factores y donde participan muchas variantes genéticas, por lo que aún estamos lejos de poder desarrollar una terapia génica. Sin embargo, por otro lado, estoy de acuerdo en las ventajas que ofrecen los estudios familiares, en los que es posible ver la segregación de las variantes a través de las generaciones. Pero estamos abordando enfermedades multifactoriales y poligénicas.

Juan Carlos López: *¿Cuáles serían los mensajes clave de su intervención?*

Anne Davidson: La clave para mejorar el tratamiento y, por lo tanto, el pronóstico de los pacientes con enfermedades autoinmunes complejas pasa necesariamente por el uso de inmunoterapias, que deben probarse en modelos animales y que precisan ser replicadas en grandes cohortes de pacientes. Nuestro objetivo no sólo debe ser detener la inflamación en el paciente enfermo, sino también intervenir en estadios más precoces, tratando de evitar en todo lo posible su progresión.

Mark Peakman: En el caso de la diabetes tipo 1, nuestro reto actualmente es equilibrar riesgos y beneficios. Hay muchas cosas que desconocemos y también nos encontramos con el problema de los costes terapéuticos. Además, necesitamos la colaboración de todos, incluyendo a pacientes, autoridades sanitarias y políticas, población en general...

Berent Prakken: Creo que hemos avanzado muchísimo en conocer mejor esas enfermedades que, hasta hace poco tiempo, se denominaban incurables. Ahora son enfermedades tratables e, incluso, se pueden llegar a detener en algunos casos; sin duda, el siguiente paso será la curación definitiva. Para ello, necesitamos atravesar fronteras entre la investigación básica y la clínica, y, además, necesitamos una financiación adecuada. La colaboración de todos será la base del éxito.

Jorge R. Oksenberg: Me gustaría dar dos últimos mensajes optimistas. Por un lado, entre los asistentes a esta reunión hay muchas personas jóvenes, lo que quiere decir que éste es un campo incipiente y emergente de interés y estudio. Por otra, creo que se ha avanzado mucho y que la constante incorporación de nuevas tecnologías y conocimientos dará un empujón definitivo en los próximos años en el abordaje de las enfermedades autoinmunes.

presentation

Raimundo Pérez-Hernández y Torra
Director Ramón Areces Foundation

José María Medina Jiménez
Member of the Scientific Advisory Council
Ramón Areces Foundation

Javier Cazaña Aguilar
Managing Director
Nature Publishing Group Iberoamérica

Presentation

I wish to express my satisfaction, both personally and professionally, with the collaboration that the Ramon Areces Foundation has established with Nature Publishing Group Iberoamerica (NPGI). This collaboration between the Ramón Areces Foundation and the publisher marks the fourth edition, so we can say that our collaboration is becoming a tradition.

The first three editions included extremely interesting seminars on personalised medicine, the nanotechnology revolution, and genetic testing, respectively. The content addressed in the round-table discussions has been included in several informative monographs.

Our collaboration with NPGI is based on three important reasons: NPGI is an institution of recognised prestige in the field of science communication; our organisations share a scientific vocation and a strong passion for science and research, and we discuss topics of considerable novelty and relevance: nanotechnology, personalised medicine, genomics, and now autoimmune diseases. Autoimmune diseases are currently, without a doubt, a highly relevant topic, with greater impact and more frequent publication than we might have imagined.

I am also delighted that this conference has become almost a landmark event, and for those who are faithful attendees and who enjoy this event, we are pleased to inform you that there are definitely plans to continue this series. |

Raimundo Pérez-Hernández y Torra
Director Ramón Areces Foundation

We are now in the fourth edition of a conference that is the product of a collaboration between the Ramon Areces Foundation and NPGI. This edition is particularly interesting because it addresses what we call autoimmune diseases, as they arise when the body fights against one or more of its own proteins, directing the body's attention to the cells that contain these proteins and producing devastating effects.

The selection of topics for review has been excellent, especially with respect to the diseases of major concern to society for two important reasons: first, due to their serious deleterious effects, which lead to the suffering of those affected, and second, which I think is the main reason for this conference, because we currently have no definitive therapeutic tools that can stop or otherwise effectively alleviate all of their effects.

Therefore, I believe that it is appropriate that one session focus on these diseases. The discussion will include type 1 diabetes, which is not as rare as was formerly believed. The study of type 1 diabetes has broadened the perceived scope and importance of autoimmune diseases, a group of disorders that once included only systemic lupus erythaematosus and a few others. Although type 1 diabetes is much less common than type 2 diabetes, its health and social impacts are significant. The autoimmune nature of type 1 diabetes, which has been known for some time now, is an internal struggle in which the patient's β -cells are eventually killed, creating a deficiency in insulin release.

Other diseases of increasing importance are also reviewed, including paediatric arthritis, systemic lupus erythaematosus, and multiple sclerosis; all are significant health problems today. Therefore, as in previous editions, the theme chosen is of tremendous topical importance, not only because we know more about autoimmune diseases but also because we have begun to develop therapeutic resources that may help control and cure them in the near future. |

José María Medina Jiménez

Member of the Scientific Advisory Council Ramón Areces Foundation

On behalf of NPGI, I would like to thank the Ramón Areces Foundation for another year of support, as represented here by Mr. Perez Hernandez y Torra and Prof. Medina Jimenez, a patronage that, as in previous years, has made this conference-debate series possible. Over these four years of collaboration, we have disseminated knowledge about topics of great scientific interest such as genetic testing, nanotechnology, and personalised medicine.

I also wish to thank Professors Peakman, Prakken, Oksenberg, and Davidson for accepting our invitation to participate in this event, which will address pathologies such as type 1 diabetes, childhood arthritis, multiple sclerosis, and systemic lupus erythaematosus.

I would also like to thank Dr. Juan Carlos Lopez, editor of the journal *Nature Medicine*, the top publication in the 'Medicine, research and experimental' category, with an impact factor of 25.43, for his fundamental contribution.

At Nature Publishing Group, we believe that science and innovation are key aspects of international development and quality-of-life improvements for the world's population. Bringing research results to a global audience can foster innovation and remains essential to the mission of our group. One measure of our success in accomplishing this mission is the number of citations our publications receive, especially when measured in terms of impact factor, which is still a clear indicator of the use, relevance, and scientific value of our content.

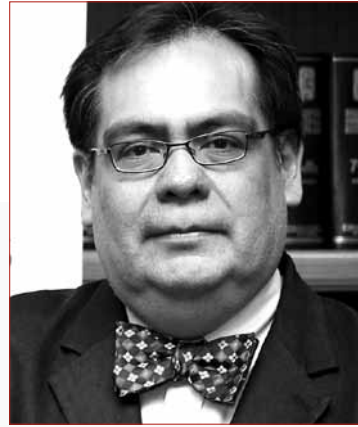
We are proud that the journal *Nature*, according to recent data from the Journal Citation Report, has achieved an impact factor of 36.10. New papers published in this journal received more than half a million citations in 2010, making it the most cited journal in absolute terms. Sixteen titles from our group lead their respective categories in terms of impact factor, and 17 NPG journals are among the top 50 in impact factor worldwide.

We strive to be responsible and maintain a vibrant vision for our future activity, allowing us to continue providing the best content and services to the community, especially scientists. The primary commitment of our group is to serve to science and scientists. We wish to again thank the Ramón Areces Foundation very much for sharing this goal with us and for helping us to make this series possible. |

Javier Cazaña Aguilar

Managing Director of Nature Publishing Group Iberoamérica

introduction



Juan Carlos López

Editor of *Nature Medicine*

He received his degree in biomedical research at the Universidad Nacional Autónoma de México and obtained his PhD in neurobiology and behaviour at Columbia University (New York), where he studied the cellular and molecular mechanisms of simple forms of memory in Eric Kandel's laboratory. Before entering the publishing world, Juan Carlos worked for the Instituto Cajal (CSIC, Madrid), studying the functional aspects of inhibitory neurotransmission. In November 1999 he was honoured with the "Estudi General" European Award for scientific dissemination, for his book *El Taller de la Memoria*. He is currently editor in chief of *Nature Medicine*, a post he had held previously at *Nature Reviews Neuroscience*.

Introduction

The immune system functions to defend us from external agents that can damage our bodies such as viruses, bacteria, and other biological (microbial), chemical, or physical agents. Normally, the immune system detects these antigens and attacks them with processes such as inflammation and antibody generation. However, sometimes this system fails to recognise as self one or more autologous tissues or components, producing antibodies that attack the body's own cells, tissues, and organs. This process leads to inflammation, injury, and the destruction of healthy cells, ultimately manifesting as autoimmune diseases such as type I diabetes, multiple sclerosis, psoriasis, rheumatoid arthritis, and lupus.

The exact cause of this loss of self-recognition is unknown and is under active investigation. However, it appears that in many cases, autoimmune disorders are related to genetic predisposition and sometimes to external factor. What are the relative strengths of the genetic and environmental components? Why does the autoimmune system attack its own body? Are these diseases increasing in prevalence? These and other questions will be addressed in these conferences.

In these meetings, we typically tend to discuss issues that are very forward-looking and not yet supported by many solid results. This was the case in last year's meeting on personalised medicine, which has shown promising progress but remains largely in the realm of specu-

“In autoimmune diseases, the organism produces antibodies that attack the body's own cells, tissues, and organs”.

lation and theory. We have also frequently chosen topics such as cancer, which is a well-established research topic on which there has still been only modest progress.

In the case of autoimmunity, advances in this field are substantial, and I am personally very optimistic its future prospects. There are already several new therapies for autoimmune diseases, and there will soon be more because the science in this field has made significant progress in recent years; it is a refreshing change to address a research area that has produced clear results.

When we began to prepare the program, we considered which speakers should be chosen for this meeting. Thus, after selecting the four autoimmune diseases that we thought were the most relevant, we wanted to go one step further. We reasoned that there were various aspects that were specific to each disease and for which there have been interesting developments, which led us to contact the experts in each specific field, who will be able to offer a practical vision of the connection between basic and applied science. I am very pleased with the results, and I am sure that the talks will be extremely interesting. |

Lectures

WHO GETS THE AUTOIMMUNE DISEASE TYPE 1 DIABETES, AND WHY?

Mark Peakman

Professor of Clinical Immunology at King's College London, School of Medicine, London, United Kingdom

FROM BENCH TO BEDSIDE: TRANSLATIONAL CHALLENGES IN CHILDHOOD ARTHRITIS

Berent Prakken

Professor at the Centre for Molecular and Cellular Intervention, Dep. of Pediatric Immunology, University Medical Centre Utrecht, The Netherlands

MAPPING GENETIC SUSCEPTIBILITY AND MODELING PATHOGENESIS IN MULTIPLE SCLEROSIS

Jorge R. Oksenberg

Head of Department of Neurology, University of California at San Francisco, United States

ADVANCES IN THE PATHOGENESIS AND MANAGEMENT OF SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS

Anne Davidson

Investigator at Feinstein Institute for Medical Research, Manhasset, United States

Who gets the autoimmune disease type 1 diabetes, and why?

