

Receptores celulares, interferón y apoptosis en la resistencia natural a las infecciones virales

Albeiro López, Zoot, MV; Ana E Arango, Bact, MSc; Jorge E Ossa, MV, MS, PhD.

Grupo de investigación Inmunovirología-Biogénesis, Sección de Virología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, AA 1226 Medellín, Colombia.

(Recibido 11 diciembre, 99; aceptado 17 enero, 2000)

Resumen

Algunos huéspedes vertebrados tienen la capacidad de contrarrestar las infecciones virales por medio de mecanismos que son entendidos como de resistencia natural. Estos mecanismos hacen parte de la inmunidad innata o de la adquirida y comprenden procesos como apoptosis, interacción virus-receptor, síntesis de moléculas como interferón y óxido nítrico y otros mecanismos como los mediados por el Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) o la capacidad de las células asesinas naturales (NK) para reconocer la célula infectada. En esta revisión vamos a referirnos a los mecanismos de resistencia de los huéspedes a infecciones virales, en los que la apoptosis, el interferón y los receptores celulares, juegan un papel protagónico.

Palabras Clave: Factor de necrosis tumoral, Proteína Mx, Proteínkinasa R, 2-5 Oligoadenilatosintetasa.

Introducción

Tradicionalmente, los mecanismos de defensa de los huéspedes se han clasificado en innatos y adquiridos; los primeros se refieren a las barreras naturales como la piel, mucosas, enzimas, pH, fagocitosis, células asesinas naturales, etc. y los segundos se refieren a la inmunidad propiamente dicha como es el caso de los anticuerpos y la inmunidad celular.

Según Templeton y colaboradores (30) «La resistencia natural se refiere a la capacidad inherente de un individuo para contrarrestar la enfermedad, sin previa exposición o inmunización con un patógeno y donde el mayor componente de esta característica es heredable y establemente transmitido de los padres a la prole». Algunos de los genes involucrados en estos mecanismos de resistencia natural se localizan en el CMH y en este caso están asociados a una mayor actividad de los mecanismos inmunológicos, o sea

de la resistencia adquirida; otros de éstos genes están por fuera del CMH y corresponden a la categoría de resistencia innata.

El concepto de resistencia natural ha sido estudiado desde la primera mitad del siglo XX cuando Webster demostró el fenómeno en ratones infectados con el virus de la fiebre amarilla; este investigador observó que la resistencia natural a este agente viral tenía un patrón de herencia mendeliana y de esta manera abrió el campo de la resistencia natural que, en la actualidad, es tema muy prevalente de investigación es enfermedades infecciosas del hombre, los animales y las plantas.

Hasta ahora se conocen varios genes de resistencia contra agentes infecciosos y contra virus en particular. En ratones ya se han localizado algunos de estos genes y esto ha acelerado la búsqueda exitosa de genes homólogos en otros mamíferos incluido el hombre.

Para la discusión de la resistencia natural a las infecciones virales podríamos dividir el tema según los seis mecanismos mayores de acción de los genes involucrados hasta ahora, así: Resistencia mediada por receptores, por interferón, por apoptosis, por CMH, por Células NK y por óxido nítrico. En esta revisión analizaremos el caso de los mecanismos de resistencia involucrados en las tres primeras categorías.

1. Receptores celulares y resistencia a infecciones virales.

La presencia o ausencia del receptor sobre la membrana plasmática es un determinante fundamental de la susceptibilidad de un huésped a una infección viral. Todos los virus exhiben algún grado de especificidad de huésped y de tejido (tropismo), ya que el primer requerimiento para que ocurra la infección de una célula es una complementariedad entre las moléculas de adherencia viral (ligandos) y el receptor celular, para que los procesos de penetración, desnudamiento y replicación del virus puedan tener lugar. De los muchos estudios de resistencia a infecciones virales, por la falta de expresión de los receptores celulares se destacan las investigaciones realizadas con las siguientes familias virales:

Retrovirus. El caso del Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es quizás el modelo de resistencia por ausencia de receptor más completamente estudiado. Este lentivirus utiliza diversas clases de células para su multiplicación, la mayoría de ellas pertenecientes al sistema inmune y todas ellas expresan en su membrana la glicoproteína CD4 que opera como receptor del virus. La molécula CD4 es particularmente abundante en los linfocitos T ayudadores (linfocitos CD4+), y justamente son estas las células que mueren por causa de la infección, si bien los mecanismos de muerte no se han aclarado (8).

El VIH se puede aislar en todo momento del individuo infectado y lo más significativo es que el virus aislado en las fases tardías difiere del encontrado en las etapas tempranas de infección en dos aspectos principalmente: El virus tardío induce fusión (sincitios) de células *in vitro*, a estas cepas se les llama SI o sincitio inductoras y el virus aislado temprano no es inductor de sincitios (NSI), adicionalmente las cepas NSI a diferencia de las SI pueden crecer en líneas celulares derivadas de macrófagos pero no en líneas de linfocitos

y por esto se les conoce como «M-trópicas» y «T-trópicas» respectivamente. Ambos tipos de cepas pueden crecer en células primarias CD4+ recién obtenidas de sangre periférica (8).

