

## APOPTOSIS DE LINFOCITOS ASOCIADA A ENFERMEDADES INFECCIOSAS

ELINA ZUÑIGA, EVA ACOSTA RODRIGUEZ, CAROLINA MONTES, ADRIANA GRUPPI

*Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba*

**Resumen** Durante distintas infecciones se ha descrito la presencia de apoptosis de linfocitos tanto de sangre periférica como de órganos linfáticos primarios y secundarios. Esta muerte celular programada puede ser inducida por mecanismos de control del hospedador con el objetivo de eliminar linfocitos infectados y/o mantener la homeostasis del sistema inmune, o puede ser regulada por el agente infeccioso con el objetivo de completar su ciclo de vida, diseminar la infección y/o suprimir la respuesta inmune. Así, esta muerte celular puede tener beneficios o desventajas para el hospedador dependiendo del estadio del ciclo de vida del patógeno y/o de la especificidad de la población de linfocitos involucrada. La identificación de los mecanismos que median la apoptosis de linfocitos autorreactivos o específicos para el patógeno aportará datos para el diseño de estrategias que permitan intervenir inmunológica o farmacológicamente al hospedador infectado.

**Palabras claves:** apoptosis, infección, regulación inmune, mecanismos de evasión, linfocitos

**Abstract** *Lymphocyte apoptosis associated to infections.* During infections, the presence of lymphocyte apoptosis both in peripheral blood and in lymphatic organs has been described. This kind of programmed cell death can be either induced by host control mechanisms aimed at eliminating infected lymphocytes and/or retaining immune system homeostasis, or by the pathogen in order to complete its life cycle, spreading the infection and/or suppressing the immune response. Thus, apoptosis has advantages and disadvantages for the host depending on the pathogen life cycle and/or the specificity of the lymphocyte population affected. Identification of the mechanisms involved in autoreactive or pathogen-specific lymphocyte apoptosis could lead to strategies designed to interfere immunologically or pharmacologically in favor of the host.

**Key-words:** apoptosis, infection, immune-regulation, evasive mechanisms, lymphocytes

La apoptosis es un proceso de muerte celular programada que juega un papel central en la regulación del número de linfocitos y en la eliminación de linfocitos autorreactivos tanto a nivel central como a nivel periférico. Ha sido demostrado que luego de una respuesta inmune sólo un número pequeño de linfocitos sobrevive mientras que la gran mayoría muere por apoptosis, de esta manera se preserva un sistema inmune sano y equilibrado<sup>1, 2</sup>. Así, durante distintas infecciones se ha descrito la presencia de apoptosis en los linfocitos del hospedador infectado.

Durante distintos procesos infecciosos la apoptosis de linfocitos puede ser *inducida por mecanismos de control del hospedador* con el objetivo de eliminar linfocitos que albergan al patógeno y/o mantener la homeostasis del sistema inmune. Es bien conocido que durante un

proceso infeccioso se generan linfocitos efectores específicos para el patógeno; sin embargo ciertos microorganismos tales como virus, algunas bacterias y parásitos pueden activar a los linfocitos en forma inespecífica produciendo una vigorosa activación policlonal. Así, en una infección se produce un gran disturbio del sistema inmune en donde se pueden activar linfocitos con diferentes especificidades: reactivos con el agente infeccioso, autorreactivos o específicos para antígenos no relacionados. Luego de la activación, ya sea específica o policlonal, el sistema inmune pone en marcha distintos mecanismos de control tratando de:

- 1) limitar la respuesta inmune específica para el agente infeccioso, con el objetivo de controlar procesos inflamatorios y responder a un nuevo desafío antigénico<sup>2</sup>.
- 2) limitar la respuesta inmune específica para antígenos propios, para evitar la autoinmunidad y mantener un estado de tolerancia<sup>2</sup>.
- 3) limitar la respuesta inmune con especificidad no relacionada, a los fines de evitar la sobrevida de linfocitos que pueden diluir los linfocitos específicos para el

Recibido: 17-IX-2001

Aceptado: 1-XI-2001

**Dirección postal:** Dra. Adriana Gruppi, Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Ciudad Universitaria, 5000 Córdoba, Argentina.

Fax: (54-351) 4334164

e-mail: agruppi@bioclin.fcq.unc.edu.ar.

agente infeccioso y retardar el surgimiento de una respuesta protectora.

Es así que, la limitación de la respuesta inmune es un proceso necesario para mantener el equilibrio inmunológico. Sin embargo, si al tratar de restringir esta respuesta, las células específicas para el patógeno son eliminadas antes que éste, el microorganismo toma ventaja de ello para establecerse crónicamente en el hospedador. Se ha observado que, en muchas infecciones, el establecimiento crónico del patógeno es el costo más bajo que debe pagar el hospedador infectado para evitar daños inmunopatológicos y/o autoinmunes. En este sentido, un desafío importante para muchos investigadores es encontrar diferencias entre los mecanismos de control que limitan la respuesta inmune en función de la especificidad de los linfocitos. Esta información podría conducir a mejores estrategias para suprimir una respuesta autorreactiva potencialmente dañina para el hospedador e incrementar la inmunidad protectora tendiente a eliminar definitivamente al agente infeccioso.

