

Rol de la Apoptosis en la Fisiopatología del Lupus Eritematoso Sistémico

Carmen Luz Navarrete S.,¹ Carolina Ibáñez G.^a

¹Inmunóloga clínica, Hospital Roberto del Río

^aInterna de la Facultad de Medicina, Universidad de Chile

Resumen

El Lupus Eritematoso Sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune con afectación sistémica, presentando autoanticuerpos y complejos inmunes. En la actualidad existe creciente evidencia acerca del rol de la apoptosis en la fisiopatología del LES. Si la fagocitosis de las células apoptóticas es lenta, puede gatillar fenómenos de autoinmunidad; dicho retraso se ha relacionado con alteraciones de las señales celulares. Además, se ha postulado que la célula apoptótica puede generar procesos autoinmunes a través de la exposición de autoanticuerpos en la superficie de los cuerpos apoptóticos. La tolerogenicidad de la célula apoptótica depende entonces del ambiente, tipo de célula presentadora de antígenos y señales de peligro, pudiendo o no inducir tolerancia. En los modelos de LES se ha demostrado que existen defectos en la apoptosis y en el aclaramiento de las células apoptóticas. Es posible que en el futuro surjan nuevas líneas de investigación en relación a medir la actividad apoptótica, así como el aclaramiento de los cuerpos apoptóticos, con el fin de desarrollar terapias que regulen la apoptosis en los pacientes con LES.

Palabras clave: Apoptosis, Lupus Eritematoso Sistémico.

Summary

Systemic Lupus Erythematosus (SLE) is a systemic autoimmune disease presenting auto antibodies and immune complexes. There is growing evidence on the role of apoptosis in the physiopathology of SLE. If phagocytosis of apoptotic bodies is slow, due to alterations in surface cell signals, an autoimmune phenomenon may be triggered. Moreover, the apoptotic cell also has the capability of triggering autoimmune diseases by exposing auto antibodies on its surface. The tolerogenic role of the apoptotic cell therefore depends mainly on the environment, type of antigen presenting cell and danger signals, which may either induce or impede tolerance. Defects on apoptosis itself and on the clearance of apoptotic bodies have been demonstrated on SLE models. In the future, new methods of investigation may focus on measuring apoptotic activity and on apoptotic clearance of apoptotic bodies in order to develop therapies that regulate apoptosis in SLE patients.

Key words: Apoptosis, Systemic Lupus Erythematosus.

INTRODUCCIÓN

El Lupus Eritematoso Sistémico (LES) es una enfermedad heterogénea de carácter autoinmune, que afecta varios sistemas del organismo humano y que además se caracteriza por presentar elevados títulos de autoanticuerpos frente a diversos autoantígenos.

Los autoanticuerpos juegan un rol importante en la patogenia de la enfermedad, generando parte del daño tisular que se observa en los pacientes con LES, ya sea a

través de la formación de complejos inmunes o uniéndose directamente a antígenos de superficie.

El curso clínico del LES se caracteriza por aumentos de actividad o reactivaciones que tienen características similares a las de la activación inmunológica T dependiente.^(1, 2)

El diagnóstico de LES se basa en los criterios diagnósticos de la Sociedad Americana de Reumatología.⁽³⁾

Existe consenso acerca de que la célula apoptótica representa una fuente de material tolerogénico muy importante durante el proceso fisiológico de recambio celular y de que las anomalías durante la apoptosis, ya sea en la generación o aclaramiento del material apoptótico, pueden ser fuente importante de antígenos de enfermedades autoinmunes. El rol de la célula presentadora de antígenos o célula dendrítica y su interacción con la célula apoptótica parecen ser muy relevantes para lo último.⁽⁴⁾

Entre los factores fisiopatológicos involucrados en el LES hay características genéticas, ambientales, por ejemplo, agentes infecciosos, drogas y alimentos, así como también se ha observado la acumulación de cantidades anormalmente elevadas de células apoptóticas en los tejidos, lo que indicaría una alteración de los fagocitos para eliminar el material desvitalizado.⁽⁵⁻⁷⁾

Se ha visto, además, que las células apoptóticas que no son fagocitadas a tiempo pueden entrar en un estado de necrosis secundaria, desintegrándose y liberando su contenido citoplasmático.^(8, 9) De esta forma pierden su estado antiinflamatorio y ganan potencial inflamatorio. Dichas alteraciones llevan a la activación de células B y T autorreactivas y, por lo tanto, a la producción de autoanticuerpos característicos del LES, como son anticuerpos anti DNA de doble hebra y otros antinucleares.

CÉLULA APOPTÓTICA, SU INTERACCIÓN CON LOS ANTICUERPOS DEL LES

Muerte celular

Las células mueren por necrosis o apoptosis. Esto depende del gatillante inicial; las células que mueren normalmente son fagocitadas por macrófagos especializados o menos frecuentemente por células dendríticas (CD) inmaduras, o bien, por neutrófilos. Si las células apoptóticas no son eliminadas adecuadamente, llegan a un estado de necrosis secundaria, frente a lo cual pueden aparecer nuevas reacciones autoinmunes en relación a los componentes celulares recientemente lisados.^(7, 8) De esta manera la alteración en la eliminación de células apoptóticas puede jugar un rol importante en la etiopatogenia de las enfermedades autoinmunes, por ejemplo, el LES.

Muerte por necrosis

La muerte celular ocurre en células que no han alcanzado su tiempo de vida completo y que por medio de un estímulo externo son forzadas a interrumpir sus funciones vitales y alterar su integridad física, liberando al ambiente extracelular sus componentes intracelulares. En general esto es causado por un patógeno o por estrés oxidativo. Los fluidos intracelulares así como las proteínas y organelos que se liberan al exterior pueden gatillar repuestas inflamatorias, las que a su vez pueden dañar los tejidos.⁽¹⁰⁾

Muerte por apoptosis

Cuando una célula activa su programa de apoptosis, apagando sus redes internas y activando una serie de reacciones enzimáticas que llevan a la desorganización autolítica programada, las proteínas, las enzimas y el DNA son clivados internamente. Se mantiene la integridad de las membranas, previniendo que se liberen los componentes intracelulares que podrían dañar los tejidos en forma directa o inducir una respuesta inmune o inflamatoria.⁽⁶⁾ Además de lo anterior, las células apoptóticas sufren cambios tempranamente a nivel de sus membranas para asegurar que sean reconocidas de inmediato y fagocitadas antes que se inicien la necrosis secundaria y la lisis.⁽¹⁰⁾