Además se sospechaba de la existencia de un segundo receptor (correceptor) para el VIH ya que la molécula CD4 sola no era suficiente para permitir la penetración del virus a la célula. En 1996 se descubrió que existían al menos dos moléculas diferentes que operaban como segundo receptor; una de ellas, la CCR5, permite la penetración de las cepas M-trópicas, mientras que otra, la CXCR4 (también llamada fusina o lester), lo hace para las cepas T-trópicas (3,8,12). CCR5 y CXCR4, ahora conocidas como «correceptores» del VIH, son proteínas de membrana presentes en diversos tipos de células en las cuales, normalmente, operan como receptores para citoquinas de acción quimiotáctica o quimioquinas. Ambos tipos de correceptores pertenecen a una superfamilia de proteínas de membrana, cuya característica fundamental es la de presentar siete segmentos transmembranales (8,12).

Cuando se hizo el descubrimiento del correceptor CCR5, otros investigadores estudiaban un grupo de 28 personas que permanecían seronegativas para VIH a pesar de haber tenido múltiples contactos sexuales no protegidos con personas infectadas por este virus. Al tratar de infectar los linfocitos CD4+ de estos individuos con cepas M-trópicas de VIH encontraron que, en dos casos, las células eran refractarias a la infección. Sin embargo, las mismas células de estos dos individuos se infectaban fácilmente con cepas T-trópicas (8,12). Esta resistencia selectiva a un solo fenotipo viral (M-trópicas, NSI) unida al descubrimiento de los correceptores, llevó a pensar que las dos personas cuyas células eran resistentes a la infección podían tener una alteración en la molécula CCR5 que impedía la entrada del virus a la célula. Efectivamente, al secuenciar el gen que codifica la proteína CCR5, en los dos individuos se encontró una mutación consistente de una delección de 32 pares de bases, lo que generaba un desplazamiento en el marco de lectura y una terminación prematura en la cadena polipeptídica. Este receptor alterado ($\Delta 32$) no se expresa en la membrana plasmática celular, esto explica la imposibilidad de las cepas M-trópicas para infectar las células (3,8,12).

Al estudiar este gen en los padres de los individuos que tenían la mutación mencionada se encontró que

expresaban tanto el gen normal (CCR5), como el mutado ($\Delta 32$), o sea que eran heterocigóticos, mientras que las dos personas cuyas células eran resistentes solo presentaban el gen alterado. Se pudo establecer entonces que estos genes se comportan como alelos que se heredan con un patrón mendeliano típico y que pueden generar tres genotipos: Homocigótico con alelos normales (CCR5/CCR5), homocigótico con los alelos mutados ($\Delta 32/\Delta 32$) y heterocigóticos (CCR5/ $\Delta 32$) (8). El alelo mutante de CCR5, $\Delta 32$, está presente en ~11% de la población caucásica; ~1% de esta población es homocigótica para $\Delta 32$ y altamente (pero no absolutamente) resistente a la infección con HIV-1(3).

Otro ejemplo de resistencia estudiada en un grupo de retrovirus, es la del variado grupo de virus de leucemia murina (MuLV) que infecta a sus células huésped por interacción con distintos receptores en la membrana plasmática. Los MuLV ecotrópicos que infectan solamente células de ratón, usan como receptor el transportador de aminoácido catiónicos CAT1; los MuLV anfortrópicos que infectan células de ratón y de otras especies, emplean como receptor PIT-2 que es una molécula transportadora de fosfatos (el virus anfortrópico recombinante 10A1 también puede emplear PIT-2 que es una variante alélica de PIT-1); los ratones tienen un cuarto receptor para MuLV llamado Rmc1 usado por el subgrupo de virus politrópicos o recombinantes inductores de sitios de infección en células de visión (MCFV) (24).

Se han notado algunas diferencias en susceptibilidad a la infección por MuLV exógenos en cepas endogámicas y silvestres de ratones, y estas diferencias son mediadas por la interacción virus-receptor. La resistencia de células de ratones *Mus dunni* a virus ecotrópico Maloney ha sido atribuida a variación alélica en el receptor ecotrópico CAT1; por otro lado la resistencia a los virus ecotrópicos de los ratones *Mus castaneus* y *Mus molossinus* es debida a la expresión constitutiva de glicoproteínas env (glicoproteínas de envoltura) del virus de Friend ecotrópico FV4 endógeno, esta expresión interfiere con la unión de virus exógenos, debido a que la glicoproteína env se encuentra ocupando el receptor. El ratón asiático *Mus castaneus* es, además, resistente a la infección por el subgrupo politrópico MCFV y se demostró que esta resistencia es gobernada por un solo gen recesivo ubicado en o cerca al gen que codifica por el receptor

viral politrópico, Rmc1. Esta herencia recesiva, por su localización en el mapa genómico, sugiere que *Mus castaneus* lleva una variación alélica de Rmc1 que carece de función como receptor para el virus (24).