También, la apoptosis de linfocitos durante procesos infecciosos puede ser *inducida por el patógeno*. A lo largo de la evolución, los microorganismos han sufrido una estricta presión selectiva y no resulta sorprendente que los agentes infecciosos hayan permanecido hasta nuestros días debido a su capacidad de regular la sobrevivencia de los linfocitos y así manipular la respuesta inmune.

En este contexto, la identificación de mecanismos que conducen a la apoptosis de linfocitos durante una infección, ya sean mecanismos homeostáticos del hospedador o mecanismos de evasión del patógeno, emerge como una imperiosa necesidad.

### Aspectos generales de la apoptosis de linfocitos

La apoptosis es un proceso ordenado, regulado por diferentes genes y caracterizado por fragmentación de ADN, condensación de la cromatina, compactación de organelas celulares y formación de ampollas en la membrana celular<sup>3</sup>. Los reguladores mejor definidos de la apoptosis de linfocitos son:

- *proteínas de membrana* como los miembros de la superfamilia del receptor de TNF (TNFR) (Fas, p55, TNFR, etc) y sus ligandos miembros de la familia de TNF (FasL, TNF, TRAIL, etc).
- *Proteínas citoplasmáticas* como los miembros de la familia Bcl<sup>1</sup>.

Muchos de los miembros de la superfamilia de TNFR comparten un dominio de muerte en la cola citoplasmática, el cual induce la formación de un complejo de señales que lleva a la activación de una familia de proteasas llamadas "caspasas", y culmina en la activación de ADNsas que degradan el ADN. Fas (APO-1 o

CD95), uno de los miembros más estudiados de esta superfamilia, es una proteína proapoptótica que se expresa en una amplia variedad de tejidos mientras que su ligando (FasL) tiene una expresión más restringida<sup>1, 4</sup>.

Las proteínas Bcl forman parte de una familia cuyos miembros comparten un número de regiones de secuencias homólogas y todos, aunque en diferente forma, influyen en la muerte celular<sup>5,6</sup>. Así, algunas de estas proteínas como Bcl-2 y Bcl-x<sub>L</sub> actúan bloqueando la activación de las caspasas y por lo tanto tienen actividad antiapoptótica. Por el contrario, Bcl-x<sub>S</sub> o BAD potencian la muerte al unirse a Bcl-2 y a Bcl-x<sub>L</sub> y bloquear sus efectos anti-apoptóticos<sup>7</sup>.

### Apoptosis de linfocitos inducida por mecanismos de control del hospedador

Se han descrito dos situaciones en las que los mecanismos de control del sistema inmune del hospedador inducen la apoptosis de linfocitos con el objetivo de controlar la respuesta inmune (Figura 1).

Una de ellas es la *muerte celular pasiva*, a través de la cual se eliminan linfocitos que se encuentran en exceso. Este tipo de muerte ocurre bajo condiciones donde la concentración de IL-2 y el nivel de antígeno es bajo, tal como ocurre al final de una respuesta inmune. La apoptosis pasiva requiere la síntesis de nuevas proteínas, es fuertemente inhibida por la expresión de Bcl-2 y moléculas relacionadas, y puede ser impedida por varias citoquinas que favorecen el crecimiento de células como IL-2, IL-4, IL-7 e IL-15. Señales coestimuladoras, tales como la interacción B7/CD28, también inhiben este tipo de apoptosis al incrementar la expresión de la proteína anti-apoptótica Bcl-x<sub>L</sub><sup>8</sup>.

Se ha demostrado que en varias infecciones se produce una desregulación de miembros de la familia Bcl lo cual afecta la viabilidad de linfocitos del hospedador<sup>9, 10</sup>. Así, los linfocitos de sangre periférica de pacientes infectados con el virus HIV (virus de la inmunodeficiencia humana) presentan una incrementada apoptosis espontánea *in vitro* y el agregado de IL-2<sup>11</sup> o de IL-15 revierte esta muerte al aumentar los niveles de Bcl-2<sup>12</sup>. Adicionalmente, el virus SIV (Virus de la Inmunodeficiencia de Simios) inhibe la expresión de Bcl-2 en los timocitos CD4+CD8+ induciendo una marcada apoptosis y alteración de la función tímica<sup>13</sup>. Por otra parte, Baixeras y col<sup>14</sup> demostraron que el virus vaccinia dispara la apoptosis de linfocitos B inmaduros por inducir una disminución de Bcl-2.

Considerando las evidencias experimentales antes descritas y nuestro reciente reporte de que los linfocitos B de animales infectados con *Trypanosoma cruzi* sufren *in vitro* de apoptosis espontánea<sup>15</sup>, exploramos la posibilidad que la muerte que sufren estos linfocitos B pue-