Señales apoptóticas y señales de necrosis

Las células apoptóticas envían señales al medio extracelular. Hay señales que favorecen la fagocitosis. Los receptores de estas señales son redundantes y se encuentran ordenados en forma jerárquica. Algunos reconocen fases específicas de la apoptosis y otros son sistemas de reserva o seguridad. Además hay vías de reconocimiento que son específicas de apoptosis, necrosis, debris celular y otras no.^(11, 12)

La macropinocitosis de las células apoptóticas por parte de los macrófagos gatilla la producción de Factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), que tiene un rol supresor del proceso inflamatorio.⁽¹³⁾

Cuando los monocitos o las células dendríticas maduras encuentran células apoptóticas, son estimuladas via CD36 a producir interleuquina 10 (IL-10), también de carácter antiinflamatorio. Además de producir citoquinas antiinflamatorias, se suprime la producción de citoquinas inflamatorias, por ejemplo, Factor de necrosis tumoral α (TNF- α), IL-1, IL-12.⁽¹⁴⁾

En cuanto a la membrana celular, en condiciones normales los fosfolípidos se encuentran distribuidos en forma asimétrica entre ambas capas de la membrana; por la cara externa hay esfingomielina y fosfatidilcolina; en cambio, la cara interna tiene fosfatidilserina (FS) y fosfati-

diletanolamina. La mantención de esta asimetría depende del ATP. Cuando falta el ATP, como en la necrosis, éstos se intercambian de una cara a la otra de la membrana, lo que se denomina flip-flop. El flip-flop también es inducido por la apoptosis.⁽¹⁵⁾ FS es reconocida por los macrófagos, llevando a su rápida remoción a través de fagocitosis. Este proceso es reconocido por el receptor de FS, R-FS, de gran importancia en las fases tempranas de la apoptosis.^(16, 17)

Apoptosis y LES

Las células apoptóticas fueron inicialmente vinculadas con el LES, cuando se demostró que los autoantígenos del LES se concentraban dentro y en la superficie de las blebs de las células apoptóticas, implicando a la célula apoptótica como una fuente de antígenos. Dentro de los autoanticuerpos que se unen a las células apoptóticas se encuentran: anticromatina y antifosfolípidos.⁽¹⁸⁻²⁰⁾ Por otra parte, los antígenos en los cuerpos apoptóticos sufren modificaciones post traduccionales, que podrían resultar en la producción de antígenos de importancia.^(21, 22)

Al administrar células apoptóticas en abundancia, se ha observado que pueden producir cantidades moderadas de anticuerpos contra antígenos de fosfolípidos nucleares, así como hipergamaglobulinemia y depósitos glomerulares.⁽²³⁾

Por otra parte, si se administra debris necrótico o apoptótico a ratones normales, en la forma de células fagocíticas cargadas de antígenos, se observa que las células dendríticas maduran hacia células dendríticas mieloides, pero los macrófagos no montan una respuesta con autoanticuerpos, ni se observa enfermedad renal.⁽²⁴⁾

En otro estudio se encontró que los ratones MRL/+ desarrollaban anticuerpos anti DNA si se les enfrentaba a células dendríticas que hubieran fagocitado células necróticas, pero no así apoptóticas. Además esto aceleraba la enfermedad en los ratones MRL/lpr.⁽²⁵⁾

Hay evidencia, tanto *in vitro* como *in vivo*, acerca del rol tolerogénico de la fosfatidilserina en las células B en desarrollo en la médula ósea.⁽²⁶⁻³⁰⁾

En un modelo de lupus neonatal, ratas gestantes fueron inyectadas con anticuerpos humanos anti-Ro y anti-La. Posteriormente éstos fueron encontrados en hígado, corazón, huesos y piel de los fetos en desarrollo. Lo anterior apoya la hipótesis que los autoanticuerpos pueden reconocer sus antígenos en la superficie de células apoptóticas *in vivo*. Microscópicamente se demostró también que estos anticuerpos estaban unidos a núcleos fragmentados y cromatina en células y cuerpos apoptóticos. Es importante mencionar que el depósito de estos anticuerpos no gatilló una respuesta inflamatoria en los tejidos fetales, lo

que sugiere que el depósito de anticuerpos es sólo uno de los factores asociados con la iniciación y amplificación del daño.⁽³¹⁾

Efectos inmunológicos de las células apoptóticas

Existe bastante evidencia para afirmar que las células apoptóticas no son inmunológicamente neutras, sino que, dependiendo del microambiente en el que el proceso se lleve a cabo, del tipo de célula presentadora y además de la presencia o ausencia de señales de peligro, éstas son tolerogénicas, o bien, inmunogénicas.^(32, 33)

Tolerancia

En condiciones homeostáticas, las células apoptóticas son fagocitadas por células presentadoras de antígenos (CPA) y llevadas a los linfonodos locales.^(34, 35) El rol de las CPA en la tolerancia durante el proceso de apoptosis fue estudiado por Hugues S. y cols.⁽³⁶⁾ en un modelo de ratas diabéticas no obesas, en el que observaron que la tolerancia producía una apoptosis limitada.

En otro estudio se indujo tolerancia, introduciendo ovoalbúmina humana en células por shock osmótico, y luego siguieron la fagocitosis de las células apoptóticas y sus efectos inmunológicos *in vivo*. Cuando se transfirieron células T ovoalbúmina específica a ratones que habían recibido las células cargadas con ovoalbúmina, inicialmente proliferaban en forma activa, pero luego eran eliminados. Los animales fueron tolerantes a inmunizaciones seguidas con ovoalbúmina en adyuvante Freund.⁽³⁷⁾

Por otra parte, se ha demostrado que tras la ingestión de células apoptóticas, los macrófagos las fragmentan en pequeños pedazos. Además se ha observado que cuando los macrófagos fagocitan células apoptóticas, su metabolismo se altera, disminuyendo la producción de TNF- β y aumentando la de TGF- α .⁽³⁸⁾