Coronavirus. Otra familia viral para la que se ha estudiado la resistencia por la falta de expresión del receptor es la Coronaviridae y el modelo es el virus de la hepatitis murina (VHM). Este es un virus RNA, envuelto, y distantemente relacionado con los coronavirus entéricos y respiratorios humanos. Todas las cepas de VHM utilizan proteínas de la subfamilia de glicoproteínas biliares (Bgp) como receptor principalmente, la isoforma Bgp1. La cepa de ratones SJL es altamente refractaria a la infección por VHM (Hv-2^r), y esto se explica porque estos ratones expresan un alelo Bgp1^b que contiene secuencias divergentes en el dominio N terminal de unión del virus, particularmente en los residuos 38-43, lo que disminuye significativamente la afinidad por el VHM(3). La genética mendeliana de resistencia a los efectos letales de VHM, en cruces entre ratones SJL (Hv-2^r) y varias cepas de ratones susceptibles (Hv-2^s), indican que un solo gen controla esta resistencia (2).

Picornavirus. La estructura tridimensional del virus de la fiebre aftosa (VFA), un miembro de la familia Picornaviridae, revela una protrusión en la superficie, generada por un asa entre las cadenas βG y βH de la proteína VP1 de la cápside (asa G-H) (17). Esta asa contiene una secuencia altamente conservada Arginina-Glicina-Acido Aspártico (R-G-D), la cual ha mostrado ser esencial para las interacciones del virus y su receptor que es una integrina (19). El clivaje en el asa G-H del VP1 de la cápside impide la adhesión a la célula, lo que sugiere que esta es importante para la unión al receptor. Péptidos sintéticos que contienen R-G-D, pueden competir con el virus por la unión a las células, y reducen la infectividad (17).

La resistencia de algunas líneas celulares al VFA fue demostrada por Neff y colaboradores en 1998 (19). Ellos demostraron que el receptor para el VFA silvestre es la integrina $\alpha_v\text{-}\beta_3$ bovina y que las líneas celulares que no expresan esta proteína en su membrana plasmática son resistentes a la infección por virus silvestres del serotipo A y O, pero que los virus del serotipo O, adaptados al laboratorio, utilizan como receptor el Heparán sulfato para infectar sus células huésped.

2. Interferón y resistencia a infecciones virales.

La palabra interferón (IFN) está originalmente basada en la acción biológica de esta citoquina que es interferir con la replicación de los virus, actividad que permitió su descubrimiento. El IFN fue reconocido en el curso de estudios sobre interferencia con virus, como un producto de células de embrión de pollo infectadas con virus de influenza capaz de inducir resistencia a la infección con virus homólogos o heterólogos (32).

Clases de Interferón. Después de muchos años de investigación sobre el IFN y sus muy complejas funciones, se descubrió que no se trataba de una proteína única. Hoy los IFNs se dividen en dos clases según la célula que los secreta. Los IFN tipo I, que pueden ser α , β , τ o ω , son secretados por cualquier célula infectada por un virus; el IFN tipo II, o IFN γ , es secretado por células derivadas del timo bajo ciertas condiciones de activación, y por células NK(1).

IFN tipo I. Los miembros de la superfamilia IFN α/β o IFN tipo I representan las moléculas prototipo de IFN; ellos se subdividen en 4 familias: IFN α , IFN β , IFN τ y IFN ω . Todos los genes y proteínas que comprenden esta familia están relacionados estructuralmente, el miembro más divergente es el IFN β (conocido como IFN de los fibroblastos) que tiene un 20-30% de homología aminoacídica con los miembros de la familia del IFN α y cerca de 45% de homología en la secuencia de DNA codificante (29).

Todas la especies animales tienen grandes subfamilias de IFN α , pero expresan solamente un gen para IFN β , con excepción de los ungulados (vacas, cerdos y caballos), con cerca de cinco genes de IFN β interrelacionados (7).

Todos los IFN tipo I, compiten por unión al mismo receptor y en la mayoría de los sistemas experimentales ellos, generalmente, ejercen actividades biológicas similares, incluyendo efectos inhibitorios múltiples sobre la multiplicación de los virus (22). Parece que en el organismo el significado biológico relativo de los miembros individuales de la superfamilia IFN α/β está determinado primariamente por el sitio y magnitud de producción antes que por sus propiedades fundamentales intrínsecas o sus características estructurales (32)

IFN tipo II. El IFN tipo II no tiene homología estructural con los IFN tipo I y aunque se unen a recep-

tores celulares distintos en la superficie celular, la ruta de la señal de transducción activada por el IFN α/β y el IFN γ se sobrelapan parcialmente, esto explica por qué muchos genes estructurales son activados por ambos tipos de IFN (23).