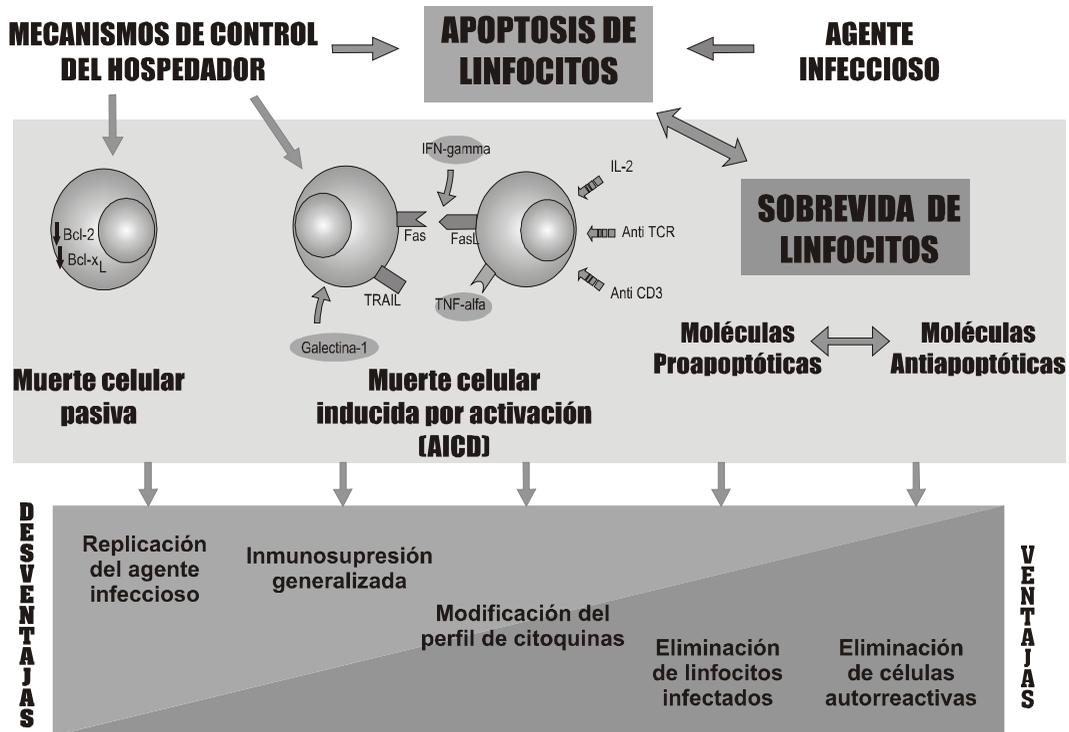


Fig. 1.— La apoptosis de linfocitos de un hospedador infectado puede ocurrir por mecanismos de control de la respuesta inmune o por el agente infeccioso. Esta muerte ocasiona tanto ventajas como desventajas para el hospedador, el equilibrio entre las mismas determinará el destino de la infección.

da ser provocada por una expresión alterada de las proteínas de la familia Bcl. Observamos que las células B de los animales infectados con este protozoo presentan una alta expresión de las proteínas Bcl-2 y Bcl-x<sub>L</sub>, indicando de esta manera que una disminución en la expresión de estas proteínas no es la vía de muerte que puede estar operando *in vivo*. La posibilidad que Bcl-x<sub>L</sub> pueda ser antagonizado por Bcl-x<sub>S</sub> fue descartada en nuestro modelo experimental debido a que los niveles de esta proteína anti-apoptótica fueron indetectables. Estos hallazgos nos indicaron que la expansión de linfocitos B que ocurre durante la infección con *T. cruzi* no está limitada a una muerte celular pasiva<sup>16</sup>. Probablemente este resultado no es sorprendente ya que la muerte de linfocitos B ocurre en la fase aguda de la infección cuando se encuentran altos niveles de antígenos parasitarios y citoquinas.

El otro tipo de muerte que pueden sufrir los linfocitos como consecuencia de mecanismos de control del sistema inmune, es la *muerte celular inducida por activación* (AICD). Mediante este mecanismo células activadas en repetidas situaciones inician una muerte activa en la cual se matan a sí mismas (suicidio o propicidio) o entre sí (fratricidio).

Se ha descrito para el compartimento de células T que el propicidio o apoptosis por retroalimentación es

guiado por IL-2 y los niveles de antígeno en el microambiente inmune local. La muerte activa de las células T limita la respuesta inmune bajo condiciones de altos niveles de IL-2 y antígeno. Paradójicamente, IL-2 que inicia la progresión en el ciclo celular de las células T es capaz de conducir a estas células a la apoptosis. En una respuesta temprana de células T, cuando la concentración de IL-2 es baja, el efecto proliferativo es dominante; pero cuando la citoquina se acumula y otros estímulos cambian, ella puede actuar para terminar la respuesta<sup>1</sup>.

Los mediadores de la AICD mejor clasificados son entre otros las citoquinas de muerte como FasL y TNF con sus respectivos receptores<sup>1</sup>.

Con respecto a la vía Fas/FasL, durante la infección con *Trypanosoma cruzi* se observó que luego de la estimulación con anti-CD3 o vía TCR, las células CD4+ sufren de AICD y el agregado de IL-2 potencia este tipo de muerte<sup>17</sup>. Además, se ha descrito que esta infección incrementa la expresión de Fas y FasL de linfocitos T<sup>18</sup> y que la presencia de anticuerpos anti-FasL neutralizantes bloquea la AICD. En nuestro laboratorio observamos que los linfocitos B de los ratones infectados también poseen alta expresión de Fas y FasL y el bloqueo de esta vía inhibe exclusivamente la apoptosis de los linfocitos B con mayor grado de activación<sup>16</sup>. Es posible