Se ha reportado que la unión de los cuerpos apoptóticos a mannose binding lectin y C1q sería crucial para su fagocitosis por parte de las células dendríticas inmaduras, lo que lleva a la producción de IL-10, IL-6 y TNF- α , pero no IL-12, lo que resulta en una eliminación no inflamatoria de los restos apoptóticos.⁽³⁹⁾ También se ha planteado que puedan participar en la facilitación de la fagocitosis los anticuerpos antiendotelio.⁽⁴⁰⁾

Hay algunos patrones de reconocimiento moleculares que ayudarían a la diferenciación del material apoptótico del necrótico. Entre ellos encontramos los factores quimiotácticos de fagocitos y otros reguladores que se liberan desde las células en proceso de muerte; por ejemplo, HMGB1 es una proteína que diferencia las células apoptóticas de las necróticas. Se ha demostrado que HMGB1 se

libera desde las células en necrosis primaria y que además ésta se encuentra congelada en la cromatina de las células apoptóticas y que permanece inmóvil en condiciones de necrosis secundaria.⁽⁴¹⁾

Otra molécula es el adenosín trifosfato (ATP). Actúa como regulador de la respuesta inmune e inflamatoria. Activa purino receptores P2, que afectan las funciones de las células B, T, macrófagos y eosinófilos. Hay dos familias de receptores P2: P2X y P2Y. Los primeros son canales de membrana y los segundos son receptores acoplados a proteína G. Ambos se expresan en las células dendríticas. El ATP se libera durante la exocitosis regulada, la lisis traumática de células, o bien, escape pasivo desde células dañadas, cuando hay daño de la membrana celular o muerte celular muy rápida.⁽⁴²⁾

La estimulación crónica con ATP extracelular afecta la maduración y presentación antigénica de las CD, se bloquea la producción de lipopolisacáridos (LPS) y la producción de IL-1, IL-1, TNF-, IL-6 e IL-12, dependiente de CD40L (ligando de CD40). Sin embargo, no se afecta la producción del antagonista del receptor de IL-1 (IL-1ra) ni de IL-10. Además se aumenta la expresión de CD83, CD86 y CD54, pero no la de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC).⁽⁴²⁾ Por lo anterior habría una habilidad alterada para iniciar una respuesta de tipo TH1.^(43, 44) Por esto se podría favorecer la respuesta tipo TH2. Previendo la liberación de citoquinas proinflamatorias y la persistencia de IL-10 podría favorecer la aparición de células T reguladoras.⁽⁴⁵⁾

El ácido úrico actúa como una señal de estrés intracelular.^(46, 47) Se ha demostrado la presencia de cristales de ácido úrico en el citoplasma de células dendríticas activadas. Éste es un subproducto normal de la degradación del ácido nucleico, y sus cristales aparecen en relación al exceso, como en los procesos de daño celular, necrosis o cuando las células apoptóticas no son fagocitadas inmediatamente. Ya que éste se libera con frecuencia, es importante que las células del sistema inmunológico no lo reconozcan como señal de peligro.⁽¹⁰⁾

La Fosfolipasa secretora A2 IIa (sPLA2 IIA) se une a FS, que sólo se encuentra en las membranas celulares externas si ha ocurrido flip-flop, generando lisofosfolípidos, que quedan en la membrana externa.⁽⁴⁸⁾ De esta forma se generan sitios de unión para pentraxinas como la proteína C reactiva (PCR), lo que su vez induce la activación de complemento por la vía clásica, atrayendo neutrófilos que opsonizan con fragmentos del complemento, aumentando la fagocitosis de estas células. PCR también actúa como opsonina interactuando con el receptor Fc. Dados los pasos descritos, se cree que PCR participa en la opsonización de células apoptóticas tardías.⁽¹⁰⁾

PCR se une también a las membranas y a los núcleos de células necróticas, así como a histonas y ribonucleoproteínas pequeñas. Existen porciones de éstas que unen PCR en forma calciodependiente. Esta unión a moléculas nucleares ocurre en procesos inflamatorios, pero no en células apoptóticas.⁽¹⁰⁾

La pentraxina de cadena larga PTX3 se une a células apoptóticas e inhibe su fagocitosis por parte de las células dendríticas. PTX3 es liberada por las células endoteliales y fagocitos mononucleares durante los procesos inflamatorios, promoviendo la maduración de CD.⁽⁴⁹⁾ Se une principalmente a las células necróticas; en presencia de PTX3, las CD fallan en internalizar las células que están muriendo. Aparentemente PTX3 secuestra los remanentes celulares en las células presentadoras de antígenos (CPA), previniendo de posibles reacciones autoinmunes del tejido inflamado.⁽⁴⁹⁾

Immunogenicidad

En otros modelos se ha demostrado cómo las células apoptóticas pueden generar autorreactividad. Experimentalmente, utilizando el sistema autólogo, Chernysheva *et al.* demostraron que las células T autorreactivas pueden reconocer autoantígenos modificados a través de la acción de las caspasas y presentadas por CD. La inducción *in vivo* de una reacción mixta de linfocitos, inducida por autoantígenos provenientes de células apoptóticas, modificados por acción de caspasas, puede representar un mecanismo para mantener la tolerancia inmunológica periférica.⁽⁵⁰⁾ Por otra parte, cuando las T eran inicialmente enfrentadas con nucleohistonas purificadas se observaba un aumento en la proliferación secundaria frente a células apoptóticas. Lo anterior sugiere que los nucleosomas liberados por las células apoptóticas podrían ser uno de los antígenos responsables de la autorreactividad de las células T.⁽⁵¹⁾ Por otra parte, se han detectado cambios estructurales en los autoantígenos durante la apoptosis que podrían ser relevantes a la hora de iniciar una respuesta inmune frente a las células apoptóticas.⁽⁵²⁾

Aun cuando en términos generales la interacción entre las células apoptóticas y las CPA pareciera resultar la mayoría de las veces en tolerancia, existe cierta evidencia que sugiere que los interferones tipo I actuarían como señales que cambian el curso de la interacción hacia la inmunización. Por ejemplo, se ha demostrado que el interferón del suero de pacientes con LES puede inducir la maduración de las células dendríticas y la proliferación de linfocitos T CD4+ en respuesta a las células apoptóticas de la RMLA.⁽⁵³⁾ A través de microarray se ha demostrado que las células mononucleares de sangre periférica de niños

con LES sobreexpresan los genes regulados por interferón α .⁽⁵⁴⁾ Por otra parte, los complejos inmunes de anti-DNA-DNA pueden activar receptores toll y receptores de antígenos en forma simultánea, lo que podría amplificar la respuesta inmune.⁽⁵⁵⁾