Mark Peakman

Professor of Clinical Immunology at King's College London, School of Medicine, London, UK

Type 1 diabetes is an autoimmune disease that is metabolic in nature and characterised by the selective destruction of pancreatic β -cells, causing an absolute deficiency of insulin. It is estimated that only 1 in 20 people with diabetes have type 1 diabetes, which occurs most often in young children. In the past 35 years, intensive and extensive immunological research has been conducted on type 1 diabetes, which has allowed us to develop a model to improve the pathophysiological knowledge of this disorder and to guide more effective treatment.

Genes and certain environmental factors come together in a 'perfect storm' to trigger the onset of the disease in certain individuals; undoubtedly, the understanding and identification of the genes involved in this process and the environmental factors capable of interacting negatively to cause the disease are leading to great advances in its clinical management. Currently, this research is generating new immunological approaches that could lead to innovative therapies in the near future.

Approach to the disease

In the early 20th century, diabetes was a disease with no known medical cause that affected mainly children and young adults; their prognosis was fatal and mortal: at the time, the only treatment was a strict diet. However, this treatment was not effective because the disease ultimately killed all who suffered from it, often weeks or months after being diagnosed with the disease.

We recently celebrated the 90th anniversary of the scientific discovery that changed the way diabetes is treated: in 1922, insulin was used for the first time to treat a patient with type 1 diabetes. Frederick Banting was the main individual who was responsible for the discovery (along with other renowned scientists such as Charles Best), and his work has saved countless lives around the world. His successful intervention in a diabetic dog led to the use of insulin injections, which have become the standard treatment for these patients. Today, many people with the disease live longer, healthier lives thanks to insulin treatment. However, although it is true that we have come a long way since the first injection of insulin in 1922, the diabetes problem is not yet fully solved.

As Dr. Mark Peakman noted, 'Significant benefits for patients have been achieved with insulin, but the

Biography outline

Dr. Peakman qualified in Medicine and then conducted PhD studies on the T cell autoimmune response in Type 1 diabetes, which has become his enduring research interest. He now oversees a research group in the Department of Immunobiology at King's, with a particular focus on defining the molecular targets of autoreactive



Mark Peakman

T cells in autoimmune diseases, and using antigen-specific immune modulation in an attempt to combat the loss of tolerance that underlies these syndromes. Currently, he is also the editor in chief of *Clinical and Experimental Immunology*.

“There is currently no cure for diabetes”.

control of blood glucose is not yet complete because glucose is distributed throughout the body, and therefore, chronic hyperglycaemia often causes serious complications, ranging from kidney failure or blindness to the appearance of early cardiovascular events.’

Apart from the health and social consequences, type 1 diabetes has a serious economic impact. For example, in the UK alone, the costs of diabetes to the National Health Service amount to 6–9 billion euro (nearly half is devoted to type 1). Additionally, the prevalence of diabetes is expected to increase in the coming years (especially in Western countries), a fact that is especially important considering that there is currently no cure for the disease and no spontaneous remission is known to occur.

A pathological approach to type 1 diabetes allows us to determine the role and function of insulin in these cases and the process that follow until chronic deficit occurs. Insulin is the hormone that stimulates cells to take up the amount of glucose necessary for their energy needs. Through glycolysis and cellular respiration, energy is obtained from this glucose in the form of adenosine triphosphate. To stimulate the uptake of blood glucose into cells, pancreatic β -cells release insulin when the blood glucose level is high.

One way to detect whether β -cells produce insulin is to analyse the presence of C-peptide in the blood. This peptide is released into the blood when β -cells process proinsulin into insulin. When only 10–20% of β -cells are healthy, symptoms of diabetes begin to appear. At the time of diagnosis of type 1 diabetes, typically over 80% of pancreatic islets have been destroyed.

Type 1 diabetes results from the destruction of β -cells by the immune system. Currently, the mechanism by which the body attacks its own insulin-producing cells

is not fully understood. However, Dr. Peakman’s team have isolated a T-cell from a patient with type 1 diabetes to monitor the molecular interactions that result in the death of β -cells. They discovered that T-cells that help protect against disease can, under certain conditions, become cytotoxic and kill cells that produce insulin. In short, they demonstrated how T-cells may play important roles in autoimmune diseases such as type 1 diabetes and were the first to demonstrate the mechanism by which these cells can attack the body’s cells to cause an autoimmune disease. For Dr. Peakman, ‘This is a first glimpse of how killer T-cells make contact with the cells that produce insulin, which is very enlightening and increases our understanding of how type 1 diabetes arises.’

Dr. Peakman added, ‘This knowledge will be used in the future to predict who might develop the disease and also to create new approaches to prevent its occurrence. Our goal is to detect the disease early, before many insulin-producing cells have been damaged.’ In his opinion, a better understanding of this process will put type 1 diabetes researchers in a much stronger position to explore new ways to prevent or stop the disease.

In addition to the pathology of type 1 diabetes, significant progress has also been made in the discovery of predisposing genetic factors. In the last decade, our knowledge about type 1 diabetes has greatly increased, mainly due to the revolution in genetics and, more specifically, to the reduced cost of whole-genome studies and their consequently increasing utilisation. For example, variants of normal genes that are much more common in diabetics have been identified.

A model to follow

Based on this progress in understanding the pathology and genetics of diabetes, Mark Peakman’s group have defined a model that includes the main protagonists of the immune system that are involved in the genesis of this disease. In type 1 diabetes, the pancreatic islets are attacked and assaulted by immune factors, causing

inflammation in β -cells. The antigen-containing cells travel to the nearest pancreatic lymph node, destroying β -cells along the way. This process, which also involves the major histocompatibility complex human leukocyte antigens (HLAs), activates T-lymphocytes, which in turn promote the appearance of pro-inflammatory cytokines. These inflammatory factors move through the blood to the pancreatic islets, thus closing an ominous and unstoppable vicious circle.

Throughout the above-described process, as highlighted in Dr. Peakman's lecture, 'antigen presentation to T-cells is a key step, being established as the most important predisposing genetic factor.' The genetic susceptibility for autoimmune type 1 diabetes involves multiple genes. The major gene responsible for predisposition to the disease is located in the HLA region of chromosome 6. Polymorphisms in this complex appear to represent 40 to 50% of the genetic risk for type 1 diabetes. This region contains the genes encoding the major histocompatibility complex class II proteins, which present the targeted antigen to the helper T-cells and are therefore involved in initiating the immune response. The ability of a class II MHC molecule to present an antigen depends on the amino acid composition of its antigen-binding site. Amino acid substitutions can influence the specificity of the immune response by altering the affinity of different antigens for class II molecules.

The majority of diabetics have type 1A HLA haplotypes DR3, DR4, or both. The purification procedures for genotyping the HLA loci have demonstrated that the haplotypes DQA1 * 0301, DQB1 * 0302, DQA1 * 501 and DQB1 * 0201 are the most strongly associated with type 1 diabetes. These haplotypes are present in 40% of children with type 1 diabetes but only 2% of the healthy population of the United States.

In addition to the associations with the HLA class II loci, at least 17 different loci may contribute to vulnerability to type 1 diabetes. For example, several po-

“In type 1 diabetes, the immune system attacks and destroys the pancreatic insulin-producing cells”.

lymorphisms in the promoter region of the insulin gene account for nearly 10% of the susceptibility to diabetes. There are also genes that confer protection against the development of the disease. The haplotypes DQA1 * 0102 and DQB1 * 0602 are present in 20% of the United States population but are extremely rare in individuals with type 1 diabetes (<1%).

In general, according to studies by Dr. Peakman's group, it is possible to distinguish three sets of genes that are involved in three different stages of the disease and that take part in various processes involved in the predisposition (or lack thereof) to suffer from this disorder. As he said, 'In addition to a set of genes related to antigen presentation to T-cells, genes associated with the regulation of the immune system (such as anti-inflammatory cytokine interleukin (IL)-10) and another group of genes that modulate pathogenic susceptibility have been identified.' Thus, the presence or absence of certain environmental stimuli interacts with these genes to provide protection against the disease or, conversely, to initiate the 'perfect storm' that induces the destruction of pancreatic β -cells.

In recent years, researchers at the National Institute of Health Research (NIHR) and the Biomedical Research Centre of London King's College have preferentially studied the peptides involved in the process of antigen presentation to T-cells and identified cytotoxic T-cells that target insulin and kill human β -cells. In subsequent studies, these cells have been taken from diabetic patients and cloned, demonstrating for the first time that they can actually eliminate human β -cells.

Thus, the direct association of autoreactive T-cells with β -cell destruction in human pancreatic islets of type 1 diabetes has been established, and more light

“Rituximab, used to treat certain cancers and rheumatoid arthritis, may also be effective in delaying the development of type 1 diabetes”.

has been shed on the progression of the disease after diagnosis. Once the existence of cytotoxic T-cells that recognise insulin and kill human β -cells was known, the next step was to determine whether these cells are present in the islets where human β -cells die. A study by Coppieters et al. confirmed that the T-cells that cause the death of β -cells are found not only in the blood but also in the islets.

Another emerging research field and a focus of Dr. Peakman's group is the characterisation of molecular interactions between cytotoxic T-cells and β -cells. A study by Bulek et al., soon to be published in *Nature Immunology*, has unravelled the structural basis of human β -cell killing by CD8⁺ T-cells in type 1 diabetes. Although the structural features of the relationship between the autoantigens presented by major histocompatibility complex class II and the receptors of autoreactive T-cells were previously known, it remained unknown how the antigen receptors on T-cells interact with autopeptide complexes and major histocompatibility class I complexes. However, as Dr. Peakman remarked, “This documented interaction has been extremely weak (the mildest natural agonist affinity to the antigen found so far), due mainly to the limited contacts with the major histocompatibility complex class I. The binding of the antigen to the T-cell receptor is dominated by two residues from the complementarity-determining region that act as an “aromatic cap” on the peptide complex and the major histocompatibility complex class I.”

Thanks to this research, and with the goal of taking one more step towards translating the results into clinical therapy for type 1 diabetes, it has been found that a single autoimmune T-cell receptor can recognise more

than one million different peptides. An experimental and mathematical analysis developed by Wooldridge et al. has revealed that a single CD8⁺ T-cell clone derived from an autoimmune patient with type 1 diabetes is capable of recognising more than one million different peptides in the context of a simple major histocompatibility complex class I molecule. They also identified a large number of peptides that act as better agonists than the peptides derived from the preproinsulin; for example, the peptide RQFGPDFPTI was over 100 times more potent than the index peptide, although it differed from the reference sequence at 7 of 10 positions. According to Wooldridge et al., the quantification of high levels of cross-reactivity of the autoimmune antigens with the previously unappreciated CD8⁺ T-cells represents an important advance in our understanding of the requirements of adaptive immunity and provides valuable information on the potential degeneration of T-cell receptors as a causative factor in autoimmune diseases. As a message for reflection drawn from this study, Dr. Peakman stated ‘It is suggested that the antigenic peptide that stimulates T-cell death may not originate from insulin.’