que *in vivo* las células B y T altamente activadas por la infección con *T. cruzi* se estén controlando unas a otras mediante la vía Fas/FasL y que este evento, por un lado, esté limitando la respuesta inmune para mantener la homeostasis, y por el otro, sea el responsable de la inmunosupresión observada durante la fase aguda de esta infección. En esta línea, recientes estudios han demostrado que las células B activadas por la infección con *Schistosoma mansoni* aumentan la expresión de FasL y de esta manera ejercen un papel supresor sobre linfocitos T<sup>19</sup>. Es importante destacar que en ciertas infecciones, la muerte por AICD es mediada por Fas y FasL en formas solubles. En este sentido, se ha propuesto que durante la infección con HIV la muerte de los linfocitos T es mediada tanto por células que expresan en su membrana FasL, como por anticuerpos autorreactivos anti-Fas y por Fas sérico soluble que alcanzan altos niveles en pacientes infectados<sup>20</sup>. Este mecanismo contribuiría a la desregulación de la vía Fas/FasL observada en células T activadas, que conduce a una apoptosis anormal y por lo tanto a la disminución progresiva de linfocitos T observada en los individuos infectados.

Con respecto a TNF, otro de los mediadores de la AICD, se observó que esta citoquina es responsable de la apoptosis de linfocitos CD4+ que se observa en etapas tempranas de la infección con *Yersinia enterocolitica* y que conduce a una marcada disminución de esta subpoblación celular durante el transcurso de la infección. Esta muerte sería dependiente de la señal a través del TNFR ya que ratones deficientes en la subunidad p55 del TNFR e infectados con *Yersinia enterocolitica*, no presentan apoptosis de sus linfocitos T CD4+<sup>21</sup>. TNF también juega un papel importante en la apoptosis de linfocitos T CD4+y CD8+ que se observa durante la infección con *Mycobacterium bovis* en ratones y que está asociada a la hipo-respuesta celular. El tratamiento *in vitro* con anticuerpos anti-TNF reduce significativamente la apoptosis de linfocitos T y restablece la respuesta proliferativa de células T durante esta infección<sup>22</sup>.

En los últimos años se han descrito unas proteínas denominadas TRAILs (ligando relacionado al TNF que induce apoptosis) que se caracterizan por tener una estructura similar a TNF y, al igual que éste, inducen apoptosis por unión de su receptor específico TNFR. La expresión de TRAIL fue reportada en linfocitos T CD4+ y CD8+ luego de su activación, sugiriendo su participación en la inducción de la apoptosis mediada por células T. Estos reguladores de la apoptosis parecen ser muy importantes en la apoptosis observada durante la infección con HIV, ya que se ha descrito que los linfocitos T de pacientes infectados con HIV-1 son aún más susceptibles a la muerte mediada por TRAIL que a la muer-

te mediada por FasL<sup>23</sup>. Por otro lado, se ha observado que en ratones NOD-SCID (diabéticos no obesos con inmunodeficiencia severa combinada), transplantados con sangre humana periférica y luego infectados con HIV, los linfocitos T CD4+ no infectados sufren de AICD mediada por TRAILs presente en linfocitos T infectados<sup>24</sup>.

Otro factor regulador de la muerte de linfocitos activados es IFN $\gamma$ , el cual ha sido postulado como protagonista crítico en la muerte de células T CD4+ efectoras<sup>25</sup>. A pesar de que la mayoría de los estudios indican que IFN $\gamma$  es importante para la defensa contra numerosos patógenos, publicaciones recientes demuestran que IFN $\gamma$  puede inducir genes, factores regulatorios y moléculas que median la apoptosis de linfocitos<sup>26</sup>. Entre los mediadores de la apoptosis inducida por IFN $\gamma$  podemos mencionar el óxido nítrico y las moléculas Fas y FasL. A modo de ejemplo podemos mencionar que durante la infección de ratones con *T. gondii*, la neutralización de IFN $\gamma$  con anticuerpos específicos resultó en una disminución de la apoptosis de células T de placas de Peyer<sup>27</sup> y esta sobrevida estuvo asociada con una disminución en la expresión de Fas. Además, se ha demostrado que IFN $\gamma$  induce apoptosis de las células T CD4+ activadas durante la infección con el bacilo de Calmette-Guérin (BCG), y que los macrófagos activados y el óxido nítrico forman parte de este mecanismo de muerte. Reforzando este concepto, se observó que ratones deficientes en IFN $\gamma$  no son capaces de inducir apoptosis de las células T CD4+ activadas durante la infección con BCG, determinándose en los animales una acumulación de linfocitos<sup>28</sup>.

Otro mediador involucrado en la apoptosis de linfocitos activados es Galectina-1 (GAL-1), una lectina que une azúcares  $\beta$ -galactósidos, que induce apoptosis de timocitos y de células T maduras activadas<sup>29</sup>. Esta proteína ha sido identificada en células relacionadas al sistema inmune: células T y B activadas, macrófagos y células epiteliales tímicas. Recientemente observamos que GAL-1 se expresa en linfocitos B de animales infectados con *T. cruzi* que presentan un alto grado de activación y que esta lectina se encuentra localizada principalmente en el compartimento citoplasmático. Observamos que la expresión de GAL-1 se modula de acuerdo al grado de activación celular, detectándose un significativo incremento en los linfocitos B que reciben simultáneamente señales vía BCR (receptor para el Ag de la célula B) y CD40. Observamos que GAL-1 purificada de células B de ratones infectados con *T. cruzi* conduce a la apoptosis a células T en reposo y este efecto es más marcado en células T activadas afectando principalmente a las células productoras de IFN $\gamma$ <sup>30</sup>. Además recientemente demostramos que esta lectina también es capaz de inducir la apoptosis de macrófagos infectados<sup>31</sup>.