Aunque originalmente se definió como un agente con actividad antiviral directa, las propiedades del IFN γ incluyen regulación de varios aspectos de la respuesta inmune, estimulación de la actividad bactericida de fagocitos, estimulación de la presentación de antígenos a través de moléculas del CMH clase I y clase II, orquestación de interacciones endotelio-leucocitos, efectos sobre proliferación de células y apoptosis, así como estimulación y represión de una variedad de genes (1).

Inducción de la síntesis de IFN. IFN tipo I. La síntesis de IFN α o IFN β puede ser inducida en casi todos los tipos de células; la infección con virus es la causa biológica más común de la inducción de IFN, aunque otros agentes tales como bacterias, micoplasmas y protozoos o algunos de sus constituyentes pueden inducir la síntesis de IFN en ciertos tipos de células, especialmente en células fagocíticas mononucleares (32).

La inducción viral de IFN I es mediada por dsRNA (RNA de doble cadena); este no es un constituyente usual de células no infectadas pero es producida durante la replicación de muchos virus RNA y DNA, como un intermediario obligatorio o como un producto de la replicación viral. La inhibición de síntesis de proteínas causa superinducción de síntesis de mRNA de IFN, presumiblemente por bloqueo de la síntesis de proteínas represoras putativas que son coinducidas con IFNs. La inducción de IFN es también aumentada por pretratamiento de células con IFN un fenómeno llamado *priming* (32).

IFN tipo II. La síntesis de IFN γ esta restringida a los linfocitos T y células NK. En general, agentes que promueven la activación de células T inducen la síntesis de IFN γ . En el organismo la producción de IFN γ es estimulado por antígenos frente a los cuales el individuo ha sido presensibilizado. La infección con bacterias y protozoos lleva a la estimulación de la producción temprana de IFN γ en los procesos infecciosos, la cual es mediada por IL12 derivada de monocitos-macrófagos; esta IL12 actúa sobre las células NK y los linfocitos T para promover la síntesis de IFN γ .

Se ha demostrado la estimulación de la producción de IFN γ durante la infección con virus, pero no es claro si en este caso, la producción de IFN γ es mediada por IL12 o basada en la estimulación antigénica específica (32).

Rutas de resistencia antiviral inducidas por IFN.

El efecto antiviral de los IFNs posee las siguientes características (32):

- Diferentes proteínas inducidas por IFN, inducen mecanismos antivirales diferentes.
- Productos virales tales como dsRNA son indispensables para el funcionamiento de algunas de estas rutas antivirales.
- La inhibición de la replicación de diferentes familias de virus, pueden ser mediada por diferentes rutas antivirales.
- En una célula tratada con IFN, pueden ser inhibidos uno o más pasos del ciclo de vida de los virus (penetración viral, desnudamiento, transcripción de mRNA viral, traducción de proteínas virales, replicación del genoma viral, ensamble y liberación de la progenie viral)

Las acciones antivirales directas de los IFNs han sido atribuidas principalmente a la inducción transcripcional de tres genes; estos son los genes que codifican para la proteína Mx, la 2'-5' oligoadenilato sintetasa (2-5(A) sintetasa) y la Proteinkinasa activada por RNA de doble cadena (PKR) (1, 32), como veremos a continuación:

Proteína Mx. El gen Mx1 murino codifica por la proteína Mx1 la cual regula la resistencia a las enfermedades causadas por el virus de influenza A y B. Este es el gen de resistencia más estudiado y ha sido localizado, clonado y secuenciado, además, se conoce la proteína para la que codifica. El mecanismo exacto por el cual se inhibe la replicación del virus de la influenza no ha sido determinado pero parece involucrar unión a GTP, actividad GTPasa y cremalleras de leucina. Mx es una proteína inducible por IFN α y β pero no por IFN γ (3,25,32).

Las proteínas Mx1 murinas son nucleares e inhiben la replicación del virus de la influenza y de virus de estomatitis vesicular (VSV), mientras Mx2

citoplasmática inhibe solamente VSV (32). Solamente tres cepas de ratones (A26, SL/NLA y T9) expresan la forma antiviral de la proteína Mx, otros ratones presentan deleciones en el gen Mx que resultan en proteínas truncadas desprovistas de su actividad antiviral. De otro lado, la proteína MxA humana se localiza en el citoplasma y presenta una especificidad de virus un poco más amplia que Mx1, inhibiendo la replicación del virus de la Influenza, VSV, Sarampión y Rhabdovirus (3,21).