Existen teorías acerca de que existirían circunstancias en las cuales el debris en LES podría ser exageradamente inmunogénico. Estudios realizados en ratones deficientes en DNAsa I muestran que padecen una enfermedad lupus símil. Ésta fisiopatológicamente se caracteriza por digestión incompleta de DNA contenido dentro de los cuerpos apoptóticos y su consiguiente inmunogenicidad,⁽⁵⁶⁾ planteando que existirían otros mecanismos involucrados en la degradación de los cuerpos apoptóticos que serían importantes para su inmunogenicidad. Algunos estudios en ratones muestran que alteraciones en la DNAsa II de los macrófagos provocarían hiperactividad después de ingerir el DNA apoptótico, con secreción de citoquinas proinflamatorias. Aparentemente la activación depende de receptores tipo toll, representando un mecanismo en el que el DNA derivado de células apoptóticas degradado en forma incompleta gatillaría inflamación y autoinmunidad.⁽⁵⁷⁾

Por otra parte, se ha demostrado que no todas las células apoptóticas serían igualmente inmunogénicas; se ha reportado que los macrófagos estimulados a entrar en apoptosis por la inyección de lisosomas de clodronato empeoraban la autoinmunidad en ratones NZB x SWR F1.⁽⁵⁸⁾

La opsonización de células apoptóticas por parte de anticuerpos antinucleares preformados, como los que existen en el LES, promueve la ingestión de cuerpos apoptóticos a través de receptores Fc y del complemento y estimularía mayor autoinmunización. Este mecanismo podría perpetuar la respuesta de autoanticuerpos, estimulando a las CPA a producir citoquinas proinflamatorias.⁽⁵⁹⁾

También se ha estudiado el rol de la expresión de lípidos de membrana oxidados que podrían actuar como autoantígenos en las membranas de los cuerpos apoptóticos. Éstos lípidos podrían contener epítopes antigénicos, y se ha postulado que los anticuerpos naturales frente a éstos podrían tener un rol protector frente a la aterosclerosis.⁽⁶⁰⁾ Se ha documentado la producción de IgG frente a estos antígenos.⁽⁶¹⁾ Además, éstos pueden tener un rol adicional, ya que se ha observado que inducen la adhesión de los monocitos a las células endoteliales.⁽⁶²⁾

Defectos de la apoptosis en LES

El sistema inmunológico utiliza la apoptosis para eliminar los clones autorreactivos de células B y T, por lo que los defectos de este sistema contribuirían a la persistencia de estos clones y podrían provocar enfermedades autoinmunes.

En ratones MRL/lpr que tienen niveles muy bajos de FAS se ve aumento de tejido linfoide con acúmulo de linfocitos T CD4+ y CD8+, asociado a aparición de autoanticuerpos similares a los del LES dirigidos contra DNA, cromatina y crioglobulinas. La ausencia de FAS aceleraría la enfermedad autoinmune, interfiriendo con la selección negativa periférica de clones LT y LB.

Asimismo, en ratones carentes de bim, una molécula que inhibe bcl-2, y por lo tanto la apoptosis, presentan enfermedad autoinmune.⁽⁶³⁾

El gen Scl-3, que tiene un rol en el control de la apoptosis, acelera el LES,⁽⁶⁴⁾ y además activa las células dendríticas, con aumento de la secreción de citoquinas proinflamatorias.⁽⁶⁵⁾

El ratón NZB, que desarrolla hiperactividad de células B, autoinmunidad hematológica y neoplasia linfoide, tiene una susceptibilidad a la apoptosis defectuosa de las células B. Esto se ha localizado en las células TB 1, que con inducción con IgM resisten a la apoptosis. Se cree que esto se debe a un aumento de niveles de bcl-2.⁽⁶⁶⁾

Otros ratones, los C57BL/6, que tienen el intervalo genético Nba2, derivado de NZB, presentan niveles elevados de p202, una proteína que está codificada en el gen inducible por interferón Ifi 202. Éstos manifiestan una disminución de la apoptosis inducida por luz ultravioleta a través de la inhibición del gen p53.⁽⁶⁷⁾

A pesar de que potencialmente existen múltiples posibilidades de alteraciones de la apoptosis que podrían causar LES en modelos animales, en los pacientes con LES en general la apoptosis se encuentra normal o incluso aumentada.⁽⁶⁸⁾

En LES se han encontrado neutrófilos que tienen una respuesta aumentada de apoptosis frente a TNF- α .⁽⁶⁹⁾ Por otra parte, las células T mostraron una capacidad disminuida para iniciar la apoptosis inducida. Tienen potenciales transmembrana disminuidos en las mitocondrias, que llevan a depleción de ATP, muerte celular y acumulación de tejido necrótico.⁽⁷⁰⁾

Defectos del aclaramiento de células apoptóticas en LES

En las personas comunes, así como en los pacientes con LES, la renovación constante de las células representa un desafío para el sistema monocito-macrófago, que debe eliminar las células apoptóticas sin provocar inflamación. Los macrófagos cuentan con receptores para reconocer células apoptóticas.⁽⁵⁷⁾ Las células dendríticas también unen e ingieren células apoptóticas. La mayoría de los receptores de los macrófagos unen fosfatidilserina (FS), que es expuesta en fases tempranas de la apoptosis, a

través de flipasas que las invierten en las membranas para que queden expuestas.