### Aspectos perjudiciales y beneficiosos de la apoptosis de linfocitos inducida por mecanismos de control

Se pueden determinar al menos dos situaciones en las cuales la apoptosis de linfocitos inducidas por mecanismos de control tiene efectos desfavorables sobre el hospedador (Figura 1),

La primera es cuando afecta a linfocitos específicos para el agente infeccioso que indujo la respuesta inmune, antes de que éste haya sido eliminado completamente. Un caso que ejemplifica esta situación es la apoptosis de linfocitos durante la infección con *T. cruzi*. Ha sido demostrado que la AICD en ratones infectados con *T. cruzi* elimina células T productoras de IFN $\gamma$  y que esta muerte favorece la replicación intracelular del parásito en macrófagos<sup>32</sup>. Sumado a esto, la muerte de linfocitos B mediada por FasL que se observa en la etapa aguda de esta infección, afecta a linfocitos que reconocen específicamente antígenos parasitarios<sup>16</sup> y esto podría explicar la hipo-respuesta humoral observada durante la etapa aguda de la infección. Otro ejemplo claro se observa en malaria, en la cual, mediante transferencia de una línea de células T específica para *Plasmodium berghei*, se ha demostrado que la apoptosis afecta células específicas para el agente infeccioso. Dichas células persisten más de nueve meses cuando son transferidas a hospedadores no infectados, mientras que la infección con *P. berghei* elimina el 99% de estos linfocitos específicos para el patógeno<sup>33</sup>. En lo que respecta a infecciones virales, se ha demostrado que el Herpes Simplex Virus tipo I (HSV1) es capaz de infectar linfocitos T activados induciendo una rápida eliminación por fratricidio de las células T antivirales. El fratricidio mediado por Fas, y en menor medida por TNF-alfa sería esencial para la apoptosis inducida por HSV1, y sería importante como mecanismo de evasión que le permite al virus persistir en el huésped durante toda su vida<sup>34</sup>.

La otra situación, en la cual se observó que la apoptosis de linfocitos inducida por mecanismos de control tiene efectos perjudiciales para el hospedador es cuando esta muerte es masiva y conduce a un estado de inmunosupresión generalizado que deja al hospedador, indefenso frente a otras infecciones. En muchos casos la infección induce una importante activación policlonal que dispara mecanismos de control que conducen a la muerte de linfocitos activados, generando así un estado de inmunosupresión. Así, la AICD puede también afectar a linfocitos de memoria con especificidades no relacionadas que no están participando de la respuesta inmune. Ha sido recientemente reportado en un modelo de infección con el virus de la coriomeningitis linfocítica (LCMV), que células T no específicas para este virus están programadas, al igual que la células específicas, para sufrir AICD frente a un estímulo vía TCR.

Esta muerte es dependiente de la expresión de FasL en las células específicas para el virus y la expresión del receptor para INF $\gamma$  en las células vecinas no específicas. Así, esta muerte de células "por vecindad" podría ser la responsable de la falta de respuesta a antígenos de memoria no relacionados con el virus<sup>35</sup>.

Además de producir inmunosupresión, la muerte de linfocitos no específicos puede ser desfavorable para el hospedador al modificar el perfil de citoquinas en el microambiente en el cual se desarrolla la respuesta inmune. Así, durante la infección con *Schistosoma mansoni* se observa una marcada disminución de la respuesta de tipo Th1 y un aumento en la respuesta Th2. Estos cambios en la regulación de las células T han sido atribuidos a una AICD prematura de las células Th1 y afectan la respuesta tanto a antígenos parasitarios como a otros inmunógenos no relacionados<sup>36</sup>. En este sentido, GAL-1, que aumenta su expresión en el compartimento de células B y macrófagos durante la infección con *T. cruzi*, es capaz de inhibir la secreción de INF- $\gamma$  e IL-12 liberada por las células T y macrófagos respectivamente<sup>30, 31</sup>. El bloqueo de estos mediadores claves en el control de la infección podría estar favoreciendo el establecimiento y la persistencia de este parásito en el hospedador.

La apoptosis de linfocitos también pueda tener un valor positivo en la sobrevida del hospedador con una susceptibilidad genética a las infecciones, por un lado porque puede afectar células autorreactivas y por el otro porque puede eliminar linfocitos infectados controlando la replicación del patógeno (Figura 1). Se ha propuesto que la AICD mediada por Fas es importante para eliminar principalmente células reactivas con los propios que se encuentran repetidamente con el antígeno. Esta hipótesis se sustenta en el síndrome linfoproliferativo autoinmune presente en ratones con mutaciones en el gen que codifica para Fas, los cuales no presentan respuestas anormalmente prolongadas a virus o a la inmunización con antígenos extraños<sup>37, 38</sup>. Por otro lado, la inducción de apoptosis de células T autorreactivas puede ser beneficiosa considerando que las células Th1 son los blancos principales de la AICD<sup>39</sup> y que la inmunopatología causada por citoquinas Th1 puede ser letal para el hospedador infectado susceptible<sup>40</sup>.

