

Mecanismos Virales de Bloqueo de la Apoptosis como Estrategia de Evasión de la Respuesta Inmunológica

ROMMEL CHACÓN-SALINAS* Y PEDRO SÁNCHEZ-CRUZ

Área de Inmunología, Laboratorio Multidisciplinario de Investigación, Escuela Militar de Graduados de Sanidad. Cerrada de Palomas S/N. Col. Lomas de San Isidro. C. P. 11620, México, D. F., México.

*Corresponding author: Apartado postal 35-509 C. P. 11649 México D. F. Tel. (5) 5 40 77 26 Ext. 158, Fax (5) 5 40 07 59
E-mail rommel@iacnet.com.mx or rchacons@hotmail.com

Received 13 October 1999/Accepted 18 March 2000

ABSTRACT. In response to viral infections the host uses several immunological mechanisms to defend oneself. Apoptosis stand out by its protagonist role in the control of these infections like an effector mechanism of both innate and acquired immune response. However, some viruses block apoptosis with the purpose to avoid its elimination through the immune response. In this way, viruses has genes that code proteins with anti-apoptotic functions that modulate the expression or function of cellular proteins that regulate this process. In the innate apoptosis the blockade occurs at three inhibition or inactivation levels like mitochondrial membrane alteration, PKR and p53; while the blockade of apoptosis in the acquired immune response occurs by: inhibition of granzyme B, inhibition of interaction of CD95-FasL, inhibition of DISC formation and inhibition of caspases. The knowledge of cellular mechanisms of apoptosis induction during viral infections and mainly the strategies of blockade of this process by viruses is fundamental in the design of therapies for control and eradication of this kind of infections.

Key words: Viral Infections, Apoptosis, Immune Response.

RESUMEN. En respuesta a las infecciones virales el huésped utiliza para su defensa varios mecanismos inmunológicos. La apoptosis destaca por su participación protagónica en el control de este tipo de infecciones como un mecanismo efector tanto de la respuesta inmune innata como la adaptativa. Sin embargo, algunos virus poseen la capacidad de bloquear a la apoptosis con el propósito de evitar su eliminación por parte del sistema inmunológico del huésped. Así, los virus presentan genes que codifican proteínas con funciones anti-apoptóticas que modulan la expresión o función de proteínas celulares que regulan este proceso. En la apoptosis innata el bloqueo ocurre a tres niveles: inhibición de la alteración de la membrana mitocondrial, inactivación de PKR e inactivación de p53; mientras que el bloqueo de la apoptosis en la respuesta inmune adquirida ocurre por la inhibición de la granzima B, de la interacción CD95-FasL, de la formación del DISC y de las caspasas. El conocimiento de los mecanismos celulares de inducción de apoptosis en las infecciones virales y principalmente de las estrategias de bloqueo de este proceso por los virus es fundamental en la elaboración de terapias para el control y erradicación de este tipo de infecciones.

Palabras clave: Infecciones Virales, Apoptosis, Respuesta Inmunológica.

INTRODUCCIÓN

Los virus son parásitos intracelulares obligados que provocan un amplio espectro de enfermedades que van desde la infección asintomática hasta la muerte. La capacidad de los virus de replicarse y/o persistir depende de la interacción con los mecanismos de defensa antiviral del huésped. Estos mecanismos son numerosos e incluyen a las defensas no específicas expresadas constitutivamente (inmunidad innata) y aquellas que son inducidas específicamente en respuesta a antígenos virales (inmunidad adquirida).

Los mecanismos de la inmunidad innata actúan en las primeras fases de la infección e impiden la diseminación viral. En el control de los virus participan citocinas como

interferones (IFN) tipo I y II,⁷³ complemento y células NK.⁴² Un mecanismo innato muy importante para evitar la diseminación de los virus es la apoptosis de las células infectadas.^{16,37} Por otra parte, la respuesta inmune adquirida interviene en la fase tardía de la infección e incluye la respuesta inmune humoral y celular. Los anticuerpos evitan la diseminación de los virus a las células y tejidos adyacentes, neutralizando su infectividad,⁴² mientras que las células T citotóxicas (CTL) eliminan a las células infectadas, principalmente por inducción de apoptosis.⁶

Es de resaltar que en el control de las infecciones virales, la apoptosis participa tanto en los mecanismos innatos como en la inmunidad adquirida, sin embargo su activación es diferente. En la inmunidad innata la apoptosis tiene la ventaja de no requerir más componentes que aquellos

que ya están presentes en la célula, los cuales son activados cuando un virus la penetra y replica en ella^{16,41} (Fig. 1a); mientras que en la inmunidad adquirida, las células infectadas sufren apoptosis inducida por acción de las granzimas, o bien por la interacción de CD95 con la molécula Fas-L expresada en el CTL activado⁶ (Fig. 1b).