En pacientes con LES se observa una cantidad aumentada de células apoptóticas. *In vitro*, la capacidad de sus macrófagos para fagocitar y aclarar las células apoptóticas está disminuida.⁽⁷¹⁾ Existe una alteración del sistema fagocítico mononuclear.⁽⁷²⁾ Tanto la adhesión como la fagocitosis de los cuerpos apoptóticos están alteradas en los macrófagos de los pacientes con LES.⁽⁷³⁾

En los linfonodos de los pacientes con LES se ha observado debris apoptótico no fagocitado en presencia de macrófagos.⁽⁷⁴⁾

En un estudio de pacientes con LES fotosensible se encontró acumulación de células apoptóticas en la dermis posterior a la exposición a luz ultravioleta.⁽⁷⁵⁾ Sin embargo, también se han reportado estudios en que al inducir eritema mínimo, con la exposición a luz ultravioleta no se observó aumento de células apoptóticas en la dermis.⁽⁷⁶⁾

Las primeras observaciones acerca del rol del aclaramiento deficiente de células apoptóticas se realizaron en ratones con la mutación C1q-null. Éstos desarrollaban un síndrome autoinmune lupus-símil, con aclaramiento defectuoso de las células apoptóticas.^(77, 78) *In vivo*, C1q se une a las células apoptóticas tardías, y el suero humano depletado de C1q no permite que los cuerpos apoptóticos sean procesados por los macrófagos en forma eficiente.^(79, 80) La interacción de C1q con los cuerpos apoptóticos lleva a la unión de pentaxina 3 y activación del complemento.⁽⁸¹⁾ En pacientes con déficit homocigótico de C1q se desarrolla LES en un 86%.⁽⁸²⁾

También en ratones se ha observado la importancia de las deficiencias en otros componentes del complemento. Los ratones deficientes para CR2 (CD21, receptor para C3dg) no desarrollan lupus, pero cuando este defecto se asocia a la predisposición para lupus (B6/lpr), se acelera en forma importante la autoinmunidad.⁽⁸³⁾

Los ratones deficientes en IgM desarrollan un síndrome lupus-símil. Por otra parte, las IgM se unen a los cuerpos apoptóticos tardíos, reclutando C1q, lo que activa al complemento y estimula el depósito de C3b en la superficie de las células apoptóticas. Lo anterior aparentemente contribuye al aclaramiento no inflamatorio de las células apoptóticas.⁽⁸⁴⁻⁸⁶⁾

Por otra parte, se han vinculado los autoanticuerpos contra C1q, 2 glicoproteína I, anexina V, CRP y SAP, que encontramos comúnmente en el LES, y que podrían tener relación con exacerbaciones de la enfermedad, con mecanismos de bloqueo del aclaramiento del debris.⁽⁸⁷⁾

Existe evidencia que sugiere que la caspasa 3 tendría un rol en la generación de alteraciones de las membra-

nas de las células apoptóticas al clivar la fosfolipasa A2, aumentando su actividad durante la apoptosis.⁽⁸⁸⁾

También hay trabajos que sugieren que la unión del complemento a la superficie de las células apoptóticas podría tener un rol en definir las consecuencias inmunológicas de esas células al ser reconocidas por las CPA. En condiciones homeostáticas, cuando una CPA encuentra a un cuerpo apoptótico cubierto por complemento, se produce una inhibición de los marcadores de maduración, salvo por la expresión de CCR7, que le permite migrar al linfonodo.⁽⁸⁹⁾ Pero en presencia de señales de peligro, células proinflamatorias, tejido necrótico, gran cantidad de citoquinas, o incluso la ausencia de citoquinas antiinflamatorias, la ingestión de las células apoptóticas puede iniciar una respuesta inmune.^(90, 91)

Otras investigaciones acerca de los mecanismos deficientes en la aclaración de células apoptóticas han encontrado que existe un grupo de ratones deficientes en el receptor de tirosina quinasa c-mer que desarrollan una enfermedad autoinmune lupus-símil. Tiene un defecto para aclarar las células apoptóticas, pero sus mecanismos de fagocitosis están intactos. Si éstas son opsonizadas con complemento, son aclaradas. Se cree que un polisacárido expresado en la superficie externa de las células apoptóticas se une a una proteína 6, que arresta el crecimiento, y que sería un ligando del receptor c-mer en los macrófagos.⁽⁹²⁻⁹⁴⁾

CONCLUSIONES

Existe evidencia que apoya la teoría de que la apoptosis podría tener un rol como mecanismo de daño en el LES. Los linfocitos citotóxicos y las células NK ejercen sus efectos a través de la inducción de muerte por Fas/FasL o por sistemas de perforinas. Los infiltrados celulares en el LES, como se ha observado en las lesiones discoideas, contienen abundantes linfocitos T CD8+, los que podrían provocar daño a través de inducción de apoptosis. Se puede argumentar que el incremento basal de la apoptosis en el LES podría reflejar el daño tisular mediado por células. Asimismo, existen anomalías en el aclaramiento de células apoptóticas en estos pacientes.