### Apoptosis de linfocitos inducida por el agente infeccioso

Muchos patógenos expresan proteínas o mediadores que inducen apoptosis de linfocitos y de esta manera suprimen la respuesta inmune tendiente a eliminarlos. Por otro lado, ciertos microorganismos infectan a los linfocitos y manipulan la sobrevida de los mismos con diferentes objetivos. Los patógenos intracelulares pueden necesitar bloquear la apoptosis de los linfocitos que los alber-

gan con el objetivo de completar su ciclo de vida, ser transportados a sitios distantes y así incrementar sus posibilidades de sobrevivida, o pueden necesitar inducir esta apoptosis para diseminar la infección. Así, la apoptosis de linfocitos infectados por patógenos intracelulares, dependiendo de distintos factores (las características biológicas del microorganismo, el estado del ciclo celular en el que se encuentre, su localización, etc.) va a favorecer su diseminación o impedir su replicación. Por ello, no es sorprendente que tanto moléculas anti- como pro-apoptóticas hayan sido descritas como respuesta a un mismo patógeno y es posible que la expresión de estas moléculas sea regulada por el agente infeccioso de acuerdo a sus necesidades (Figura 1). Es importante destacar que los agentes infecciosos pueden inducir la apoptosis de los linfocitos de una manera indirecta a través de otras células del hospedador u orientando los mecanismos de control del sistema inmune para su propio beneficio.

Como mencionamos anteriormente, los linfocitos T de pacientes infectados con HIV son susceptibles a la muerte mediada por TRAIL. Se ha demostrado, que las células infectadas con HIV-1 liberan una forma extracelular de la proteína viral Tat, que es capaz de inducir la producción de TRAIL en macrófagos no infectados. Estas proteínas TRAIL a su vez inducen la apoptosis de los linfocitos T adyacentes, contribuyendo a los mecanismos de depleción de células T que se observa en el transcurso de la infección con HIV<sup>41</sup>.

Recientemente se ha demostrado un nuevo mecanismo de inmunoevasión del HIV a través del cual se favorece la apoptosis de las células T adyacentes, pero se evita la apoptosis de las células infectadas. La apoptosis incrementada de las células adyacentes es mediada en parte por la proteína viral Nef, que induce la expresión de FasL en las células T infectadas. Así, este FasL interactúa con Fas presente en las células vecinas tales como los linfocitos T citotóxicos específicos para el virus, induciendo su apoptosis y favoreciendo la evasión inmune. Sin embargo, debido a que el HIV-1 también induce la expresión de Fas en las células infectadas, el virus debe desplegar un mecanismo mediante el cual se evite el propicio de la célula infectada Fas<sup>+</sup>/FasL<sup>+</sup>. Esto ocurre mediante la acción de Nef que se asocia e inhibe a una kinasa clave en la señalización de la apoptosis mediada por Fas y TNF-alfa. De esta forma, Nef promueve la muerte de las células adyacentes mediante la inducción de FasL y, simultáneamente, protege a las células infectadas al interferir con la misma señal proapoptótica<sup>42</sup>.

Sin embargo, la apoptosis de linfocitos mediada por el agente infeccioso o antígenos del mismo, no sólo se ha detectado en infecciones virales. Se ha observado que pacientes con candidiasis mucocutánea crónica presentan una incrementada apoptosis de linfocitos induci-

da por los antígenos Cándida y PPD. Así, este mecanismo podría explicar la falta de respuesta proliferativa *in vitro* de los linfocitos de estos pacientes<sup>43</sup>. También se ha demostrado en modelos *in vivo* que la enzima transalidasa del *T. cruzi*, es capaz de inducir apoptosis de células en bazo, timo y ganglios periféricos. Considerando esta evidencia, esta enzima, que se encuentra en grandes cantidades en sangre durante la etapa aguda de esta infección parasitaria, podría estar involucrada en las distintas alteraciones observadas durante la misma<sup>44</sup>.

## Conclusiones

En numerosas infecciones la apoptosis puede afectar tanto a linfocitos efectores como a aquellos que albergan patógenos intracelulares y puede ser inducida por el propio sistema inmune o por el agente infeccioso. Por un lado la apoptosis de linfocitos inducida por mecanismos de control va a garantizar la homeostasis del sistema inmune y a evitar daños inmunopatológicos, y por otro va a inhibir o retardar el surgimiento de una respuesta protectora favoreciendo así el establecimiento crónico del agente infeccioso. Adicionalmente, los patógenos han desarrollado mecanismos para modular la sobrevivida de los linfocitos a su conveniencia y en muchos casos suprimir la respuesta inmune tendiente a eliminarlos.

La comprensión de los mecanismos que median la apoptosis de los linfocitos y el papel que juega esta muerte en las distintas infecciones es esencial para que, en un futuro cercano, la manipulación de la misma se convierta en una herramienta para intervenir en procesos infecciosos.