Regarding the influence of certain genes on immunoregulation, a recent study by Arif et al. reported that the responses of autoreactive T-cells show pro-inflammatory polarisation in diabetes but not in a regulatory phenotype in healthy models. Tree et al. concluded that human CD4⁺ T-cells that arise naturally, recognise islet autoantigens, and secrete IL-10 are responsible for regulating the responses of pro-inflammatory T-cells through a process of elimination. These findings demonstrate that the balance of specific T-cells in peripheral blood islets is abnormal in type 1 diabetes.

Type 1 diabetes involves the phenomenon of defective immunoregulation, in which a defined set of genes that are responsible for controlling the immune response (e.g., CD25, CTLA4, and IL-10) play important parts. In this sense, Dr. Peakman recalled that IL-10 has a pro-

tective role against diabetes. Current literature suggests that people with elevated levels of this interleukin develop type 1 diabetes, on average, approximately 7 years after those with lower levels.

The third set of genes on which Dr. Peakman's research is focused are those involved in the pathogenic susceptibility for type 1 diabetes including *IFIH1*, *EBI2*, *TLR7/TLR8*, *FUT2*, and *BACH2*. It has been suggested that this group of genes, which are responsible for the immune system's interaction with external pathogens, may participate in a complex process of sensitivity to pathogens, even in the context of an excessive immune response to the progressive damage that occurs in β -cells in individuals at risk for diabetes.

Treatment options

After the pathogenic and genetic model of type 1 diabetes is established, many treatment options should become available. For Dr. Peakman, there are two possible ways to approach to this disease.

In one modality, immune suppression can be attempted. In patients with type 1 diabetes, the autoimmune response destroys insulin-producing cells in pancreatic islets; to inhibit the disease, autoreactive immune cells must be suppressed or eliminated without producing side effects. As examples of this type of approach, anti-CD3 antibodies, rituximab, and abatacept have yielded promising results to date.

One therapy developed against the destruction of insulin-producing cells is the administration of an antibody against CD3, which the majority of T-cells produce. This antibody enhances the function of regulatory T-cells (Tregs), which slow an excessive immune response. It has been reported that the combination of an oral treatment of CD3 antibody combined with the intranasal administration of proinsulin peptides can reverse early type 1 diabetes in mice, with results that are much more satisfactory than from anti-CD3 alone or peptides alone. This suppression of the immune res-

ponse promotes the regeneration of insulin-producing pancreatic cells by natural regenerative processes in animal models.

The selective depletion of B-cells through the use of rituximab, a CD20 antibody, has also attracted considerable therapeutic interest. This antibody, used to treat certain cancers and rheumatoid arthritis, may also be effective in delaying the development of type 1 diabetes. Several studies have indicated that the use of this drug can deplete the B-cells involved the development of diabetes; after the successful elimination of these B-cells, regulatory cells (B and T) emerge to continue the suppression of the inflammatory response and autoimmune attack, even after the B-cells return. In mutant mice, B-cells play key roles in autoimmune diseases by interacting with T-cells to, e.g., help them destroy β -cells in type 1 diabetes.

Abatacept is a selective costimulation modulator that inhibits the costimulation of T-cells. This drug prevents antigen-presenting cells (APCs) from sending the costimulatory signal to T-cells to activate them. Generally, the total activation of the T-cell requires 1) the binding of the T-cell to the HLA antigen receptor in the APC and 2) a costimulatory signal provided by the binding of the T-cell protein CD28 to the APC protein B7. Abatacept, which has a high-affinity binding site for B7, acts by binding to B7 on APCs, thus preventing these cells from sending the costimulatory signal to the T-lymphocyte for full activation. In diabetic patients who are in the so-called honeymoon phase of the disease (a period in which the daily need for insulin temporarily decreases), abatacept protects β -cells from autoimmune attack.

However, Dr. Peakman also found several limitations to this type of approach 'because type 1 diabetes affects mostly children, and we must not forget that the type of treatment that is being investigated is based on an immunosuppressive strategy, raising many concerns when its long-term administration in a susceptible population is considered.'

For this reason, Dr. Peakman wagers on other therapies that, in a more subtle way, can combat the immune deficits found in the genesis of this disease. In this context, the concept of antigen-specific immunotherapy has emerged to address autoimmune diseases. This modality aims, in short, to manage or restore self-antigens to induce tolerance to the same antigen or the target tissues of the autoimmune response. Allergic disorders and diseases such as multiple sclerosis have benefited from this type of therapeutic strategy. However, as noted by the British expert, 'This method of treating the disease is not new'; for example, there are nearly century-old reports of the benefit of prophylactic inoculation in developing active immunity against the toxin responsible for hay fever.

As an example of a similar therapeutic approach, a sophisticated 'vaccine' based on nanotechnology was recently used to cure mice with type 1 diabetes and slow the onset of illness in others at risk of contracting it. One study, conducted at the University of Calgary in Alberta, Canada, has shown that it is possible to stop the autoimmune response of type 1 diabetes without damaging the immune cells that protect against infections. The researchers developed a vaccine composed only of nanoparticles, with sizes thousands of times smaller than that of a cell. These nanoparticles are coated with peptides specific to type 1 diabetes and bind to HLA molecules. The goal of nanoparticle vaccines is to increase the number of peptide-specific Tregs that suppress the specific immune aggression responsible for the destruction of β -cells. Thus strengthened, the peptide-specific regulatory cells neutralise the autoimmune aggression by preventing aggressive autoimmune cells from being stimulated, either by the peptides in the vaccine or by any specific autoantigen of type 1 diabetes present simultaneously in the same APC. This research also pre-

sents important perspectives regarding the possibility of translating these results in mice to therapies for diabetic humans: nanoparticles containing human molecules related to diabetes restored normal blood sugar levels in a model of human diabetes reproduced in mice. Only those immune cells specifically involved in attacking and destroying β -cells responded to the antigen-specific nanoparticle vaccine, so the treatment did not affect the rest of the immune system.

There is also promise in specific therapy that exploits the benefits of immunotherapy to prevent and reverse type 1 diabetes, for example, proinsulin peptide immunotherapy. A classic work by Thrower et al. reported the safety outcomes obtained with this therapy (monthly intradermal injections at doses of 10, 100, or 1,000 μ g) in the first patient undergoing intradermal administration of a natural proinsulin peptide (C19–A3). The study found that this agent is safe, well tolerated, and not associated with the risk of systemic allergic hypersensitivity or the induction/reactivation of pro-inflammatory damage mediated by T-cells. After the administration of low doses of the proinsulin peptide, IL-10 induces a response; no increase in antipeptide autoantibodies or other antibodies was observed nor was the induction of pro-inflammatory cytokines. Based on these findings, this immunotherapy is being evaluated for possible beneficial effects on the markers of T-cell autoimmunity and the preservation of β -cell mass. A phase Ib study has recently been launched in an attempt to reproduce these results.

'Without a doubt,' Dr. Peakman concluded, 'with these advances, and especially with the knowledge that is accumulating regarding the pathogenesis and genetic implications of this disease, hopefully, in the next decade there will be a real revolution that allows for the therapeutic healing of type 1 diabetes.' ■

From bench to bedside: translational challenges in childhood arthritis

Berent Prakken

Professor at the Centre for Molecular and Cellular Intervention, Dep. of Pediatric Immunology, University Medical Centre Utrecht, The Netherlands

Childhood and juvenile arthritis is a disorder that, despite its social and economic importance, is often underestimated. To improve its management, and as evidenced by a consensus report of experts at the Royal Academy of Sciences, three current challenges related to approaches to autoimmune diseases must be successfully addressed: 1) advancing personalised medicine, which will offer therapy tailored to each patient (or subgroup of patients); 2) achieving lasting remission of the disease (with prolonged periods free of progression); and 3) identifying and employing new biomarkers.

Prof. Berent Prakken placed special emphasis on the benefit that can be extracted from a more personal type of therapeutic approach because ‘this would not only improve current success rates but also significantly reduce the frequent (and sometimes debilitating and severe) adverse side effects associated with treatment.’

A first step essential to realising the possibility of more individualised therapies is to identify the various subtypes of existing arthritis, as this will enable us to adapt our therapeutic resources to the characteristics of each subclass of pathology. Currently, three basic idiopathic arthritis subtypes can be distinguished: unremitting, self-limiting, and autoinflammatory.

Juvenile idiopathic arthritis (JIA) is a heterogeneous group of diseases affecting children under 16 years of age; in the majority of cases, its immunopathogenesis is unknown. Although the onset and course of the disease differ greatly from those of the other subtypes, JIA sha-

res several common features: the appearance of chronic inflammation in the joints, with infiltrations of immunocompetent cells that secrete inflammatory mediators. In JIA, the immune system attacks the synovium (joint lining). The synovium becomes inflamed, causing swelling, pain, and stiffness. This process may spread to surrounding tissues, damaging cartilage and bone.

It is not known exactly what causes rheumatoid arthritis in children, although research has indicated that it is an autoimmune disease. In autoimmune diseases, white blood cells lose the ability to distinguish *self* cells and tissues from invading pathogens such as bacteria

Biography outline

He studied Medicine at the University of Groningen, and specialized into paediatrics at the University of Utrecht, where he also did a fellowship in clinical immunology and received his PhD cum laude in 1997. He continued his research at the University of California, San Diego. Since 2000 he has headed up a



Berent Prakken

research group that studies the regulation of inflammation in chronic inflammatory diseases. His main focus is on the role of regulatory cells in the control of inflammation, the development of immune therapy for arthritis, and the role of heat shock proteins as targets for specific immune regulation. The work of his group has received numerous national and international awards. Dr. Prakken is also the scientific director of the Eureka Institute for Translational Medicine.

“To establish individualised therapies it is necessary to identify the various subtypes of existing arthritis”.

and viruses. The immune system, which should protect the body from these harmful invaders, instead releases chemicals that attack the body's own healthy tissues, causing inflammation and pain.

The role of inflammation

Pivotal studies published in the last 5–6 years on patients with JIA have resulted in important progress in several areas, from better classification of subtypes of juvenile arthritis to the development of new treatments. Simultaneously, studies of gene expression profiles have also enabled the identification of various immunological mechanisms in the different subtypes of the disease, facilitating the redefinition of the criteria for classifying JIA. However, ‘Unlike what happens with type 1 diabetes, JIA is extremely heterogeneous, and there are many genes involved in its development. In addition, environmental factors also play a role in establishing this disease,’ said Dr. Prakken. In particular, he ventured that ‘there may be a million triggers causing local tissue damage and inflammation in the joint.’

When inflammation is present in the joint, autoantigens are expressed and begin to stimulate the machinery of the immune system. After local inflammation is established, there are factors that may exacerbate inflammatory processes. Immunological studies have demonstrated that systemic JIA is an acquired autoinflammatory disease, which has led to studies that have achieved a significant degree of success in confirming the benefits of the blockade of IL-1 and IL-6. In several forms of the disease, synovial inflammation results from an altered balance of pro-inflammatory effector cells (e.g., Th17 cells) and Tregs.