Ruta 2-5(A) sintetasa/RNasa L. Los IFNs inducen la síntesis de la familia de enzimas 2-5(A) sintetasa, la cual permanece inactiva en ausencia del cofactor dsRNA. En presencia de este cofactor, las 2-5(A), polimerizan ATP en cadenas de 2'-5' oligoadenilatos con la fórmula pppA(pA)_n, donde n está entre 1 y 4 (13,23,27). Este a su vez activa la ribonucleasa L (RNasa L) presente en forma inactiva en todas las células de mamíferos, la cual degrada RNA viral y celular de cadena simple que funciona como mRNA (RNA mensajero) (figura 1) y genera un patrón de degradación característico de rRNA (RNA ribosomal), inhibiendo de esta manera la síntesis de proteínas y en consecuencia la replicación viral (4,27,32,34).

La ruta 2-5(A) sintetasa/RNasa L es responsable de la inhibición de la replicación de picornavirus en células tratadas con IFN (32). La activación de la 2-5(A) sintetasa inducida por IFN es potenciada por el dsRNA viral producido como intermediario de la replicación de los picornavirus (32,34).

En células infectadas con virus de encefalomiocarditis (EMCV) tratadas con IFN se demostró la acumulación de 2-5(A) y la resultante degradación de RNA, así que hay evidencia para concluir que la ruta 2-5(A) sintetasa/RNasa L es la mayor o quizás la única vía que es fisiológicamente usada por el sistema IFN para inhibir la replicación de picornavirus (7,11,32).

Las 2-5(A) sintetasa son proteínas de diferentes peso molecular codificadas por tres grupos de genes inducibles por IFN. Los miembros de la familia más pequeña tienen pesos moleculares entre 40 a 46 KD; algunas de las isoenzimas de esta familia son codificadas por diferentes genes, mientras otras son el producto del mismo gen, cuyo mRNA sufre splicing alternativo; las 2-5(A) sintetasa de tamaño medio (69 KD) son el producto de mRNAs de un mismo gen con splicing alternativo y las de la familia grande tienen un

peso molecular cercano a 100 KD y su mRNA es codificado por un tercer grupo de genes que son activados por concentraciones más bajas de dsRNA que las otras isoenzimas (26, 32). Se cree que las isoenzimas pequeñas funcionan como tetrámeros, las medianas como dímeros y las grandes como monómeros (13).

PKR. Es también conocida como kinasa P68, P1, DAI, dsI o kinasa eIF-2, es una serina-treonina kinasa con dos actividades kinasas distintas: autofosforilación y fosforilación de sustratos (32). La activación de PKR por dsRNA (intermediario de la replicación viral) resulta en la autofosforilación sobre varios residuos de serina y treonina, el mismo efecto se puede obtener con polianiones como la Heparina (1,14,26,32). Después de la activación por autofosforilación, la enzima fosforila la subunidad α del factor 2 de iniciación eucariótico (eIF2) en la serina 51, evitando la generación de eIF2-GDP e inhibiendo así la síntesis de proteínas (Véase Figura 1) (1,32).

PKR es expresada a niveles constitutivos relativamente bajos en muchos tipos de células; es inducido por interferón tipo I y tipo II (1). Las líneas celulares que sobreexpresan PKR inhiben la replicación de virus de encefalomiocarditis (EMCV) y virus de vaccinia, pero no de VSV (16,18).

Los pasos de la multiplicación viral que son afectados por las diferentes rutas inducidas por IFNs, identificados para varias familias de virus, se muestran en la Tabla 1.

3. Apoptosis y resistencia a infecciones virales.

La apoptosis es un proceso dependiente de energía que se da en respuesta a una diversidad de estímulos. Este proceso se distingue por características morfológicas y bioquímicas incluyendo disminución del tamaño de la célula, plegamiento de la membrana citoplasmática, condensación de la cromatina, clivaje intranucleosomal del DNA y por último fragmentación de la célula en cuerpos apoptóticos los cuales son fagocitados sin provocar respuesta inflamatoria (31). La apoptosis es genéticamente controlada y tiene importancia en el desarrollo embrionario y en la homeostasis de tejidos adultos, pues es necesaria para la formación y mantenimiento de la forma del cuerpo (20,28). La apoptosis también es importante como mecanismo de protección mediante la eliminación de células que pueden causar daño; por ejemplo células con mutaciones después de una irradiación o injuria química, células autorreactivas o células infectadas por virus (4,20, 31).

En muchos virus se han detectado mecanismos para bloquear la apoptosis en las células del huésped; por ejemplo la proteína E7 de algunos papilomavirus se une a p53 inactivándola y crmA una proteína de poxvirus bloquea la apoptosis por interacción con la proteasa ICE (enzima convertidora de IL-1 β) (4,20,28). Estos mecanismos virales para bloquear la apoptosis apoyan la hipótesis de que este es un sistema de resistencia de la célula huésped a la infección viral, pues su efecto neto es la inhibición de la producción de la nueva progenie viral (4,6).

Tabla 1. Pasos de replicación viral inhibidos por rutas inducidas por IFN (30).