Es posible que en el futuro surjan nuevas líneas de investigación que se desarrollen en relación a medir la actividad apoptótica de los pacientes, así como también la capacidad de aclarar los cuerpos apoptóticos. También podrían desarrollarse nuevos medicamentos para regular y mejorar los sistemas apoptóticos de los pacientes con LES.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Radic MZ, Weigert M. Genetic and structural evidence for antigen selection of anti-DNA antibodies. *Annu Rev Immunol* 1994; 12:487-520.
2. Diamond B, Katz JB, Paul E, et al. The role of somatic mutation in the pathogenic anti-DNA response. *Annu Rev Immunol* 1992; 10:731-757.
3. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982; 25:1271-7.
4. White S, BS. Rosen A, MD. Apoptosis in systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol* 2003; 15: 557-562.
5. Herrmann M, Voll RE, Zoller OM, Hagenhofer M, Ponner BB, Kalden JR. Impaired phagocytosis of apoptotic cell material by monocyte-derived macrophages from patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1998; 41:1241-50.
6. Herrmann M, Voll RE, Kalden JR. Etiopathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Immunol Today* 2000; 21:424-6.
7. Baumann I, Kolowos W, Voll RE, Manger B, Gaipf U, Neuhuber WL, et al. Impaired uptake of apoptotic cells into tingible body macrophages in germinal centers of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2002; 46:191-201.
8. Savill J, Haslett C. Granulocyte clearance by apoptosis in the resolution of inflammation. *Semin Cell Biol* 1995; 6:385-93.
9. Ren Y, Stuart L, Lindberg FP, Rosenkranz AR, Chen Y, Mayadas TN, et al. Nonphagocytic clearance of late apoptotic neutrophils by macrophages: efficient phagocytosis independent of beta(2) integrins. *J Immunol* 2001; 166:4743-50.
10. Sheriff A, Gaipf U, Voll R, Kalden J, Herrmann M. Apoptosis and systemic lupus erythematosus. *Rheum Dis Clin N Am* 2004; 30:505-527.
11. Savill J. Recognition and phagocytosis of cells undergoing apoptosis. *Br Med Bull* 1997; 53:491-508.
12. Hirt UA, Leist M. Rapid, noninflammatory and PS-dependent phagocytic clearance of necrotic cells. *Cell Death Differ* 2003; 10:1156-64.
13. Huynh ML, Fadok VA, Henson PM. Phosphatidylserine-dependent ingestion of apoptotic cells promotes TGF-beta1 secretion and the resolution of inflammation. *J Clin Invest* 2002; 109:41-50.
14. Voll RE, Herrmann M, Roth EA, Stach C, Kalden JR, Girkontaite I. Immunosuppressive effects of apoptotic cells. *Nature* 1997; 390:350-1.
15. Bratton DL, Fadok VA, Richter DA, Kailey JM, Frasch SC, Nakamura T, et al. Polyamine regulation of plasma membrane phospholipid flip-flop during apoptosis. *J Biol Chem* 1999; 274:28113-20.
16. Fadok VA, Bratton DL, Rose DM, Pearson A, Ezekewitz RA, Henson PM. A receptor for phosphatidylserine-specific clearance of apoptotic cells. *Nature* 2000; 405:85-90.
17. Hoffmann PR, deCathelineau AM, Ogden CA, Leverrier Y, Bratton DL, Daleke DL, et al. Phosphatidylserine (PS) induces PS receptor-mediated macropinocytosis and promotes clearance of apoptotic cells. *J Cell Biol* 2001; 155:649-59.
18. Casciola-Rosen LA, Anhalt G, Rosen A. Autoantigens targeted in systemic lupus erythematosus are clustered in two populations of surface structures on apoptotic keratinocytes. *J Exp Med* 1994; 179:1317-1330.
19. Miranda-Carus ME, Askanase AD, Clancy RM, et al. Anti-SSA/Ro and anti-SSB/La autoantibodies bind the surface of apoptotic fetal cardiocytes and promote secretion of TNF-alpha by macrophages. *J Immunol* 2000; 165:5345-5351.
20. McArthur C, Wang Y, Veno P, et al. Intracellular trafficking and surface expression of SS-A (Ro), SS-B (La), poly(ADP-ribose) polymerase and alpha-fodrin autoantigens during apoptosis in human salivary gland cells induced by tumour necrosis factor-alpha. *Arch Oral Biol* 2002; 47:443-448.
21. Hof D, Raats JM, Pruijn GJ. Apoptotic modifications affect the autoreactivity of the U1 snRNP autoantigen. *Autoimmun Rev* 2005; 4:380-388.
22. Andrade F, Casciola-Rosen LA, Rosen A. Generation of novel covalent RNA-protein complexes in cells by ultraviolet B irradiation: implications for autoimmunity. *Arthritis Rheum* 2005; 52:1160-1170.
23. Mevorach D. The immune response to apoptotic cells. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 887:191-198.
24. Georgiev M, Agle LM, Chu JL, Elkon KB, Ashany D. Mature dendritic cells readily break tolerance in normal mice but do not lead to disease expression. *Arthritis Rheum* 2005; 52:225-238.
25. Ma L, Chan KW, Trendell-Smith NJ, Wu A, Tian L, Lam AC, Chan AK, Lo CK, Chik S, Ko KH, To CK, Kam SK, Li XS, Yang CH, Leung SY, Ng MH, Stott DJ, MacPherson GG, Huang FP. Systemic autoimmune disease induced by dendritic cells that have captured necrotic but not apoptotic cells in susceptible mouse strains. *Eur J Immunol* 2005; 35:3364-3375.
26. Li H, Jiang YF, Cao H, et al. Regulation of anti-phosphatidylserine antibodies. *Immunity* 2003; 18:185-192. This is the first demonstration of in vivo regulation of anti-PS B cells in the bone marrow.
27. Chen C, Nagy Z, Radic MZ, et al. The site and stage of anti-DNA B-cell deletion. *Nature* 1995; 373:252-255.
28. Erikson J, Radic MZ, Camper SA, et al. Expression of anti-DNA immunoglobulin transgenes in non-autoimmune mice. *Nature* 1991; 349:331-334.
29. Retter MW, Nemazee D. Receptor editing occurs frequently during normal B cell development. *J Exp Med* 1998; 188:1231-1238.
30. Cocca BA, Seal SN, D'Agnillo P, et al. Structural basis for autoantibody recognition of phosphatidylserine-beta 2 glycoprotein I and apoptotic cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98:13826-13831.
31. Tran HB, Macardle PJ, Hiscock J, et al. Anti-La/SSB antibodies transported across the placenta bind apoptotic cells in fetal organs targeted in neonatal lupus. *Arthritis Rheum*, 2002; 46:1572-1579.
32. Steinman RM, Nussenzweig MC. Avoiding horror autotoxicus: the importance of dendritic cells in peripheral T cell tolerance. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99:351-358.
33. Savill J, Dransfield I, Gregory C, et al. A blast from the past: clearance of apoptotic cells regulates immune responses. *Nat Rev Immunol* 2002; 2:965-975.
34. Pugh CW, Macpherson GG, Steer HW. Characterization of non-lymphoid cells derived from rat peripheral lymph. *J Exp Med* 1983; 157:1758-1779.
35. Huang FP, Platt N, Wykes M, et al. A discrete subpopulation of dendritic cells transports apoptotic intestinal epithelial cells to T cell areas of mesenteric lymph nodes. *J Exp Med* 2000; 191:435-444.
36. Hugues S, Mougneau E, Ferlin W, et al. Tolerance to ant islet antigens and prevention from diabetes induced by limited apoptosis of pancreatic beta cells. *Immunity* 2002; 16:169-181.
37. Liu K, Iyoda T, Saternus M, et al. Immune tolerance after delivery of dying cells to dendritic cells in situ. *J Exp Med*, 2002; 196:1091-1097.
38. Fadok VA, Bratton DL, Henson PM. Phagocyte receptors for apoptotic cells: recognition, uptake, and consequences. *J Clin Invest* 2001; 108:957-962.
39. Nauta AJ, Castellano G, Xu W, Woltman AM, Borrias MC, Daha MR, van Kooten C, Roos A. Opsonization with C1q and mannose-binding lectin targets apoptotic cells to dendritic cells. *J Immunol* 2004; 173:3044-3050.
40. Williams JM, Colman R, Brookes CJ, Savage CO, Harper L. Anti-endothelial cell antibodies from lupus patients bind to apoptotic endothelial cells promoting macrophage phagocytosis but do not induce apoptosis. *Rheumatology (Oxford)* 2005; 44:879-884.
41. Scaffidi P, Misteli T, Bianchi ME. Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation. *Nature* 2002; 418:191-5.
42. Di Virgilio F, Borea PA, Illes P. P2 receptors meet the immune system. *Trends Pharmacol Sci* 2001; 22:5-7.
43. La Sala A, Ferrari D, Corinti S, Cavani A, Di Virgilio F, Girolomoni G. Extracellular ATP induces a distorted maturation of dendritic cells and inhibits their capacity to initiate Th1 responses. *J Immunol* 2001; 166:1611-7.
44. La Sala A, Sebastiani S, Ferrari D, Di Virgilio F, Idzko M, Norgauer J, et al. Dendritic cells exposed to extracellular adenosine triphosphate acquire the migratory properties of mature cells and show a reduced capacity to attract type 1 T lymphocytes. *Blood* 2002; 99:1715-22.
45. Matyszak MK, Citterio S, Rescigno M, Ricciardi-Castagnoli P. Differential