## Bibliografía

1. Lenardo M, Chan FKM, Hornung F, et al. Mature T lymphocyte Apoptosis-Immune regulation in a dynamic and unpredictable antigenic environment. *Annu Rev Immunol* 1999; 17: 221-53.
2. Van Parijs L, Abbas AK. Homeostasis and self-tolerance in the immune system: Turning lymphocytes off. *Science* 1998; 280: 243-8.
3. Earnshaw WC. Nuclear changes in apoptosis. *Curr Opin Cell Biol* 1995; 7: 337-43.
4. Baker SJ, Reddy EP. Modulation of life and death by the TNF receptor superfamily. *Oncogene* 1998; 17: 3261-70.
5. Chittenden T, Flemington C, Houghton AB, et al. A conserved domain in Bak, distinct from BH1 and BH2, mediates cell death and protein binding functions. *EMBO J*. 1995; 14: 5589-96.
6. Zha H, Aimé-Sempé C, Sato T, and Reed JC. Proapoptotic Protein Bax Heterodimerizes with Bcl-2 and Homodimerizes with Bax via a Novel Domain (BH3) Distinct from BH1 and BH2. *J Biol Chem* 1996; 271: 7440-4.
7. Bossy-Wetzel E, Green DR. Apoptosis: checkpoint at the mitochondrial frontier. *Mutat Res* 1999; 3: 243-51.

8. Boise LH, Minn AJ, Noel PJ, et al. CD28 costimulation can promote T cell survival by enhancing the expression of Bcl-XL. *Immunity* 1995; 1: 87-98.
9. Rosenzweig M, Connole M, Forand-Barabasz, et al. Mechanisms associated with thymocyte apoptosis induced by simian immunodeficiency virus. *J Immunol* 2000; 165: 3461-8.
10. Boudet F, Lecoer H, Gougeon ML. Apoptosis associated with ex vivo down-regulation of Bcl-2 and up-regulation of Fas in potential cytotoxic CD8+ T lymphocytes during HIV infection. *J Immunol* 1996; 156: 2282-93.
11. Grelli S, Campagna S, Lichtner M et al. Spontaneous and anti-Fas-induced apoptosis in lymphocytes from HIV-infected patients undergoing highly active anti-retroviral therapy. *AIDS* 2000; 14: 939-49.
12. Chang KH, Kim JM, Kim HY, et al. Spontaneous programmed cell death of peripheral blood mononuclear cells from HIV-infected persons is decreased with interleukin-15. *Yonsei Med J* 2000; 1: 112-8.
13. Rosenzweig M, Connole M, Forand-Barabasz A, Tremblay MP, Johnson RP, Lackner AA. Mechanisms associated with thymocyte apoptosis induced by simian immunodeficiency virus. *J Immunol* 2000; 165: 3461-8.
14. Baixeras E, Cebrian A, Albar JP, et al. Vaccinia virus-induced apoptosis in immature B lymphocytes: role of cellular Bcl-2. *Virus Res* 1998; 58: 107-13.
15. Zuñiga E, Motran C, Montes CL, Lopez Diaz F, Bocco JL, Gruppi A. *Trypanosoma cruzi*-induced immunosuppression: B cells undergo spontaneous apoptosis and lipopolysaccharide arrest their proliferation during acute infection. *Clin Exp Immunol* 2000; 119: 507-15.
16. Zúñiga E, Motrán C, Montes C, Gruppi A. Durante la infección con *Trypanosoma cruzi* el fratricidio de linfocitos B mediado por Fas/FasL elimina clones específicos para el parásito. Premio al mejor trabajo presentado en el VI Congreso de Argentina de Protozoología y Enfermedades Parasitarias. Huerta Grande, 25 al 28 de Octubre de 2000. *Medicina (Buenos Aires)* 2000; 60: supl III, resumen IN 153, pág 93.
17. Lopes MF, DosReis GA. *Trypanosoma cruzi*-induced immunosuppression: selective triggering of CD4+ T cell death by the T-cell receptor-CD3 pathway and not by the CD69 or Ly-6 activation pathway. *Infect Immun* 1996; 64: 1559-64.
18. Lopes MF, Nunes M P, Henriques-Pons A, et al. Increased susceptibility of Fas ligand-deficient *gld* mice to *Trypanosoma cruzi* infection due to a Th2-biased host immune response. *Eur J Immunol* 1999; 29: 81-9.
19. Lundy SK, Lerman SP, Boros DL. Soluble egg antigen stimulates T helper lymphocyte apoptosis and evidence for cell death mediated by FasL+T and B cells during murine *Schistosoma mansoni* infection. *Infect Immun* 2001; 69: 271-80.
20. Silvestris F, Grinello D, Del Prete A, Cafforio P, Quarto M, Dammacco F. Anti-Fas (CD95/Apo-1) autoantibodies and soluble Fas levels occur in T cell depletion in HIV-1 type infection. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2001; 17: 603-14.
21. Zhao YX, Lajoie G, Zhang H, Chiu B, Payne U, Inman RD. Tumor necrosis factor receptor p55-deficient mice respond to acute *Yersinia enterocolitica* infection with less apoptosis and more effective host resistance. *Infect Immun* 2000; 3: 1243-51.
22. Kremer L, Estaquier J, Wolowczuk et al. Ineffective cellular immune response associated with T-cell apoptosis in susceptible *Mycobacterium bovis* BCG-infected mice. *Inf Immun* 2000; 68: 4264-73.
23. Jeremias I, Herr I, Boehler T, Debatin KM. TRAIL/Apo-2-ligand-induced apoptosis in human T cells. *Eur J Immunol* 1998; 28: 143-52.
24. Miura Y, Misawa N, Maeda N, et al. Critical contribution of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) to apoptosis of human CD4+ T cells in HIV-1-infected human PBL-NOD-SCID mice. *J Exp Med* 2001; 193: 651-60.
25. Liu Y, Janeway CA Jr. Interferon gamma plays a critical role in induced cell death of effector T cell: a possible third mechanism of self-tolerance. *J Exp Med* 1990; 172: 1735-9.
26. Barber GN. The interferons and cell death: guardians of the cell or accomplices of apoptosis? *Semin Cancer Biol* 2000; 10: 103-11.
27. Liesenfeld O, Kosek JC, Suzuki Y. Gamma interferon induces Fas-dependent apoptosis of Peyer's patch T cells in mice following peroral infection with *Toxoplasma gondii*. *Infect Immun* 1997; 65: 4682-9.
28. Dalton DK, Haynes L, Chu CQ, Swain SL, Wittmer S. Interferon  $\gamma$  eliminates responding CD4 T-Cells during mycobacterial infection by inducing apoptosis of activated CD4 T-Cells. *J Exp Med* 2000; 192: 117-22.
29. Rabinovich GA. Galectins: an evolutionarily conserved family of animal lectins with multifunctional properties; a trip from the gene to clinical therapy. *Cell Death Differ* 1999; 6: 711-21.
30. Zuñiga EI, Rabinovich GA, Iglesias MM, Gruppi A. Regulated expression of galectin-1 during B-cell activation and implications for T-cell apoptosis. *J Leukoc Biol* 2001; 70: 73-9.
31. Zuñiga EI, Gruppi A, Hirabayashi J, Kasai KI, Rabinovich GA. Regulated expression and effect of Galectin-1 on *Trypanosoma cruzi*-infected macrophages. Modulation of the microbicidal activity and survival. *Infect Immun* 2001; 69: 6804-12.
32. Nunes MP, Andrade RM, Lopes MF, Dos Reis GA. Activation-induced T cell death exacerbates *Trypanosoma cruzi* replication in macrophages cocultured with CD4+T lymphocytes from infected host. *J Immunol* 1998; 160: 1313-9.
33. Hirunpetcharat C, and Good MF. Deletion of *Plasmodium berghei*-specific CD4+ T cells adptively transferred into recipient mice after challenge with homologous parasite. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 1715-20.
34. Raftery MJ, Behrens CK, Muller A, et al. Herpes simplex virus type 1 infection of activated cytotoxic T cells: Induction of fratricide as a mechanism of viral immune evasion. *J Exp Med* 1999; 190: 1103-14.
35. Zarozinski CC, McNally JM, Lohman BL, Daniels KA, Welsh RM. Bystander sensitization to activation-induced cell death as a mechanism of virus-induced immune suppression. *J Virol* 2000; 8: 3650-8.
36. Kalinkovich A, Weisman Z, Greenberg Z, et al. Decreased CD4 and increased CD8 counts with T cell activation is associated with chronic helminth infection. *Clin Exp Immunol* 1998; 114: 414-21.
37. Van Parijs L, Peterson DA, Abbas AK. The Fas/Fas Ligand pathway and Bcl-2 regulate T cell responses to model self and foreign antigens. *Immunity* 1998; 8: 265-74.
38. Welsh RM, Selin LK, Razvi ES. Role of apoptosis in the regulation of virus-induced T cell responses, immune suppression, and memory. *J Cell Biochem* 1995; 2: 135-42.
39. Zhang X, Brunner T, Carter, L et al. Unequal death in T helper (Th) 1 and Th2 effectors: Th1, but not Th2, effectors undergo rapid Fas/FasL-mediated apoptosis. *J Exp Med* 1997; 185: 1837-41.
40. Hunter CA, Ellis-Neyes LA, Slifer T, et al. IL-10 is required to prevent immune hyperactivity during infection with *Trypanosoma cruzi*. *J Immunol* 1997; 158: 3311-6.