The inflammatory balance is a delicate process that can be altered by the minimal influence of a series of triggers. Cardiac surgery has become a suitable model for the analysis of these aspects of immune activation because in this situation, there is an acute inflammation that has a specific origin and a reproducible, transient nature. This model permits the examination of the patient before (in a hypothetical inflammatory equilibrium), during (with an extraordinary surge of pro-inflammatory factors), and after the intervention (when the immune system tends to balance the pro- and anti-inflammatory factors).

Recently, Schadenberg et al. published a study that provides crucial clues about the role of Tregs in the inflammatory process using a model of transient inflammation (paediatric surgery to correct a defect in the cardiac septum). Given the leading role of Tregs in controlling inflammation, experts working with Dr. Prakken have gone a step further. Although the transcription factor FOXP3 is the most reliable phenotypic marker for Tregs, FOXP3 by itself does not unequivocally indicate the activation of suppressor T-cells in vitro. Therefore, Dr. Prakken's group attempted to elucidate the function of FOXP3⁺ T-cells in the acute inflammation that occurs following cardiac surgery in humans. After surgery, a transient systemic inflammatory response was observed, accompanied by an increase in the proportion of T-cells maintaining a CD25⁺ Treg phenotype. During this transient immune activation, both the percentage of CD4⁺FOXP3⁺ cells and the expression level of FOXP3 in the population of CD4⁺CD25^{bright}CD127^{low} cells increased. Although Tregs were present during systemic inflammation and remained anergic, their ability to suppress effector T-cells was reduced. Their data also demonstrated that the reduced suppressive state of Tregs can be induced in vitro with plasma obtained during the inflammatory peak after surgery. Thus, the findings of Schadenberg et al. show that inflammation inhibits Treg function due to the presence of soluble factors in plas-

ma and underscore the functional role of FOXP3⁺ Tregs during inflammation in vivo.

Based on these explanations, Dr. Prakken asked why we are all not capable of developing autoimmunity with slight swelling. Many answers can be defended, but the key may possibly be found in the Tregs. The main difficulty, he said, 'is that the bulk of evidence accumulated in this field of research is derived from animal experiments, and we have serious difficulties in translating the findings to humans.' There are over 4,000 articles in PubMed on the treatment of arthritis in rats, but no validated model exists for JIA. Therefore, none of the studied treatments can yet be applied in patients suffering from this disease.

Oligoarticular and systemic arthritis

The best way to overcome this obstacle is to focus on clinically well-defined subtypes of JIA, such as oligoarticular JIA, an autoimmune, self-limiting, self-remitting disease. In this group, arthritis affects four or fewer joints in the first six months of disease. If after six months, more than four joints are affected, then oligoarticular JIA is defined as extended; otherwise, it is known as persistent oligoarticular JIA.

Oligoarticular JIA mainly affects girls aged one to three years old, who outnumber boys by a ratio of four to one. Although all races can be affected, it occurs less frequently in non-Caucasians. Approximately 70% of patients with oligoarticular JIA are positive for antinuclear antibodies (ANAs). In order of frequency, the most commonly affected joints are knees, ankles, and the small joints of the hands. The majority of children complain of pain, morning stiffness, and functional limitation. However, 25% of children report no pain, and only joint swelling is observed. In oligoarthritis, up to 20% of patients may develop iridocyclitis, which is usually asymptomatic, being more frequent in ANA-positive children. Regarding the laboratory findings, acute-phase reactants are sometimes, but not always, elevated. The

“There are thousands of studies in rats, but no validated human model exists for juvenile arthritis”.

haemogram does not present major alterations, and the rheumatoid factor is negative.

In an attempt to form a hypothesis for the autoremittent nature of this subtype of JIA, Dr. Prakken returned to the importance of Tregs. Two types of Tregs are described in infantile idiopathic arthritis: 1) the natural CD4⁺FOXP3⁺ Tregs and 2) the Hsp60-specific T-cells. The relative numbers of each of these cells largely determine patient prognosis.

Systemic arthritis is characterised by arthritis, a fever of 39 °C or higher for over two weeks, and at least one of the following conditions: evanescent rash, lymphadenopathy, serositis, or hepatosplenomegaly. The fever typically manifests in peaks of at least 39 °C once or twice a day, accompanied by an evanescent macular/urticant rash. The most serious complication of this type of JIA is macrophage activation syndrome, which is clinically characterised by anaemia, jaundice, hepatosplenomegaly, easy bruising, and encephalopathy; the laboratory determinations include anaemia, pancytopenia (a minimum of two cell lines), increased aminotransferase and bilirubin levels, prolonged prothrombin time and activated partial prothrombin time, hypofibrinogenaemia, and elevated ferritin, soluble CD25, and CD163 levels. Mortality is high, and the treatment is controversial: the use high doses of steroids, cyclosporin, or etoposide. In laboratory studies of systemic-onset JIA, high C-reactive protein concentration, erythrocyte sedimentation rate, neutrophilia, thrombocytosis, and anaemia are found. The ANA test is negative, and the rheumatoid factor may be normal or elevated.

Although systemic JIA is a disease with a significant genetic load, it is an acquired condition, the cause of which is closer to being determined thanks to sig-

“Research on paediatric diseases is no a primary interest to industry”.

nificant progress in recent years. The option of using cytokines as biomarkers in this disease is fully justified both by the fact that the effector phase of autoimmunity is directed by cytokines and by the possibility of using receptors of these cytokines to identify targets for the development of specific therapies.

Taking steps towards the clinic

In this regard, Dr. Prakken mentioned the studies (many of them authored by Jager et al.) that have identified specific biomarkers that can guide the individualised treatment of this disease. He named IL-18 as an essential factor for this purpose. Using a multiplex immunoassay, Prof. Prakken's team examined 30 cytokines in the plasma of 65 patients with JIA, and these data were compared with those from 20 healthy controls and 9 patients with type 1 diabetes. The authors concluded that several cytokines (IL-18, MIF, CCL2, CCL3, CCL11, CXCL9, and CXCL10) may correspond to the activation status during inflammation in JIA and can be used to monitor disease activity and the results of potential immunotherapies.

Based on these findings, it was recently hypothesised that IL-18 may enhance the role of natural killer (NK) cells, inducing the release of perforin and the expression of interferon- γ and resulting in a signal similar to that of the IL-1 pathway. This group demonstrated that the IL-18 receptor binds to NK cells in systemic JIA but fails to induce a downstream signal due to a defect in the phosphorylation of IL-18 receptor β . 'Although levels of plasma cytokines alone have limited value, a multiplex analysis could provide additional information of interest,' said Dr. Prakken.

These findings have opened up many therapeutic possibilities. Currently, a study by Jager and Vastert

that investigated whether a blockade with IL-1 receptor antagonist restores the IL-18/NK cell axis in JIA is awaiting publication. Preliminary results indicate that the antagonist IL-1R is highly effective as a first-line treatment in JIA and correlates with increased NK cell number and functionality. Therefore, 'Early treatment based on blocking IL-1 could eliminate the pathology of systemic JIA, restoring the level of IL-18; in particular, almost 80% of cases exhibit remission, and the majority have been able to discontinue medication.'

However, from the clinical standpoint, Prof. Prakken acknowledged the difficulties in translating these findings to paediatric diseases. 'Unfortunately, research on paediatric diseases is not at the forefront of autoimmune research or of primary interest to industry, media, foundations, and universities ... additionally, the complete lack of relevant models is clearly a factor. Moreover, many drugs have not been adequately investigated and sufficiently tested in children. Finally, the possible occurrence of side effects is a major problem, which raises particular sensitivities when considering the paediatric population.'

As an example of these difficulties, it is worth noting the recent U.S. Food and Drug Administration warning about the use of anti-tumour necrosis factor treatment in children. This announcement was motivated by the increased incidence of tumours in children treated with tumour necrosis factor blockers and the enhancement of other immune diseases associated with cancer (e.g., lymphoma and leukaemia). Given the number and types of tumours observed and the small number of children treated with this therapy, this alarm is fully justified.

Dr. Prakken concluded by highlighting the role being played by the Eureka Institute for Translational Medicine, a prestigious institution that has set the goal of preparing the professional community to meet the dictates of translational medicine, with the aim of facilitating the evolution medical research from proof-of-concept to human therapy. |

Mapping genetic susceptibility and modeling pathogenesis in multiple sclerosis

Jorge R. Oksenberg

Head of Department of Neurology, University of California at San Francisco, USA

Until now, the most accepted model in the scientific community for studying and understanding multiple sclerosis (MS) outlines the following pathological scenario: a non-regulated immune response is initiated in the periphery by mechanisms that are not yet well known, leading to inflammation of the central nervous system (where a struggle takes place to defend against excessive immune response), finally giving rise to neurodegeneration (mainly characterised by destruction of myelin).

However, some scientists have more recently proposed a novel scenario that would explain the pathogenic development of MS, pointing out that, at least in some individuals, the disease exhibits a different pattern: MS starts out as a neurodegenerative process that destroys myelin, which causes an immune response that, in turn, creates an exaggerated inflammation of the central nervous system, exacerbating the neurodegeneration. A vicious circle with positive feedback is therefore established, with neurodegeneration being its main precipitating factor.

A vision of multiple sclerosis

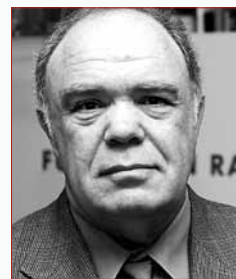
MS is a weakening and disabling disease that involves the appearance of demyelinating, neurodegenerative, and chronic lesions of the central nervous system. It is a chronic inflammatory disease with a strong genetic component; in fact, several lines of evidence suggest an important role for genetic factors (influencing both susceptibility to disease and clinical outcomes).

The incidence of MS has risen consistently during the 20th century. It is believed that there are presently approximately 250,000 to 350,000 people in United States diagnosed with MS, indicating that approximately 200 new cases are diagnosed in this country each week. The truth is that its prevalence is especially high in northern Europe and North America; in these areas, approximately 1 in every 1,000 people suffers from MS (it is the most common central nervous system inflammatory disease in central Europe). Climate, diet, geomagnetism, certain toxins, sunlight, genetic factors, and infectious diseases have been proposed as possible causes of these regional differences.

Early symptoms usually appear in people between 20 and 40 years of age, but rarely in those below 15

Biography outline

Dr. Oksenberg is the G.A. Zimmermann Endowed Chair in Neurology. He received his Ph.D. in Immunology from the Hebrew University of Jerusalem, Israel, and joined the UCSF faculty in 1993 following post-doctoral training at Stanford University. Since 1979 his research has focused in the areas of human immunogenetics and the control of the immune response. He authored numerous publication and scholarly reviews in the field. Dr. Oksenberg is a leading investigator in the International Multiple Sclerosis Genetics Consortium. Since 2005, Dr. Oksenberg serves as Associate Editor for the *Annals of Neurology*.