- effects of corticosteroids during different stages of dendritic cell maturation. *Eur J Immunol* 2000; 30:1233-42.
46. Heath WR, Carbone FR. Immunology: dangerous liaisons. *Nature* 2003; 425:460-1.
 47. Shi Y, Evans JE, Rock KL. Molecular identification of a danger signal that alerts the immune system to dying cells. *Nature* 2003; 425:516-21.
 48. Hack CE, Wolbink GJ, Schalkwijk C, Speijer H, Hermens WT, van den Bosch H. A role for secretory phospholipase A2 and C-reactive protein in the removal of injured cells. *Immunol Today* 1997; 18:111-5.
 49. Rovere P, Peri G, Fazzini F, Bottazzi B, Doni A, Bondanza A, et al. The long pentraxin PTX3 binds to apoptotic cells and regulates their clearance by antigen-presenting dendritic cells. *Blood* 2000; 96:4300-6.
 50. Chernysheva AD, Kirou KA, Crow MK. T cell proliferation induced by autologous non-T cells is a response to apoptotic cells processed by dendritic cells. *J Immunol* 2002; 169:1241-1250.
 51. Kashipaz MRA, Huggins ML, Powell RJ, et al. Human autologous mixed lymphocyte reaction as an in vitro model for autoreactivity to apoptotic antigens. *Immunology*. 2002; 107:358-365.
 52. Casciola-Rosen L, Andrade F, Ulanet D, et al. Cleavage by granzyme B is strongly predictive of autoantigen status: implications for initiation of autoimmunity. *J Exp Med* 1999; 190:815-826.
 53. Blanco P, Palucka AK, Gill M, et al. Induction of dendritic cell differentiation by IFN-alpha in systemic lupus erythematosus. *Science* 2001; 294:1540-1543.
 54. Bennett L, Palucka AK, Arce E, et al. Interferon and granulopoiesis signatures in systemic lupus erythematosus blood. *J Exp Med* 2003; 197:711-723.
 55. Santiago-Raber ML, Baccala R, Haraldsson KM, et al. Type-I interferon receptor deficiency reduces lupus-like disease in NZB mice. *J Exp Med* 2003; 197:777-788.
 56. Okabe Y, Kawane K, Akira S, Taniguchi T, Nagata S. Toll-like receptor-independent gene induction program activated by mammalian DNA escaped from apoptotic DNA degradation. *J Exp Med* 2005; 202:1333-1339.
 57. Lauber K, Blumenthal SG, Waibel M, Wesselborg S. Clearance of apoptotic cells: getting rid of the corpses. *Mol Cell* 2004; 14:277-287.
 58. Denny MF, Chandaroy P, Killen PD, Caricchio R, Lewis EE, Richardson BC, Lee KD, Gavalchin J, Kaplan MJ. Accelerated macrophage apoptosis induces autoantibody formation and organ damage in systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 2006; 176:2095-2104.
 59. Frisoni L, McPhie L, Colonna L, Sriram U, Monestier M, Gallucci S, Caricchio R. Nuclear autoantigen translocation and autoantibody opsonization lead to increased dendritic cell phagocytosis and presentation of nuclear antigens: a novel pathogenic pathway for autoimmunity? *J Immunol* 2005; 175:2692-2701.
 60. Shaw PX, Goodyear CS, Chang MK, Witztum JL, Silverman GJ. The auto-reactivity of anti-phosphorylcholine antibodies for atherosclerosis-associated neo-antigens and apoptotic cells. *J Immunol* 2003; 170:6151-6157.
 61. Chang MK, Binder CJ, Miller YI, Subbanagounder G, Silverman GJ, Berliner JA, Witztum JL. Apoptotic cells with oxidation-specific epitopes are immunogenic and proinflammatory. *J Exp Med* 2004; 200:1359-1370.
 62. Shaw PX, Horkko S, Tsimikas S, Chang MK, Palinski W, Silverman GJ, Chen PP, Witztum JL. Human-derived anti-oxidized LDL autoantibody blocks uptake of oxidized LDL by macrophages and localizes to atherosclerotic lesions in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21:1333-1339.
 63. Bouillet P, Metcalf D, Huang DC, Tarlinton DM, Kay TW, Kontgen F, Adams JM, Strasser A. Proapoptotic Bcl-2 relative Bim required for certain apoptotic responses, leukocyte homeostasis, and to preclude autoimmunity. *Science* 1999; 286:1735-1738.
 64. Mohan C, Yu Y, Morel L, Yang P, Wakeland EK. Genetic dissection of Sle pathogenesis: Sle3 on murine chromosome 7 impacts T cell activation, differentiation, and cell death. *J Immunol* 1999; 162:6492-6502.
 65. Zhu J, Liu X, Xie C, Yan M, Yu Y, Sobel ES, Wakeland EK, Mohan C. T cell hyperactivity in lupus as a consequence of hyperstimulatory antigen-presenting cells. *J Clin Invest* 2005; 115:1869-1878.
 66. Roy V, Chang NH, Cai Y, Bonventi G, Wither J. Aberrant IgM signaling promotes survival of transitional T1 B cells and prevents tolerance induction in lupus-prone New Zealand black mice. *J Immunol* 2005; 175:7363-7371.
 67. Xin H, D'Souza S, Jorgensen TN, Vaughan AT, Lengyel P, Kotzin BL, Choubey D. Increased expression of Ifi202, an IFNactivatable gene, in B6.Nba2 lupus susceptible mice inhibits p53-mediated apoptosis. *J Immunol* 2006; 176:5863-5870.
 68. Emlen W, Niebur J, Kadera R. Accelerated in vitro apoptosis of lymphocytes from patients with systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 1994; 152:3685-3692.
 69. Armstrong DJ, Whitehead EM, Crockard AD, Bell AL. Distinctive effects of G-CSF, GM-CSF and TNFalpha on neutrophil apoptosis in systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol* 2005; 23:152-158.
 70. Perl A, Gergely P Jr, Banki K. Mitochondrial dysfunction in T cells of patients with systemic lupus erythematosus. *Int Rev Immunol* 2004; 23:293-313.
 71. Ren Y, Tang J, Mok MY, Chan AW, Wu A, Lau CS. Increased apoptotic neutrophils and macrophages and impaired macrophage phagocytic clearance of apoptotic neutrophils in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2003; 48:2888-2897.
 72. Kimberly RP. Of mice and men: insights into the complexity of mononuclear phagocyte system blockade provided by autoimmune mouse strains. *J Lab Clin Med* 1991; 117:173-174.
 73. Tas SW, Quartier P, Botto M, Fossati-Jimack L. Macrophages from patients with SLE and rheumatoid arthritis have defective adhesion in vitro, while only SLE macrophages have impaired uptake of apoptotic cells. *Ann Rheum Dis* 2006; 65:216-221.
 74. Baumann I, Kolowos W, Voll RE, Manger B, Gaipal U, Neuhuber WL, Kirchner T, Kalden JR, Herrmann M. Impaired uptake of apoptotic cells into tingible body macrophages in germinal centers of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2002; 46:191-201.
 75. Kuhn A, Herrmann M, Kleber S, Beckmann-Welle M, Fehsel K, Martin-Villalba A, Lehmann P, Ruzicka T, Krammer PH, Kolb-Bachofen V. Accumulation of apoptotic cells in the epidermis of patients with cutaneous lupus erythematosus after ultraviolet irradiation. *Arthritis Rheum* 2006; 54:939-950.
 76. Reefman E, Kuiper H, Jonkman MF, Limburg PC, Kallenberg CG, Bijl M. Skin sensitivity to UVB irradiation in systemic lupus erythematosus is not related to the level of apoptosis induction in keratinocytes. *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45:538-544.
 77. Morgan BP, Walport MJ. Complement deficiency and disease. *Immunol Today* 1991; 12:301-306.
 78. Botto M, Dell'Agnola C, Bygrave AE, et al. Homozygous C1q deficiency causes glomerulonephritis associated with multiple apoptotic bodies. *Nat Genet* 1998; 19:56-59.
 79. Korb LC, Ahearn JM. C1q binds directly and specifically to surface blobs of apoptotic human keratinocytes — complement deficiency and systemic lupus erythematosus revisited. *J Immunol* 1997; 158:4525-4528.
 80. Taylor PR, Carugati A, Fadok VA, et al. A hierarchical role for classical pathway complement proteins in the clearance of apoptotic cells in vivo. *J Exp Med* 2000; 192:359-366.
 81. Nauta AJ, Trouw LA, Daha MR, et al. Direct binding of C1q to apoptotic cells and cell blebs induces complement activation. *Eur J Immunol* 2002; 32:1726-1736.
 82. Botto M, Dell'Agnola C, Bygrave AE, Thompson EM, Cook HT, Petry F, Loos M, Pandolfi PP, Walport MJ. Homozygous C1q deficiency causes glomerulonephritis associated with multiple apoptotic bodies. *Nat Genet* 1998; 19:56-59.
 83. Prodeus AP, Goerg S, Shen LM, Pozdnyakova OO, Chu L, Alicot EM, Goodnow CC, Carroll MC. A critical role for complement in maintenance of self-tolerance. *Immunity* 1998; 9:721-731.