41. Zhang M, Li X, Pang X, et al. Identification of a potential HIV-induced source of bystander-mediated apoptosis in T cells: upregulation of trail in primary human macrophages by HIV-1 tat. *J Biomed Sci* 2001; 8: 290-6.
42. Geleziunas R, Xu W, Takeda K, Ichijo H, Greene W.C. HIV-1 Nef inhibits ASK1-dependent death signalling providing a potential mechanism for protecting the infected host cell. *Nature* 2001; 410: 834-8.
43. De Moraes-Vasconcelos D, Orii NM, Romano CC, Iqueoka RY, Duarte AJ. Characterization of the cellular immune function of patients with chronic mucocutaneous candidiasis. *Clin Exp Immunol* 2001; 123: 247-53.
44. Leguizamon MS, Mocetti E, Garcia Rivello H, Argibay P, Campetella O. Trans-sialidase from *Trypanosoma cruzi* induces apoptosis in cells from the immune system in vivo. *J Infect Dis* 1999; 180: 1398-402.

-----

*Neither the prestige of your subject and  
The power of your instruments,  
Nor the extent of your learnedness and  
The precision of your planning  
Can substitute for  
The originality of your approach and  
The keenness of your observation.*

Ni el prestigio de tu tema y  
El poder de tus instrumentos  
Ni la extensión de tus conocimientos y  
La precisión de tus planes  
Podrán jamás reemplazar  
La originalidad de tu enfoque y  
La agudeza de tu observación

Hans Selye (1907-1982)

*Emblema de su laboratorio*