Jorge R. Oksenberg

“200 new cases are diagnosed every week”.

years or above 60 years of age. As is the case for many autoimmune diseases, it is 2 to 3 times more common in women than in men. Amongst children, who rarely develop the disease, the proportion can reach 3 girls for every boy; however, amongst people over 50 years of age, more men develop MS.

Discussing factors related to the probability of developing MS, Prof Oksenberg stressed that “studies that have shown some influence of latitude, as well as of inheritance, on the risk of developing MS.” Genetic load is especially important, in his opinion, because “a family history of disease is present in approximately 20% of the cases. MS is included within the so-called complex human genetic diseases.”

Generally, complex genetic diseases are characterized by a risk of modest heritability and multifaceted and multifactorial interactions between the environment and genes. In the case of MS, beyond the impact of the germline composition, the risk of MS appearance and progression is influenced by epigenetic mechanisms. Therefore, as explained by the Argentine expert, “Recently, the main objective that we have set in the biomedical research of MS is not only trying to explain its heritability but going further and trying to understand the underlying mechanisms of the disease and using this knowledge to develop preventive and therapeutic strategies.”

Disentangling genetic bases

Genetic factors may play a major role in determining the susceptibility of a person for developing MS. Some populations, such as the Gypsies, the Eskimos, and the Bantus, never contract MS. Native Indians of North America and South America, the Japanese, and other Asian peoples have very low rates of MS. However, it is

not yet clear if this is mainly due to genetic or environmental factors.

For any general population, the probability of acquiring MS is very low. However, if a first-degree relative (parents, children, or siblings) of a person has MS, then that person has a 1–3% chance of contracting the disease. In the case of identical twins, if a twin has MS, there is a 30% probability that the other twin will also develop MS. Fraternal twins (who do not inherit identical genes) have a higher probability of contracting the disease than siblings (4%). The fact that identical twins both contract MS at a rate significantly lower than 100% indicates that the disease is not completely controlled by genetic factors.

Additional indications that more than one gene comes into play in the susceptibility to MS come from studies of families in which more than one member suffers from MS. Several research teams have found that people with MS inherit certain regions of individual genes more often than people without MS. Of particular interest is the region surrounding the human leukocyte antigen (HLA), or the major histocompatibility complex, on chromosome 6. HLAs are genetically determined proteins that modulate the immune system.

The HLA patterns of MS patients tend to be different from those of disease-free individuals. Investigations performed in northern Europe and the U.S. have detected three HLAs that are more prevalent in people with MS than in the general population.

Studies of patients with MS in the U.S. have shown that people with MS also tend to present with a combination of these HLAs (i.e., they present more than one of the three HLAs) more frequently than the rest of the population. Moreover, there is evidence that different

“1 in 5 patients with multiple sclerosis will have a first-degree relative affected with this disease”.

combinations of HLAs may correspond to variations of both the severity and progression of the disease.

Studies of families with multiple cases of MS and research comparing human genetic regions to those of mice with experimental allergic encephalomyelitis (a murine model of MS) indicate that another area associated with susceptibility to MS may be located on chromosome 5. Other potentially involved regions have been identified on chromosomes 2, 3, 7, 11, 17, 19, and X.

These studies strengthened the hypothesis that MS is the result of a combination of a number of factors rather than a single gene or other agent. It is likely that the development of MS is influenced by the interactions of a number of genes, each of which (individually) has only a moderate effect.

‘Although the search for potential genes and genetic variants involved in the development of MS began more than 4 decades ago with the discovery of HLA as an important determinant of risk, it is only now, thanks to powerful technological resources and a better understanding of the pathogenesis, that we are making a definitive leap,’ argues Dr Oksenberg. Researchers in the Department of Neurology at the University of California are placing special emphasis on the study of the genetic basis of MS, using the genome-wide association study (GWAS) method, which “allows the capture of the most number of variations of the individual human genome in a single experiment.”

Explaining one of his investigations performed in this area, Dr Oksenberg described how thousands of markers were used to try to assess possible genetic variations between patients with MS and controls. Presently, approximately 10 GWAS have been published on MS, the first one in 2007, which was performed by the Wellcome Trust Case Control Consortium, and the last one in 2011, sponsored by the International Multiple Sclerosis Genetics Consortium (IMSGC). Except for the latter study (in which 9,772 cases and 17,376 controls were used), the majority of studies have incorporated

“In a few years, a single technician will be able to sequence the entire genome of a patient in real time”.

relatively small numbers of cases and controls. However, thanks to these studies, in the opinion of Dr Oksenberg, “it has been possible to create a true genetic map of MS.”

Until recently, the only MS susceptibility locus clearly confirmed in multiple linkage and association studies has been the HLA class II. However, it is unknown if susceptibility alleles in HLA genes or other alleles that are in linkage disequilibrium are responsible for the increased susceptibility in MS patients. For this reason, the work performed by the IMSGC has been particularly interesting. It clearly indicates the prospects of using certain genes to predict the risk of MS. In its collaborative GWAS, not only was previous evidence regarding susceptibility loci replicated but other new loci were also identified. This improved understanding of risk genes has enabled us to establish a model of genetic risk.

In Dr Oksenberg’s GWAS, 6 risk genes from genotype data of 591 patients with MS and 600 controls were used to investigate the predictive value of the combination of risk alleles. The MS risk loci (both the new and replicated ones) were then used to build genetic risk models by simulating a population of 100,000 people. Finally, the required number, the frequencies, and the odds ratios (ORs) of single-nucleotide polymorphisms (SNPs) were evaluated.

Their data showed that individuals with 10–12 risk alleles had a significantly higher probability of acquiring MS than the control individuals. The simulation study showed that the area under the curve (AUC) for a risk based on 6 SNPs was 0.64. This figure rose to 0.66 using the 24 SNPs that had been replicated previously and up to 0.69 when both the replicated SNPs and the newly found ones were included in the risk model. They estimated that to raise the AUC to 0.70, 20 additional SNPs

would be required. With at least 50 additional new variants, the AUC could be elevated to 0.84.

Thanks to these and other works, there is currently an ample list of candidate genes that have been associated, to a greater or lesser extent, with susceptibility to MS. Although none of the documented genetic variants by themselves are able to explain the appearance of the disease or the risk of developing it, when combined, they offer a much more useful and complete image. In addition, many of these genetic variants have a profound effect on the function of the genes they encode, and therefore, it becomes necessary to distinguish between statistical estimates of the risk and the biological effect on patients. In any case, as explained by Dr Oksenberg, the most important thing is “that many of these genetic variants are promising therapeutic targets.”

Summarising the main lessons learned from this comprehensive record of risk genes, he indicated that “it has allowed for the discovery that most of the identified genes are related to immunology.” For example, the relevant role played by many of these susceptibility genes in the differentiation of T helper cells has been established. This fact would confirm, from a genetic point of view, the autoimmunity pattern governing this disease. Another practical consequence that arises from this finding is that “We are realising that MS shares many features with other autoimmune diseases, and by that very fact, some of the drugs that are being used successfully in some of these disorders could be repurposed or extended to other disorders for which there are fewer or less effective therapeutic options.”

However, the immune response on its own does not provide the final and complete solution to the genetics of MS. There are no good genes or bad genes, but there are networks of genes that act in collaboration and that can trigger positive or negative events. In certain situations that can disrupt the functioning of these networks, changes arise in the way these genes work, with resultant problems. With this in mind, Baranzini et al.

developed a way to analyse genes (not just by examining their individual operations) when they are functionally connected to other, related genes. His research group has been able to build algorithms to study gene networks that are associated with the presence of MS, combining data extracted from the GWAS with protein–protein interaction networks to do so. In short, in addition to genes that reveal, in a limited way, the possible risk of developing MS, networks of related genes have been identified that, as a group, indicate the likelihood of suffering from this disorder.

The example of a multi-case family

All of this has led to the creation of the so-called MS genetic burden, a concept based on the idea of adding multiple genetic variants of risk. Approximately 1 in 5 patients with MS will have a first-degree relative affected with this disease. These individuals (known as multi-case families) seem to carry more susceptibility alleles than sporadic cases of MS (i.e., they have a greater genetic burden), which could explain why more than 1 case occurs in a family. A study performed by Gourraud et al. compared the aggregation of MS genetic risk markers in multi-case families and in families with a sporadic case, corroborating the hypothesis that there is a high aggregation of susceptibility variants in multi-case families (mothers of multiple MS sufferers have a greater genetic burden of risk than mothers of isolated cases). Furthermore, this analysis highlights the high variability of the family burden, with known and common genetic variants. For Dr Oksenberg, “The significance of this concept lies in the ability to cumulatively integrate genetic risk factors for acquiring MS.”

Other recent evidence obtained from the detailed analysis of the genetic burden in multi-case MS families has shown that MS-affected siblings carry a similar number of genes associated with the disease, while the siblings who do not have the disease have a much smaller genetic burden of risk for this disease.

On the basis of these observations, it is worth hypothesising about whether it is currently possible to predict, with some degree of success, which members of a family will develop MS. However, Dr Oksenberg categorically assured that “at the moment, we are not able to carry out this mission, especially because we are dealing with genetic variants that are very common among the general population.” Therefore, he proposed that “we can perhaps give a better response if, rather than dealing with frequent risk variants in the population, we focus on those infrequent and rare alleles associated with a greater risk of MS. Surely these unusual variants may have higher incorporation and better enable us to predict which members of a family will acquire the disease in the future.”

Looking into the past to advance

To advance our knowledge of the genetic basis of MS, it is necessary to refer to the past. Although it is difficult to set an exact date for when the first case of MS was documented, given the limitations of clinical-pathological analysis in neurology prior to the 20th century, the first clear description of the disease is usually listed as 1822. This identification is found in the diaries written by Augustus d’Este, illegitimate grandson of King George III of England. From this first documentation of MS, a persistent and abrupt growth in the prevalence rate of the disease was observed, with a particularly rapid increase in recent decades.

Given this trend, the first widely accepted logical explanation of the causes of MS focused on the presence of certain environmental triggers. However, Jorge Oksenberg proposed another explanation, based on the vertiginous mutation in the human genome. In just the past 2 centuries, in which there have been close to 10 generations, there has been an extraordinary increase in mutations in the human genome (in Europe, at least, it is assumed that in every , there is an increase of 8–10% in the number of mutations). In this manner, the

“Gypsies, Eskimos and Bantus never contract multiple sclerosis”.

contemporary population carries an overly large number of mutations in its genome. The publication of the results of the human genome project (HGP) in the year 2001, along with the sequencing of the human genome for the first time, not only changed the evolution of the basic and clinical research of diseases (even changing the ways we prevent, diagnose, treat, and follow these disorders) but also instigated a medical revolution that is changing the traditional concept of medicine.

The possibility of sequencing the human genome, in addition to the increasing rapidity and decreasing cost of sequencing, has also helped illuminate a new era in the genetic study of MS. The HGP, which consisted of sequencing approximately 10 genomes and assembling all of their sequences, was a massive 13-year effort, with 16 centres, 6 countries, nearly 3,000 researchers and technicians, and a total cost of 2 billion euros.