84. Baumgarth N, Chen J, Herzenberg LA: B-1 and B-2 cell-derived IgM antibodies are non redundant components of the humoral immune response to influenza virus infection. *FASEB J* 2000; 14:271-280.
 85. Ehrenstein MR, Cook HT, Neuberger MS. Deficiency in serum immunoglobulin (Ig)M predisposes to development of IgG autoantibodies. *J Exp Med* 2000; 191:1253-1257.
 86. Kim SJ, Gershov D, Ma XJ, et al. I-PLA(2) activation during apoptosis promotes the exposure of membrane lysophosphatidylcholine leading to binding by natural immunoglobulin M antibodies and complement activation. *J Exp Med* 2002; 196:655-665.
 87. Limburg PC, Bijl M. Autoantibodies to opsonins of apoptotic cells in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2005; 64:1669-1670.
 88. Atsumi G, Tajima M, Hadano A, et al. Fas-induced arachidonic acid release is mediated by Ca²⁺-independent phospholipase A(2) but not cytosolic phospholipase A(2) which undergoes proteolytic inactivation. *J Biol Chem* 1998; 273:13870-13877.
 89. Verbovetski I, Bychkov H, Trahtemberg U, et al. **Opsonization of apoptotic cells by autologous iC3b facilitates clearance by immature dendritic cells, down-regulates DR and CD86, and up-regulates CC chemokine receptor 7.** *J Exp Med* 2002; 196:1553-1561.
 90. Voll RE, Herrmann M, Roth EA, et al. Immunosuppressive effects of apoptotic cells. *Nature* 1997; 390:350-351.
 91. Huynh ML, Fadok VA, Henson PM. Phosphatidylserine-dependent ingestion of apoptotic cells promotes TGF-beta1 secretion and the resolution of inflammation. *J Clin Invest* 2002; 109:41-50.
 92. Cohen PL, Caricchio R, Abraham V, et al. Delayed apoptotic cell clearance and lupus-like autoimmunity in mice lacking the c-mer membrane tyrosine kinase. *J Exp Med* 2002; 196:135-140.
 93. Scott RS, McMahon EJ, Pop SM, et al. Phagocytosis and clearance of apoptotic cells is mediated by MER. *Nature*, 2001; 411:207-211.
 94. Li RH, Chen J, Hammonds G, et al. Identification of Gas6 as a growth factor for human Schwann cells. *J Neurosci* 1996; 16:2012-2019.
-