Por su parte, los virus han adquirido estrategias que les permiten evadir tanto a la respuesta inmune innata como la adquirida,^{50,59} utilizando para ello distintos mecanismos tales como la latencia,^{4,67} la variación antigénica^{35,49} y el bloqueo de la apoptosis.^{16,38,41} En el presente trabajo se revisan las diferentes estrategias que utilizan los virus para bloquear en la célula infectada la apoptosis que es iniciada con la penetración de partículas virales o la que es inducida por acción de los CTL.

LA APOPTOSIS COMO UN MECANISMO INMUNOLÓGICO INNATO EN RESPUESTA A INFECCIONES VIRALES

La perturbación celular causada por la infección viral puede activar uno o varios mecanismos de apoptosis. Actualmente se conocen cinco: a) detección de la penetración viral,^{7,24,30,47} b) alteración de la membrana mitocondrial,^{2,16,62} c) activación de la proteína-quinasa dependiente

de RNA de doble cadena (PKR),³ d) activación de p53⁴⁴ y e) sobrecarga de proteínas en el retículo endoplásmico^{16,22,46} (Fig. 2). La caracterización de dichos mecanismos apoya el concepto de incluir a la apoptosis como una de las principales armas con que cuenta la respuesta inmune innata para combatir las infecciones virales.

La sensibilidad de la célula a las primeras etapas de la infección (unión y penetración de la partícula viral) permite la iniciación del proceso apoptótico. El ejemplo más representativo es la interacción de la proteína gp120 del virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) con la molécula CD4 o al receptor de quimiocina CXCR4, lo cual induce la muerte de la célula por apoptosis^{7,24,30,47} (Fig. 2a).

La entrada de un virus a su célula huésped también provoca cambios que en algunos casos se ven reflejados en la alteración del estado de óxido-reducción celular.^{2,16,62} Estas alteraciones son detectadas por la mitocondria, modificando la permeabilidad de su membrana y liberando citocromo C al citosol, el cual se une a proteínas adaptadoras y favorece la activación de caspasas que inician la apoptosis²³. La liberación de citocromo C al citosol es regulada por proteínas tipo Bcl-2, las cuales tienen la capacidad de insertarse en la membrana de la mitocondria regulando la liberación del citocromo C mitocondrial⁵³ (Fig. 2b). Otro mecanismo de apoptosis es a través de la PKR, la cual desempeña una función primordial en la actividad antiviral

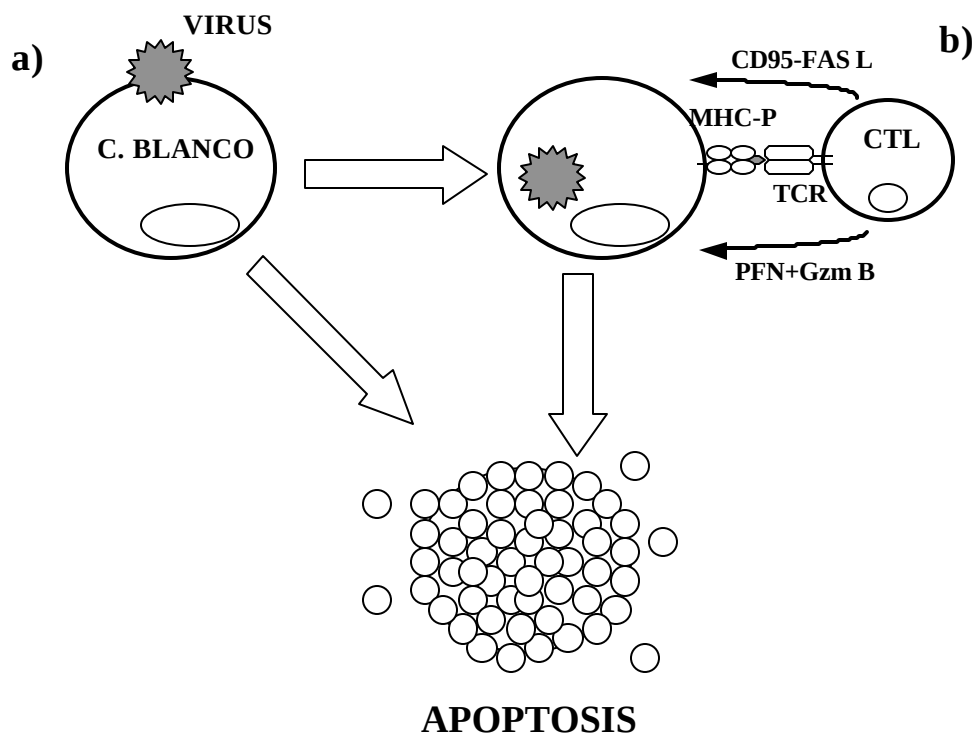


Fig. 1. Inducción de apoptosis por infecciones virales. La apoptosis como un mecanismo innato se inicia debido a la entrada y replicación del virus en su célula hospedera (a), o bien en la respuesta inmune adquirida por el reconocimiento de antígenos virales en la célula infectada por parte de los CTL (b). MHC-P: Moléculas clase I del complejo principal de histocompatibilidad-péptido viral, TCR: Receptor de células T, PFN: Perforina, GzmB: Granzima B.