In 2007, the first complete sequence of a known person was published: J. Craig Venter, one of the fathers of the HGP. This was accomplished with more advanced techniques and sequencing platforms than those of the HGP; it took 4 years and involved 31 researchers, fewer participating countries and centres, and almost 30 times less money than the HGP. A year later, the complete sequence of another pioneer of the HGP, James Watson, was published. This was accomplished with a next-generation platform in 4.5 months with 27 researchers, 2 institutions, only 1 country, and a cost of 1 million euros.

Given this progression, experts estimate that in only a few years, it will be possible to sequence the entire genome of a patient in real time with a single technician and at a very affordable cost (approximately 800 euros). This opens up huge possibilities for genomic medicine and individualised medicine. Therefore, the bottleneck of

investigations in this area, in the words of Dr Oksenberg, “currently is not the technology nor its price, but bioinformatics: we need more and adequately trained staff, and powerful analysis equipment, in order to properly store and manipulate all the data we are generating.”

As a practical example, Dr Oksenberg showed the complete genomic sequences of some multi-case MS families whom they are analysing at their centre, “where there are more than 4.5 million genetic variants that should be analysed.”

Although little is known about the genotype–phenotype relationships in MS, the interactions of different gene variants amongst themselves, their interactions with the environment, or the molecular mechanisms that determine the susceptibility to this complex disease, new risk genes are discovered every day: *VCAM*, *PLEK*, *MERT*, *SP140*, *EOMES*, *CD86*, *IL12B*, *BACH2*, *THEMIS*, *MYB*, *IL22RA2*, *TAGAP*, *ZNF767*, *MYC*, *PVT1*, *CLECL1*, *ZFP36L1*, *BATF*, *GALC*, *MALT1*, *TNFSF14*, *MPV17L2*, *DKKL1*, *MAPK1*, *SCO2*, *NFKB2*, *CXCR5*, *SOX8*, *RPS6KB1*, *TNFRSF6*, *CYP27B1*, and *CYP24A1*. Since the association between MS and HLA (which continues to be the strongest disease predictor) was documented for the first time in 1972, many milestones marking the progress in identifying genetic susceptibility to MS have been attained: first- and second-generation studies of the complete genome, first-generation GWAS, meta-analyses of the GWAS data, sequencing of the whole genomes of twins with MS, second-generation GWAS (with more than 10,000 patients), and several more.

Thanks to all these advances, in less than half a century, there has been a definitive shift in the management of MS. The current situation is far from that described by Dr John B. Walton in *Harrison's Principles of Internal Medicine* in 1958, in which he stated that “the only thing that can be done in MS is to comfort and cheer up the patient through the practice of moderate exercise and aid measures [...]; during a strong episode

of illness, it is preferred to tell the patient that he will get better and remain quiet around him.”

The situation is radically different now. “Not only do we already have a complete, effective, and increasingly well-tolerated therapeutic arsenal to deal with MS, but there is a huge and promising portfolio of drugs (both injectable and oral) that are at different stages of research and clinical development (interferons, vaccines, specifically directed at the regulation of the immune system and lymphocyte traffic, anti-proliferation agents...),” said Dr Oksenberg, adding that “molecular medicine and biogenetics will make great strides in managing this disease, helping to select the best treatment for each patient.”

In the last decade, sequencing technologies have improved considerably. In addition, over the past 5 years, extraordinary progress has been made in imaging technologies (at both the organic and tissue levels), allowing for a non-invasive deconstruction of the phenotype (for example, it can now be determined how much glutamate is present in the brain and destroying neurons). Furthermore, advances in microscopy make the observation of individual cells possible, including the capacity to evaluate the behaviour of neurons when genes are activated or inactivated. These improvements are also made more feasible by obtaining models of cellular and molecular resolutions of the central nervous system. Similarly, progress is also determined and driven by improvements in the development of systems and approaches based on network research, facilitating the interpretation of biological data.

As a closing remark, Dr Oksenberg said, “The convergence of omic sciences with the next generation of electronic medical registry, imaging, and information-technology systems will allow this knowledge to be applied in patient care and decision-making capacities, in generating a genetic map that guides the discovery of new pharmaceuticals, and in implementing a true personalised medicine.”

Advances in the pathogenesis and management of systemic lupus erythematosus

Anne Davidson

Investigator at Feinstein Institute for Medical Research, Manhasset, USA

Systemic lupus erythematosus (SLE) is a chronic systemic disorder that can affect the skin, joints, kidneys, brain, and other organs. It is an autoimmune disease that includes long-term (chronic) inflammation. SLE can be mild or severe enough to cause death. The disease is much more common in women than in men and can occur at any age, but it appears most often in people between 10 and 50 years of age. Black and Asian people are affected more frequently than other races. It is clinically characterised by successive exacerbations and remissions: serologically, it is characterised by the presence of multiple autoantibodies (antinuclear antibodies in particular), and pathologically, it is characterised by inflammation of various organs with immune deposits.

Lupus is an autoimmune disease the causes of which are largely unknown, although it has a genetic and hereditary component and it probably also has an important environmental component. Describing an approach to understanding the pathogenesis of the disease, Dr Davidson summed up 3 types of factors in the genesis of the SLE: genetic risk, environmental exposure, and chance. The combination of these 3 factors leads to adaptive and innate immune responses that lead to the disease phenotype. These responses damage target organs that interact with the immune system. In addition, this process initiates an amplification mechanism that ends up perpetuating the pathology, even though the original cause no longer exists.

Systemic autoimmunity

SLE is often a family trait and has a genetic component. For identical twins, the probability that both will acquire the disease if one does is 30%; for siblings, this probability is only 2 or 3% (as for mothers and children). However, it is common that children of an SLE patient develop another type of autoimmune disease, such as thyroid disorders or diabetes, because some of the genes that cause lupus can also cause these conditions.

One emerging hypothesis about the origin of lupus is that it arises due to an excessive response of the body to cellular death. Millions of cells die every day, and the body must address this without activating its immune system.

Biography outline

Investigator at the Feinstein Institute, Dr. Davidson's interests are in the pathogenesis and novel treatments of systemic lupus erythematosus. She is responsible for organizing the seminar series in Experimental Rheumatology held monthly as part of Rheumatology Grand Rounds and for the Immunology lecture series at the Feinstein Institute for Medical Research.

She has extensive experience with education and training of Rheumatology fellows in her former capacity as Program Director at Albert Einstein College of Medicine and at Columbia University. Dr. Davidson is currently a member of the Medical and Scientific Committees of the NY Arthritis Foundation and the NY SLE Foundation.



Anne Davidson

“The innate immune system acts as the first line of defence against invading micro-organisms”.

In addition, a series of genetic defects have been identified that cause an overload of immune complexes or apoptotic particles, such as polymorphisms of the Fc receptor, an altered elimination of a nuclease (e.g., *Trex1* gene mutation), an inefficient clearance of immune complexes (due, for example, to the deficiency of the complement system), or excess cell death.

The immunopathology of SLE involves multiple mechanisms, particularly the loss of regulatory tolerance mechanisms, which lead to the activation of autoreactive B and T lymphocytes. Alterations of apoptosis and failure to discard apoptotic debris occur in the initial stages of SLE, and these deficiencies translate into the constant release of modified autoantigens that are exposed to an immune system with genetic susceptibilities to autoimmunity.

“SLE is associated with an anomalous clearing of debris that contains nucleic acids. The organism produces a huge amount of waste daily, which is a product of cellular death and must be removed safely to prevent the emergence of possible related disorders,” argued Dr Davidson. Under a genetic context that predisposes some people to acquire an autoimmune disease, the efficiency of the mechanism responsible for removing the garbage decreases, and therefore, the capacity for clearing apoptotic cells decreases. In these conditions, the amount of circulating degradation products increases throughout life.

When there is an excess of this detritus in the organism, it can overload the immune system, and as a result, an immune response against these components may occur. There are 2 types of immune responses in this situation: 1) the innate immune response, which is

an immediate response to any aggression on the immune system; and 2) the adaptive immune response, which is the result of the activation, proliferation, and expansion of B and T lymphocytes.

The innate immune system acts as the first line of defence against invading micro-organisms but also has important functions in the regulation of the adaptive immune response. In recent years, a key role in the aetiopathogenesis of SLE has been assigned to the innate immune system because most patients with SLE exhibit an increased expression of genes that regulate type I interferons (IFNs). In the innate immune system, type I IFNs, produced mainly by dendritic plasmacytoid cells (also called natural IFN-producing cells) in response to the binding of immune complexes that contain nucleic acids, promote and maintain an autoreactive immune response due to their immunomodulatory effects on the adaptive immune response.

DNA and viral RNA are the typical triggers of type I IFN production, which act on the target cell to induce protein production that inhibits viral replication. Several cell types produce small quantities of type I IFN, but dendritic plasmacytoid cells produce large quantities of IFN α in response to viral infections, some bacteria, and protozoa. Type I IFNs are synthesised through the activation of toll-like receptors (TLRs) in the plasma membrane (TLR3) and in endosomal membranes (TLR7 and TLR9) that recognise RNA and DNA. TLR4 (lipopolysaccharide membrane receptor) signalling also induces the expression of type I IFN through the recognition of certain viral proteins. However, there are TLR-independent intracellular pathways that mediate the production of type I IFNs in response to the entry of RNA into the cytosol.

“Stress and tobacco can accelerate and aggravate damage to the blood-brain barrier”.

In SLE, plasmacytoid dendritic cells are activated through the union of immune complexes (containing nucleic acids) to cell-surface FcγRIIa receptors, which are then internalised to reach the endosomes and to stimulate (via TLR) the activation of transcription factors, resulting in mass production of IFNα.

On the basis of their antiviral properties, type I IFNs have profound immunomodulatory effects in the adaptive immune system. In this way, type I IFNs act as a bridge between the innate immune response and the adaptive immune response and can be seen as ‘stress hormones’ in the immune system, pointing out danger and contributing to immune activation. However, this can also promote and maintain an autoreactive immune response.

Evidence from genetic studies

In addition to identifying a large number of candidate genes and susceptibility loci, the GWAS (capable of assessing the genetic variability throughout a whole genome without the support of a prior hypothesis) that have been performed on SLE have consistently confirmed the association of already known genetic factors with SLE, such as HLA, *IRF5*, *FCGR2A*, *PTPN22*, and *STAT4*. According to Dr Davidson, an interesting conclusion extracted from these analyses “is that to a greater or lesser extent, most of the genes associated with lupus intervene in the induction and the response to type I IFN.”

This is understood as a clear indication of innate immune system activation in lupus. More recently, it has also been found that TLRs are not the only receptors that play a decisive role in this system; signalling from other immune receptors removes nucleic acids from the cytoplasm. This can induce the appearance of inflammatory cytokines and can aggravate tissue damage.