Paso afectado	Virus inhibido	Ruta responsable
Penetración y desnudamiento	SV40, Retrovirus	Desconocida
Transcripción	Influenza, VSV, HSV Picornavirus, reovirus y vaccinia	Proteína Mx. Ruta 2-5(A)
Traducción	Reovirus, Adenovirus, Vaccinia, VSV, influenza	PKR
Maduración, Ensamble y Liberación	Retrovirus, VSV, HSV	Desconocida

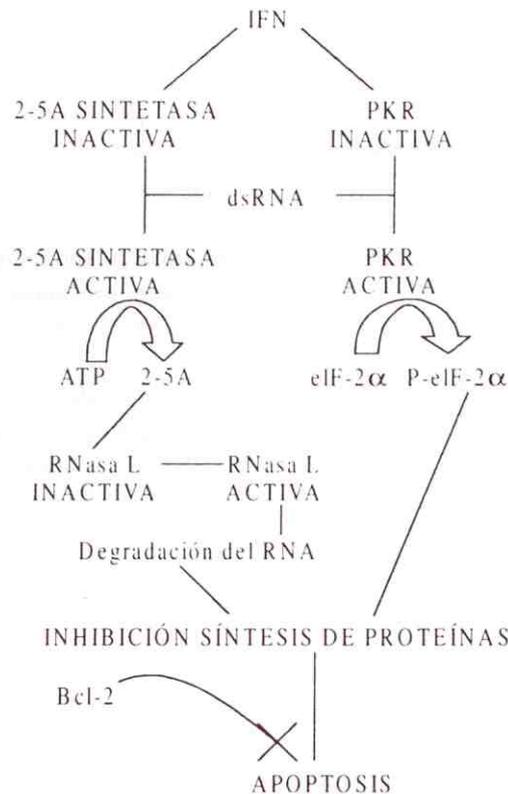


Figura 1. Modelo de activación de apoptosis por enzimas inducidas por IFN. Adaptado de Díaz-Guerra y colaboradores 1997 (9).

El primer gen regulador de muerte celular aislado fue el oncogen Bcl-2, que codifica una proteína antiapoptótica (pero tiene homólogos proapoptóticos). Los miembros de la familia de proteínas Bcl-2 y la proteína p53, son requeridos para llevar a cabo las diferentes rutas del suicidio activando, en la mayoría de los casos, un miembro de la familia de las caspasas (Cisteínas proteasas específicas de aspartato, semejantes a ICE) que clivan proteínas y destruyen la estructura de la célula. Estas enzimas son las efectoras esenciales que ejecutan la fase de la apoptosis en células de mamíferos, nemátodos e insectos. En algunos casos se ha determinado que existe un balance dinámico entre los miembros de la familia Bcl2 que promueven e inhiben la apoptosis (28,31).

Los vertebrados superiores han desarrollado dos mecanismos mayores para el control, por medio de apoptosis, de las infecciones por virus; uno modulado por la respuesta inmune, y el otro autónomo de la célula. En el primero, los péptidos virales son presentados en la superficie de la célula por moléculas del CMH de clase I, estas moléculas son reconocidas por células T

citotóxicas, las cuales pueden inducir la apoptosis de la célula infectada ya sea por medio de granzimas o FAS ligando; mientras que en el segundo, la célula infectada sufre una activación del ciclo celular inducida por proteínas virales y esto conduce a un proceso de suicidio o apoptosis (20). Un posible mecanismo por medio del cual la célula infectada reconoce la activación anormal del ciclo celular inducida por proteínas virales y lo diferencia de la acción de los factores de crecimiento fisiológicos, es que estos últimos poseen una doble función y su señal incluye la activación del ciclo celular y la supresión de los componentes que inducirían apoptosis; mientras que proteínas virales como E1A de adenovirus, E7 de papilomavirus 16 Humano y el antígeno T grande de SV40 solo tienen la función de activación del ciclo celular, y no son capaces de promover las señales supresoras de la apoptosis, función que debe ser hecha por una segunda proteína viral (10,20).

IFN y Apoptosis. La actividad ribonucleasa se ha asociado frecuentemente con apoptosis independiente de caspasas, pero la ribonucleasa responsable de este

evento bioquímico se desconocía desconocida hasta hace poco cuando se propuso que la RNasa L es la responsable de este patrón de apoptosis (5).

Como se describió en el aparte 2.3.2 el IFN puede conferir resistencia a infecciones virales por la inducción del sistema 2-5A, compuesto por oligoadenilatosintetasa y RNasa L en los modelos de replicación del virus de encefalomiocarditis, mengovirus, reovirus y virus de vaccinia. El rRNA (RNA ribosomal) es degradado después de la inducción del sistema 2-5A en la defensa del huésped contra infecciones virales, y durante el proceso de apoptosis, con un patrón de clivaje selectivo similar en las regiones ricas en uridina (4).

