

Apoptosis. Su papel en la ontogenia del sistema inmune y en la infección por HIV

He leído con sumo interés la revisión de apoptosis publicada por la Dra. Beatriz Ruibal-Ares y colaboradores¹. En dicho artículo se hace una excelente y detallada descripción de un mecanismo biológico de «moda» como es una de las Muertes Celulares Programadas, denominada Apoptosis desde la descripción de Keer y colaboradores en 1972, pero conocida desde antes con otros nombres. No puedo dejar pasar la oportunidad, para hacer algunos comentarios a dicho artículo al solo efecto de agregar o, respetuosamente discrepar en algunos puntos.

1) Sin querer entrar en discusiones meramente semánticas, se aceptan en biología 3 mecanismos básicos de Muerte Celular Programada² que no debieran ser considerados sinónimos de apoptosis, aunque sea éste el mecanismo más frecuente. Ellas difieren básicamente en el mecanismo por medio del cual la célula es «eliminada». La diferencia fundamental entre los tres, reside en el papel desempeñado por los lisosomas. En el primer tipo, la *Heterofagocitosis*, los lisosomas de las células «condenadas» no juegan ningún rol; luego de degenerada la célula, sus restos son destruidos por lisosomas de otras células. En el segundo tipo, la *Autofagocitosis*, la célula muere por acción de sus propios lisosomas. En el tercer tipo los lisosomas no parecen jugar ningún papel en el proceso de muerte o clearance de restos celulares.

Al primer tipo corresponde la apoptosis, al segundo la degeneración de la cola de los anfibios durante la metamorfosis y al tercero la vacuolización del cartilago durante la mineralización. Parece obvio que es tan programada la muerte del linfocito durante su desarrollo en el timo, como lo es la reabsorción de la cola de los anfibios.

2) La apoptosis debiera ser definida por características morfológicas y bioquímicas en células que presentan genes controladores, independientemente de si la señal gatillo del mecanismo es autóloga o heteróloga. La activación de endonucleasas en la apoptosis, con la consiguiente degradación internucleosomal del DNA es un mecanismo celular regulado internamente, pero el mecanismo de inducción, como fue descrito en la bibliografía puede ser básicamente de 2 tipos:

Triggering Mode (apoptosis inducida por agente externo) y *Withdrawal Mode* (apoptosis inducida por privación de ligandos)³.

3) Sorprende el hecho que linfocitos maduros normales cultivados con anti CD3 mueran por apoptosis como muestra la Figura 2, porque en realidad en este estadio evolutivo, como se explica posteriormente en la revisión, la estimulación del receptor TCR-CD3 debiera conducir a la activación y proliferación celular en vez de la muerte, a no ser que simultáneamente haya *crosslink* del cofactor CD4, como demostrara Newell y colaboradores⁴. Es probable que la fragmentación observada dependa de la apoptosis espontánea en cultivo⁵, y no a la estimulación por anti-CD3.

4) Con respecto a la síntesis *de novo* de proteínas, creo que debe remarcarse esa inteligente clasificación de J.J. Cohen y col.⁵, donde detalla 3 formas distintas de morir. a) *Release Mechanisms*: la inhibición proteica conduce a la fragmentación del DNA, porque los *death genes* están bloqueados por proteínas de vida media corta. b) *Induction Mechanisms*: la inhibición proteica inhibe la fragmentación del DNA, porque la expresión del gene ocurre luego de la inducción de la apoptosis. c) *Transduction Mechanisms*: la inhibición proteica no tiene ningún efecto sobre la fragmentación del DNA, porque no hay síntesis *de novo* de proteínas.

A tal fin se demostró que la misma célula, el linfocito T, varía sus requerimientos proteicos dependiendo del estadio evolutivo, muere por apoptosis cuando es maduro y se inhibe su síntesis proteica, mientras que la «resiste» cuando es joven con sólo bloquear la síntesis de proteínas³.

Creo que esto tan sólo remarca que la compleja maquinaria de regulación genética, con proteínas o enzimas de distinta sensibilidad y vida media, hace que cada célula muera o viva según las señales recibidas del medio y/o de sus genes.