The damage mechanism traditionally described for SLE is the formation of immune complexes, mainly

“Most of the genes associated with lupus intervene in the induction and the response to IFN₁”.

those formed by anti-DNA antibodies involved in skin and kidney damage. However, there are other mechanisms of cellular damage. Among the principle ideas mentioned on this topic, Dr Davidson emphasised that the dying cells end up leaving residues that serve as antigenic targets for autoreactive cells. Immune complexes formed by autoantibodies, auto-DNA and auto-RNA, can deposit themselves in target organs, activate the complement system and the innate response, activate autoreactive B cells, join FcγR in immune cells (with the consequent release of type I IFNs and cytokines), activate antigen-presenting cells, and activate infiltrating tissue macrophages and the inflammatory response. All of this leads to tissue injury.

In regards to the specific contribution of genetic studies to the understanding of lupus and its treatment, Dr Davidson was cautious, but hopeful. “These studies [GWAS] have been useful in identifying pathogenic pathways (such as TLRs, ITF, lymphocyte activation...), and they can lead us towards a more personalised medicine. However, GWAS have only revealed small contributions to the genetic risk, and therefore, other approaches are needed to identify rare alleles with a high-level risk of susceptibility,” she said.

Regarding the adaptive immune system, she clarified that B and T cells play a crucial role, especially because of the cells’ capacity to decide into which kind of cell to convert. B lymphocytes participate in the pathogenesis of lupus through the formation of autoantibodies and through the presentation of peptides from autoreactive T lymphocytes. A decrease in the function of Tregs, which are unable to suppress the presence of autoreactive T helper lymphocytes, has been described in SLE. Dr Davidson’s working group has undertaken

“None therapeutic alternative has provided a fully satisfactory solution”.

a fruitful line of research that aims not only to better understand the factors that drive T cell functions but also to suggest new therapeutic targets.

Recently, Tsokos et al. have shown that T cells in lupus patients react abnormally. In this sense, Dr Davidson stressed that “we must stick to the idea that there is a significant elevation of cellular calcium concentrations, giving rise to an IL-2 down-regulation and an IL-17 up-regulation.”

Local organ damage

In addition to the systemic inflammatory response, the impact of lupus at the local level is also far-reaching. Antibodies and many soluble inflammatory mediators are found in SLE that can cause damage to different organs and in different ways.

For example, autoantibodies alone can produce brain injury directly, without many additional inflammatory mediators. The existence of damage in the blood–brain barrier can allow the entry of antibodies, thus initiating major brain deterioration. Stress, tobacco, and other exogenous environmental triggers are some of the factors that are known to accelerate and aggravate damage to the blood–brain barrier.

However, the situation is different in other organs. In the case of the kidney, antibodies can enter this organ, but the existence of an inflammatory cascade mediated by the Fc receptor and complement is necessary to initiate the damage.

According to Dr Davidson, the different ways in which organs are affected by lupus are especially important in the development of clinical studies “because if we study the immunological mediators in patients with lupus who have cerebral disease and in

others who have kidney damage, the results will be very different.”

Endothelial dysfunction has been observed in patients with lupus, and some disorders of clinical interest have been identified: the reduction of circulating progenitor cells, the increase of circulating endothelial micro-particles, the presence of anti-endothelial antibodies, repair and differentiation defects in rats, and increased cardiovascular risk. In particular, it has been estimated that the risk of suffering a stroke or a coronary event at the age of 10 years is 5.5–17 times higher in these patients.

In patients with SLE with affected kidneys, the presence of injured tissue is clearly distinguishable due to inflammation, hypertension, stress, hypoxia, and fibrosis/remodelled tissue. However, there is significant heterogeneity in the manifestation of this type of injury.

Although the experimental animal models currently used to study SLE are far from being optimal, Dr Davidson presented the findings of her own research on a lupus mouse model. The gene expression profiles in three strains of mouse kidney revealed large differences: while one is dominated by the cytokine component, T cells, and macrophages, the second has a preponderance of hypoxia, stress, and apoptosis phenomena, and the third strain shows a mixed expression of inflammatory and immunological signs.

These animal models also serve as a pattern for studying nephritis caused by SLE in humans, which has allowed several features shared by mice and humans to be identified. In this way, it has been possible to visualise the presence of relevant processes, such as the activation of macrophages, the endothelium, and the innate immune system. Thanks to these results, Dr Davidson indicated, “we have recently changed the research approach that we followed in our laboratory, from analysing the B and T cells that reach the kidney to studying the dendritic cells that penetrate this organ.”

Treatment

Regarding the possibilities opened by these new research approaches for SLE treatment, Dr Davidson declared that “there has been progress in general Immunology, and we now understand better the different players involved in this pathology act. Therefore, it may be easier to focus the potential SLE therapies. There are new treatments in development or in testing, and the scientific community has high hopes that one of these therapies will work.”

The reality is that the underlying mechanisms of responses exhibited by the immune system and the adaptive system in lupus are now better known. However, “the success achieved so far in the treatment of SLE is very limited. Despite having tested new alternatives, none of them has provided a fully satisfactory solution,” she stressed.

Among the treatment options proven to positively interfere with the innate immune system response, DNase I has failed as an SLE treatment, and studies with anti-IFN α antibodies are ongoing. B cells, lupus toleragen from La Jolla Pharmaceuticals, and rituxan have failed. It was necessary to stop an ataccept trial due to toxicity. A modest success rate has been reached with belimumab. Follow-up studies are underway with an anti-CD22 antibody. Regarding co-stimulation, research with an anti-CD40L antibody has been stopped due to toxicity, and it is estimated that studies with abatacept will also not provide the expected results. Finally, the therapeutic options that have focused on cytokines have been disappointing; it was necessary to stop studies with an anti-IL6 antibody and anti-TNF antibody because of excessive toxicity.

Therefore, belimumab has been the only emerging drug that has managed to successfully reach the commercialisation stage. Recently, the FDA approved Benlysta[®] for the treatment of adult patients with SLE who have a high degree of disease activity from the clinical and immunological points of view and in which

the disease is not under control, despite currently undergoing therapy for it. Benlysta[®] is a treatment specifically prescribed to reduce SLE disease activity. Its mechanism of action is innovative. It is a monoclonal human antibody that specifically binds to the soluble form of human B lymphocyte stimulator (BLyS). BLyS is a B lymphocyte survival factor that is believed to play an important role in the production of antibodies that attack and destroy healthy organ tissue. Circulating BLyS is elevated in patients with SLE and other autoimmune diseases. The drug acts by blocking the binding of soluble BLyS to its receptors on B lymphocytes.

However, the promise of Benlysta[®] is the exception that proves the rule: the failure rate in the development of new drugs in lupus is unacceptable. According to Anne Davidson, “There are many pending challenges in the process of developing new therapies for SLE. If we think of this disease as a pathology of genetic susceptibility that depends on certain triggering factors, with stages of remission and outbreaks, and that in its final stages there are many immunological mechanisms involved, there is no doubt we must change the way we deal with it: we must adapt it to the specific characteristics of the disease in each of its stages.”

Her proposal matches the therapeutic objective of each stage of the disease with the specific goal that should be reached in each of these phases. Thus, in the initial phase (where only genetic susceptibility has been documented), the objective is prevention, and the targets will be naive B and T cells. When the clinical picture has finally emerged, the target will be remission, and interfering with the inflammatory mediators and activated cells will be necessary. In the progression stage, to prevent outbreaks and to restore tolerance, targeting the plasma and memory cells is required. In terminal phases of the disease with the target organ damaged, the objective will be support therapy that targets fibrosis. As a demonstration of this type of approach, directed and adapted specifically to the development phase of the di-

sease and to the dominant pathogenic mechanisms, Dr Davidson showed the excellent results obtained in the aforementioned mouse strains, concluding that the response to the induction of disease remission depended on the strain and the stage of progression.

In her final summary, Dr Davidson commented that “SLE is a multi-gene disease involving the loss of both the innate and adaptive immunologic pathway tolerance. There are many triggers that have been studied and that could be involved in the initiation and perpetuation of this disease. Without a doubt, continued exposure to excessive material containing nucleic acid amplifies the progression of the disease. Chronic inflammation can

establish abnormal activation pathways and maintain an inflammatory phenotype in long-lived effector cells.”

Regarding the future of research and treatment of SLE, Dr Davidson pointed out that “there are new therapeutic opportunities directed at local inflammation as well as systemic autoimmunity. In addition, improvements in the design of clinical tests, together with the integration of genetic information and biomarkers, are already being used in a large number of patients. These strategies, along with discovery based on appropriate animal models, should be transferred to clinical practice, anticipating a drop in mortality and morbidity in patients with SLE in the coming decades.” |

discussion

Moderator:

Juan Carlos López

Round table:

*Mark Peakman, Berent Prakken, Jorge R. Oksenberg and
Anne Davidson*

Discussion

Juan Carlos López: During your presentations you have discussed the issue of personalised medicine. In the field of oncological diseases, we have learned that cancer is not a single pathology but that there are many subtypes. Do you believe that this approach can be applied to the immune diseases that have been discussed? How might this approach affect future efforts to cure these diseases?

Jorge R. Oksenberg: Several questions arise regarding heterogeneity. Are we considering different diseases or various manifestations of the same disease? In the case of multiple sclerosis (MS), our main interest is to know which patients will have a poor or toxic response to a drug. Heterogeneity for us consists of finding individuals who are susceptible to having this poor response.

The second part of the question involves the other areas of personalised medicine that we discussed. There are many similarities among oncological diseases. Understanding the molecular basis of these similarities will allow us to develop a new taxonomy for these diseases



Dr. Prakken, Dr. Peakman and Dr. Davidson during the debate.

that is based on the mechanisms and not on the symptoms.

Berent Prakken: I am interested in these two points. I believe that we can learn much from the work of oncologists who have stratified patients according to risk and then treated them on this basis. In my presentation, I demonstrated that the method of treating patients based on their clinical symptoms is no longer valid; therefore, we must move to the final objective of this biological typification of patients, which is redefining the disease subtypes and combining the clinical data with the biological data. The methods that we currently employ to determine patient responses to

treatment are based on work that has been performed in the field of cancer. We are conducting large studies in Europe and are beginning to treat patients quickly based on their clinical risks. If we wait too long to strike a strong blow at a disease, we risk that the disease may become resistant to treatment. We recently initiated a large study to understand patient responses to an initial aggressive treatment. I think much can be gained from this study.

Anne Davidson: Lupus is a significant challenge to this field. We know that B cells can become good or bad, and for this reason, we must understand into which form the disease will evolve in each patient



Autoimmune diseases generated a great expectation.

because the interventions for each of these scenarios are completely different. There is no doubt that we have much to learn in this field, and I have great hope that part of this information will be useful in the therapies for our patients.

Mark Peakman: In the case of diabetes, I think that the nucleus of the disease is the same for all patients; therefore, I resist stating that therapies do not work due to heterogeneity. I believe that we have not conducted the appropriate studies or administered the appropriate therapies. I resist the concept that diseases are too heterogeneous.