Castelli y colaboradores (4,5,6) quisieron averiguar el papel de la RNasa L que actúa en el sistema 2-5A en el proceso de apoptosis independiente de caspasas, y el resultado de sus trabajos involucra la RNasa L en la mediación de la actividad antiviral de IFN a través de la regulación de apoptosis de la célula huésped, además demostraron que la inhibición de la actividad de RNasa L bloquea la apoptosis inducida por estaurosporina (inhibidor de proteinquinas de amplio espectro) en células NIH3T3 y células BALB/c transformadas por SV40.

En esos estudios, se llegó a la conclusión de que la RNasa L es requerida para ciertas rutas de apoptosis y que esta puede mediar apoptosis inducida por virus en células de mamíferos (5,6); a la misma conclusión habían llegado Díaz-Guerra y sus colaboradores (9) trabajando con virus de vaccinia mutante (ts22) y silvestre, en presencia de la droga antipoxvirus isatin- β -thiosemicarbazona (esta droga incrementa significativamente la cantidad de dsRNA durante la infección tardía).

Considerando los resultados de su investigación Díaz-Guerra y sus colaboradores (9) sugieren que el modelo para la apoptosis producida por enzimas inducidas por IFN es como se muestra en la figura 1. La activación de RNasa L o PKR por dsRNA (producto frecuente en la replicación de algunos virus) puede llevar a la inhibición de la síntesis de proteínas por dos mecanismos independientes y resulta en la inducción de muerte por apoptosis. Además la idea de que las rutas de resistencia inducidas por IFN, 2-5A y PKR, convergen en el mismo punto después de la inhibición de la síntesis de proteínas se ve favorecida porque Bcl-2 puede prevenir apoptosis inducida por la activación de PKR (21) y por la activación de RNasa L (9).

Factor de necrosis tumoral y Apoptosis. Otra citoquina a la que se le ha demostrado capacidad inductora de apoptosis, como respuesta a la infección viral, es el Factor de Necrosis Tumoral (TNF). Casi todos los tipos de células expresan receptores para TNF en su superficie; después de la unión a su receptor, el TNF puede activar señales de transducción para inducir efectos biológicos pleiotrópicos, que incluyen: apoptosis, actividad antiviral y activación del factor de transcripción NF- κ B (15).

La replicación del VSV en células Hela fue inhibida por el tratamiento de las células con TNF. Al analizar la cinética de replicación del virus y la inducción de apoptosis en estas células tratadas con TNF, se observó que el efecto antiviral inducido por TNF esta acompañado por una rápida inducción de apoptosis en las células después de la infección y que la reducción de la progenie viral por el tratamiento con TNF es dependiente de dosis, además, en estas células tratadas e infectadas con VSV, el virus induce apoptosis una hora antes que en células no tratadas (15).

Summary

Cellular receptors, interferon and apoptosis in natural resistance to viral infections

Some vertebrate hosts have the capacity to counteract viral infections by means so called mechanisms of natural resistance against viral infections. These mechanisms make part of the innate or acquired immunity and include processes like apoptosis, virus-receptor interactions, synthesis of molecules such as interferon and nitric oxide and other mechanisms mediated by the MHC phenotype or the capacity of natural killer cells to recognize the infected cell. In this review we will discuss host resistance to viral infections through apoptosis, interferon and viral-receptor interactions.

Key Words: Tumoral necrosis factor, Protein Mx, Protein kinase R, 2-5 oligoadenilatosintetase