5) Lamento disentir pero los glucocorticoides conducen a la muerte tanto de los timocitos como de los linfocitos T maduros. Según muestra un trabajo al respecto⁶, se puede observar que tanto los linfocitos T periféricos como los timocitos, luego de 12 h en cultivo con dexametasona fragmentan su DNA en forma internucleosomal. En el citado trabajo se muestra también una curva dosis-respuesta de linfocitos T maduros y

timocitos donde se puede ver que ambas células mueren por apoptosis, si bien es cierto que los timocitos son algo más sensibles.

Carlos E. Perandones

Sección Reumatología e Inmunología, CEMIC,
Bustamante 2520, 1425 Buenos Aires.

1. Ruibal-Ares B, Riera NE, Bracco MME, de. Apoptosis. Su papel en la ontogenia del sistema inmune y en la infección por HIV. *Medicina (Buenos Aires)* 1994; 54: 661-70.
2. Clarke PGH. Developmental Cell Death: morphological diversity and multiple mechanism. *Anat Embryol* 1990; 181: 195-213.
3. Perandones CE, Illera VA, Peckham D, Stunz LL, Ashman RF. Regulation of apoptosis in vitro in mature murine spleen T cells. *J Immunol* 1993; 151: 3521-9.
4. Newell MK, Haughn LJ, Maroun CR, Julius MH. Death of mature T cells by separate ligation of CD4 and T-cell receptor for antigen. *Nature* 1990; 347: 286-9.
5. Cohen JJ, Duke RC, Fadok VA, Sellins KS. Apoptosis and programmed cell death in immunity. *Annu Rev Immunol* 1992; 10: 267-93.

Con referencia a los comentarios del Dr. Carlos Perandones sobre nuestra revisión¹, cabe señalar que ésta es una área de investigación actual, con rápido desarrollo; en consecuencia, es lógico que exista controversia sobre resultados e interpretaciones. De ninguna manera suponemos que la revisión realizada por nosotros abarca en forma exhaustiva toda la bibliografía. Seguramente hemos omitido más de una cita bibliográfica relevante para la comprensión general del tema. Por lo tanto agradecemos los interesantes aportes del Dr. Perandones.

Solamente vamos a comentar con detalle la observación N° 3 de la carta del Dr. Perandones porque corresponde a resultados de este laboratorio y no a publicaciones de otros grupos. La

Figura 4 de la revisión¹ fue colocada a título de ejemplo del patrón de electroforesis de DNA en células apoptóticas obtenidas de un cultivo realizado en presencia de anti CD3. Esto no significa que en ausencia de anti CD3 no ocurra la apoptosis en cultivo.

En coincidencia con el trabajo citado por el Dr. Perandones para esplenocitos murinos en cultivo², y salvando las diferencias de especie, en un trabajo reciente³, demostramos que el nivel de apoptosis de linfocitos humanos periféricos normales era apreciable luego de 2 días de cultivo in vitro, aún en ausencia de anti CD3. El índice apoptótico (IA) aumentaba a lo largo del cultivo, y no había diferencias significativas entre los valores de IA en presencia o ausencia de anti CD3. Sin embargo, en los cultivos estimulados con anti CD3, los linfoblastos representaron una gran proporción de las células apoptóticas en contraposición a lo observado en los cultivos de linfocitos no estimulados.

Podría especularse que la observación de apoptosis en linfocitos maduros normales estimulados con anti CD3 se relaciona a una relativa carencia de «estímulo de sobrevida»¹.

Beatriz Ruibal-Ares

Instituto de Investigaciones Hematológicas,
Academia Nacional de Medicina, P. de Melo 3081,
1425 Buenos Aires

1. Ruibal-Ares B, Riera NE, Bracco MME. Apoptosis. Su papel en la ontogenia del sistema inmune y en la infección por HIV. *Medicina (Buenos Aires)* 1994; 54: 661-70.
2. Perandones CA, Illera VA, Peckham D, Stunz LL, Ashman RF. Regulation of apoptosis in vitro in mature murine spleen T cells. *J Immunol* 1993; 151: 3521-9.
3. Ruibal-Ares B, Riera NE, Felippo M, Vernava D, Pérez-Bianco R. de Bracco MME. Apoptosis in HIV infected hemophilic patients. *Immunol Infect Dis*, 1995; 5: 159-66.

Le microbe ne fait rien, c'est le terrain qui fait tout.

El microbio no hace nada, es el terreno el que lo hace todo.

Louis Pasteur (1822 - 1895)