Jorge R. Oksenberg: Regardless of heterogeneity, we face another aspect of these diseases that makes them complex, which is their dynamic nature. In contrast to Mark, I believe that heterogeneity explains many of the aforementioned issues.

Juan Carlos López: I will try to combine these two points of view. The problem with the term “heterogeneous” arises when we take it to

the extreme by stating that everyone is different; then, this term stops being useful. We can find cases in which the disease is heterogeneous. We understand the differences and can group the disease into subsets of four or twenty at best. However, we do know the characteristics of the patients who belong to each subgroup.

Anne Davidson: One of the experiments that we are performing in our laboratory is taking three different mouse models with lupus and comparing the data with human data. Using this method, we attempt to understand the pathways that are shared between all of these heterogeneous individuals to intervene therapeutically via pathways that are common to all of the patients rather than working on differential aspects.

Question: *In your presentation, you demonstrated that the functioning of the T cell receptor is different in patients and the*

normal population in part due to the hyperactivation of the SIC. Are there experiments underway to test whether SIC inhibitors can treat lupus?

Berent Prakken: SIC inhibitors have been tested in animal models for lupus, and they have had a positive effect. There are other mediators in this pathway, such as ROC inhibitors. SIC inhibitors have been used to treat rheumatoid arthritis. A study published last year demonstrated that SIC inhibitors were effective in treating patients with rheumatoid arthritis. However, we are concerned about the toxicity of SIC inhibitors because increases in toxicity have been observed with these inhibitors compared to other drugs that are used to treat rheumatoid arthritis, and SIC inhibitor use is ubiquitous. This toxicity is a matter of concern for patients with lupus because they are more susceptible to infectious toxicity.

Question: *Because vaccines are so effective in eliminating infectious diseases, has anybody considered using vaccines to stop the pathogens that cause these autoimmune diseases, such as vaccines that target normal pathogens to reduce the risk for autoimmune diseases for the entire population?*

Jorge R. Oksenberg: Although I personally do not believe in this hypothesis, many of my colleagues

think that the Epstein-Barr virus (EBV) is the trigger for MS. There are solid epidemiological data that associate this infection and infectious mononucleosis with MS. Once an effective vaccine against EBV is developed, the medical community will test it with MS, but there is not a vaccine yet.

Mark Peakman: Finland has the highest incidence of type 1 diabetes in the world. There is a small biotechnology company in Finland that is developing an enterovirus vaccine for diabetes. The researchers are determining which enterovirus to include in the vaccine because a new strain evolves approximately every week. Thus, developing a vaccine is a difficult task because the researchers must select a strain among five to ten distinct strains that they can put into the vaccines. However, this strategy appears to be promising.

Berent Prakken: There is controversy concerning whether vaccination in children could trigger or increase the development of autoimmunity. For the first time, there are well-documented studies that have analysed pre- and post-vaccination cases, which can help us to understand the possible consequences. We should not forget that the onset of juvenile arthritis usually coincides with the period of vaccination in children; however, we do not know whether this phenomenon is a cause because



Dr. Oksenberg answered several questions during the debate.

there are well-defined studies that suggest that there is no relationship between the appearance of the disease and vaccination.

Juan Carlos López: In the area of immunology, especially regarding allergies, the theory of hygiene has been emphasised and extended to indicate that we are too clean, and this cleanliness causes a lack of protection against certain infections and allergens. A problem with many vaccines and antibiotics is that they do not allow our immune systems to be sufficiently stimulated; therefore, we do not produce enough IFN- γ , and this lack of IFN- γ tends to predispose our immune systems to produce more immune responses. It has been suggested that one of the reasons why allergies have become so common is that our environment is too clean.

Question: Diseases, such as *myasthenia gravis* and Crohn's disease, have a well-defined relationship with stress. What is the connection between stress and LSE? In

general, do you think that the incidence of autoimmune diseases is connected to stress?

Anne Davidson: There are studies that have indicated that the autonomous nervous system (part of the neurovegetative system that responds to stress) controls immune responses. In a recent article, it was demonstrated that there are synapses between the nervous system and T lymphocytes in the spleen, including an original synapse that is mediated through nonadrenergic neurons and a secondary synapse that is mediated by acetylcholine. These synapses can result in the activation of T lymphocytes and an inflammatory response. Thus, many experiments are being performed to block the autonomic control of the nervous system.

The second component of stress involves the blood-brain barrier. A study was conducted at my institution that demonstrated that several neurotransmitters can affect the blood-brain barrier in various parts of the brain; one neurotransmitter



Ramón Areces Foundation held the fourth conference of this cycle.

affects fear responses, and another neurotransmitter affects the hippocampus. We have much to learn about how the blood-brain barrier responds to stress and controls the production of antibodies, cytokines, and immune mediators. I think that the relationship between the blood-brain barrier and stress is a new area of study for immunology that will undergo considerable evolution in the future.

Berent Prakken: I think that the relationship between autoimmune diseases and stress is an important issue. The autonomic nervous system is most activated during puberty, which is why children have problems getting up in the morning. At our institute, for many years we have been studying autonomic deregulation in children with inflammatory diseases. All of these patients, especially during puberty, have massive deregulation in this nervous system, which could be a reason why they

sleep poorly, are always cold, or in a bad mood. Everyone who lives with an adolescent knows what I am talking about, but these symptoms have been observed to be incremented during puberty.

Mark Peakman: Although stress is important in autoimmune diseases, it may not be the principal trigger of these diseases. I think stress is more of a facilitator of the process.

Jorge R. Oksenberg: During the Second World War, there was a lower incidence of diabetes. Several studies attempted to find a correlation between stressful situations and relapses of MS; however, a clear correlation was not evident in the data.

Question: *I would like to know the relationship between hormones, such as progesterone and estradiol, and lupus and autoimmunity.*

Anne Davidson: The incidence of lupus is nine times greater in women than in men; therefore, there has been

considerable research on the role of female hormones in lupus. In mice, oestrogens have been demonstrated to be important for the treatment of lupus via their interaction with type 1 oestrogen receptors; however, these findings have not been translated into a useful therapy in humans.

Hormone studies that have been conducted in humans with lupus have been disappointing due to a large response to the placebo. For this reason, many other studies have been conducted, and it has been determined that it is safe to administer birth-control pills to premenopausal women with lupus. These results do not suggest that hormones are not involved at the beginning of the disease; however, we have not been able to use this approach as a possible therapeutic alternative. Recently, there has been interest in investigating how the genetics and epigenetics of the X chromosome may contribute to the disease.

Question: I was not referring to a possible hormonal therapy, but why there is commonly a reduction in the activity of the disease in menopausal women.

Anne Davidson: In the later phase of a woman's life, there is a lower hormone load. The incidence of lupus is lower during this later phase but greater when there is a greater activation of hormones. Thus, the highest incidence of the disease occurs during the premenopausal stage after puberty. I do not administer hormones to women who have passed menopause because there is no clear evidence that this treatment is a safe option. There is clear epidemiological evidence of an association between the period when a woman is the most hormonally active and the period when she is susceptible to lupus; however, we have not been able to use these data for our clinical benefit.

Question: You have discussed the role of NK cells in autoimmunity, particularly the role of the activation of NK cells in lupus and juvenile arthritis. There were various reports from last year that demonstrated the overexpression of NK ligands with glomeruli in β -cells in the pancreas and brain. How can you reconcile the down-regulation of the activation of NK cells with the overexpression of ligands that activate NK cells?

Berent Prakken: There have been many reports on the activation of NK cells in different forms of lupus. A genetic defect was determined to cause a deficiency in perforin, which resulted in an NK cell deficiency. In this situation, patients with a congenital perforin defect died within the first two to three years of the disease and had a high fever and enlarged organs. Various genetic risk factors could cause these patients to have a higher risk of developing this NK cell dysfunction, but environmental factors should also be taken into account.

Anne Davidson: NK cells are understudied in lupus research.

Mark Peakman: In the case of diabetes, I think it would be interesting to follow this line of investigation. In addition, I believe that the therapeutic action of NK cells may be a good strategy to follow.

Question: What relationship is there between the functioning of a microbiome and the development of the immune system? Is there a concrete association between interleukin 10 (IL10) and a microbiome?

Jorge R. Oksenberg: We can change the progression of pathology in animals by intervening with the microbiome and manipulating the intestinal flora. The modification of the intestines in the human digestive system through diet has offered

evidence to support this finding. In addition, we now have the available technical resources for sequencing that can facilitate the detailed study of the microbiome, but there are still no definitive results.

Mark Peakman: I think that it is interesting to find a path of investigation in which we can study the intestines and their role in the induction of immunological tolerance. There are many identified products that could be useful in this type of investigation. In the next four to five years, we will see a lot of progress in this area.

Question: You have discussed the possibility of inducing T regulatory cells to create a medium for the regulation of the immune system and to prevent autoimmune disease; however, until this approach has been determined to be useful, what can we do in current clinical practice regarding immunosuppressive therapy? How can we know that a patient will benefit from immunosuppressive therapy?

Mark Peakman: I think that there is still no answer to this question. I suspect that several therapies that are currently being used are not specific and may be too immunologically aggressive. Therefore, we should develop therapeutic options that are better tolerated and more directed. Regarding the possibility of having the profiles of patients with a greater

or lesser probability of responding to these treatments, we must evaluate the natural regulatory aspect and not just the regulation by T cells.

Question: *How long do we have to wait until we can make a quantum leap in the genetic knowledge and treatment of these diseases?*

Jorge R. Oksenberg: We often make the mistake of regarding autoimmune diseases as Mendelian, and we cannot wait until there is a unique dramatic genetic change that will produce a new phenotype. Because pathologies are influenced by many factors and many genetic variants, we are still far from being able to develop successful gene therapy. However, I agree with the advantages that family studies offer, which allow for the segregation of variants from each generation, but we are dealing with multifactorial and polygenic diseases.

Juan Carlos López: *What are the key goals of your intervention?*

Anne Davidson: The key to improving the treatment and prognosis of patients with complex autoimmune diseases lies in the use of immunotherapies, which should be tested in animal models and replicated in large cohorts of patients. Our goals should be to prevent inflammation in the sick patient and intervene at earlier stages of the disease to prevent progression.

Mark Peakman: In the case of type 1 diabetes, our current challenge is to balance the risks and benefits. There are many aspects of this disease that are currently unknown. In addition, we face the problem of the costs of therapy. We need the collaboration of patients, health authorities, health policies, and the general population.

Berent Prakken: I think that we have progressed considerably in

knowing more about these diseases that, until recently, were incurable. These diseases are now treatable, and we can prevent them in several cases. There is no question that the next step is a definitive cure. To accomplish this task, we must cross the barriers between basic and clinical research. Additionally, we need adequate financing. The collaboration of all involved parties will be the basis for success.

Jorge R. Oksenberg: I would like to provide two final optimistic messages. There were many young people at the meeting, which means that this area of medicine is an emerging field for interest and study. I think that we have made a lot of progress, and the constant incorporation of new technologies and knowledge will provide a definitive push in the upcoming years in our approaches to autoimmune diseases. █