Referencias

1. Boehm O, Klamp T, Groot M and Howard C. Cellular Responses to Interferon γ . Annual Review of Immunology. 1997; 15: 749-795.
2. Brinton M and Nathanson N. Genetics Determinants of Virus Susceptibility: Epidemiology Implications of Murine Models. Epidemiology Review. 1981; 3: 115-139.
3. Brownstein DG. Comparative Genetics of Resistance to Viruses. American Journal Of Human Genetics. 1998; 62: 211-214.
4. Castelli J, Hassel B, Maran A et al. The Role of 2'-5' Oligoadenylate-Activated Ribonuclease L in Apoptosis. Cell death and Differentiation. 1998; 5: 313-320.
5. Castelli J, Hassel B, Wood K, et al. A Study of the Interferon Antiviral Mechanism: Apoptosis Activation by the 2-5A System. Journal Experimental Medicine. 1997; 186: 967-972.
6. Castelli J, Wood K, and Youle R. The 2-5A System in Viral Infection and Apoptosis. Biomed and Pharmacother. 1998; 52: 386-390.
7. Chebath J, Benech P, Revel M and Vigneron M. Constitutive Expression of (2'-5') Oligo A Synthetase Confers Resistance to Picornavirus Infection. Nature. 1987; 330: 587-588.
8. Díaz F. Resistencia al Virus de la Inmunodeficiencia Humana y al Sida. Tópicos Selectos de Infectología. 1998; 175-182.
9. Diaz-Guerra M, Rivas C and Esteban M. Activation of the IFN-Inducible Enzyme RNase L Causes Apoptosis of Animal Cells. Virology. 1997; 236: 354-363.
10. Eick D and Hermeking H. Viruses as Pacemakers of Defense mechanisms against cancer. Trends in Genetics. 1996; 12: 4-6.
11. Hassel B, Zhou A, Sotomayar C, Marin A, and Silverman R. A dominant Negative Mutant of 2-5 A-dependent RNase Suppresses Antiproliferative and Antiviral Effects to Interferon. EMBO Journal. 1993; 12: 3297-3304.
12. Hill C and Littman D. Natural Resistance to HIV?. Nature. 1996; 382: 668-669.
13. Hovanessian A. Interferon-induced And Double - Stranded RNA-Activated Enzymes: A Specific Protein Kinase and 2'-5' Oligoadenylate Synthetases. Journal Interferon Research. 1991; 11: 199-205.
14. Hovanessian A. The Double-Stranded RNA Activated Protein Kinase Induced by Interferon. Journal Interferon Research. 1991; 11: 199-205.
15. Koyama A, Arakawa T and Adachi A. Acceleration of Virus-Induced Apoptosis by Tumor Necrosis Factor. FEBS Letters. 1998; 476: 179-182.
16. Lee S and Esteban M. The Interferon-Induced Double Stranded RNA-Activated Human p68 Protein Kinase Inhibits the Replication of Vaccinia Virus. Virology. 1993; 193: 1037-1041.
17. Logan DR, Abu-Ghazaleh W, Balkemore S, Curry T, Jackson A, King et al. Structure of Major Immunodominance Site On Foot And Mouth Disease Virus. Nature. 1993. 362:566-568.
18. Meurs E, Watanabe Y, Kadereit S, Barber G, Katze M, Chong K. et al. Constitutive Expression of Human Double-Stranded RNA-Activated p68 kinase in Murine Cells Mediates Phosphorylation of Eukaryotic Initiation Factor 2 and Partial Resistance to Encephalomyelocarditis Virus Growth. Journal of Virology. 1992; 66: 5804-5814.
19. Neff S, Sá-Carvalho D, Reider E, Mason W, Blystone SD, Brown EJ, and Baxt B. Foot and Mouth Disease Virus Virulent for Cattle Utilizes the Integrin $\alpha_5\beta_1$ as Its Receptor. Journal of Virology. 1998. 72 (5): 3587-3594.
20. O'Brien V. Viruses and Apoptosis. Journal of General Virology. 1998; 79: 1833-1845.
21. Pavlovic J, Zurcher T, Haller O and Stacheli P. Resistance to Influenza and Vesicular Stomatitis Virus Conferred by Human MxA Protein. Journal of Virology. 1990; 64: 26-31.
22. Pestka S, Langer J, Zoon K and Samuel C. Interferons and Their Actions. Annual Review Biochemical. 1987; 56: 727-777.
23. Sen G and Ransohoff R. Interferon-Induced Antiviral actions and Their regulation. Advances in Virus Research. 1992; 42: 57-102.
24. Soo M, Nhirane A and Kozak C. Receptor-Mediated Interference Mechanism Responsible for Resistance to Polytopic Leukemia Viruses in *Mus castaneus*. Journal of Virology. 1999; 73 (5): 3733-3736.
25. Stacheli P. Interferon- Induced Proteins and the Antiviral State. Advances in Virus Research. 1990; 38: 147-200.
26. Stark G, Dower W, Schimke R, Brown R and Kerr I. 2-5 A synthetase: Assay, Distribution and Variation With Growth Hormone Status. Nature. 1979; 278: 471-473.
27. Stark G, Kerr I, Williams B, Silverman R and Schreiber R. How do Cells Respond to Interferons. Annual Review of Biochemistry. 1998; 67: 227-264.
28. Strasser A. The Role of Physiological Cell Death in Neoplastic Transformation and in Anti-cancer Therapy. International Journal of Cancer. 1999; 81: 505-511.
29. Tanaguchi T, Manter N, Schwarzstein M, Nagata S, Maranatsu M and Weissmann C. Human Leukocyte and Fibroblast Interferons Are Structurally Related. Nature. 1980; 285: 547-549.
30. Templeton J, Smith R and Adams G. Natural Disease Resistance in Domestic Animals. Journal American Veterinary Medical Association. 1988; 192: 1306-1315.
31. Vaux D and Strasser A. The Molecular Biology of Apoptosis. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA. 1996; 93: 2239-2244.
32. Vilcek J and Sen G. Interferons and Other Cytokines. Fields Virology, Vol 1, cap 3, Third edition, Lippincott - Raven Publishers, Philadelphia, edited by Fields, B., D, M. Knipe & P.M. Howley, 1996. 375-399.
33. White D and Fenner F. Medical virology. Fourth edition. Cap. 7. 1994.
34. Zhou A, Hassel B, Silverman R. Expression Cloning of 2-5 A-Dependent RNase: A Uniquely Regulated Mediator of Interferon Action. Cell. 1996; 72: 753-765.