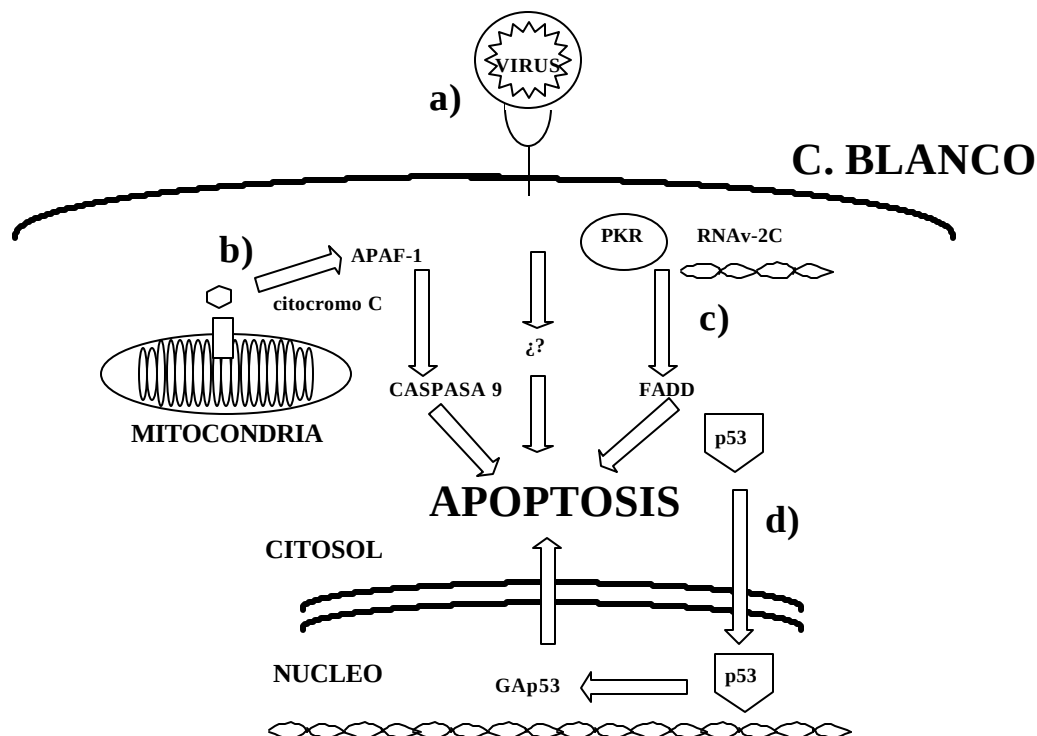


Fig. 2. Mecanismos de inducción de apoptosis en la respuesta inmune innata. La apoptosis puede iniciarse por: a) penetración viral, b) alteración del estado de óxido-reducción celular provocando liberación de citocromo C de la mitocondria, c) activación de PKR por RNA viral de doble cadena, d) activación de p53 provocando la transcripción de genes relacionados a la apoptosis. RNAv-2C: RNA viral de doble cadena, PKR: Proteína cinasa dependiente de RNAv-2C, GAp53: Genes activados por p53.

de los IFN.³² Esta enzima citosólica se activa cuando se dimeriza y fosforila debido a la presencia de RNA viral de doble cadena, el cual se presenta frecuentemente cuando ocurre la replicación viral. La PKR acarrea la fosforilación del factor de iniciación de la traducción eIF-2 α , el cual provoca el detenimiento del ciclo celular y de la producción de proteínas virales.³² Recientemente se ha observado que la activación de PKR también conduce a la apoptosis de la célula a través de CD95 activando la señal proporcionada por la vía FADD³ (Fig. 2c).

Un mecanismo que le permite al huésped limitar las infecciones de virus de DNA que replican en los núcleos celulares es la activación de la proteína p53, evento que induce apoptosis.⁴⁴ Sin embargo, aunque se desconoce el mecanismo involucrado, se cree que p53 actúa como un factor de transcripción de genes que son importantes para el desarrollo de la apoptosis, además de promover la activación de la caspasa iniciadora 9⁶⁹ (Fig. 2d).

Finalmente, las infecciones virales se caracterizan por incrementar la producción de proteínas. Esto trae como consecuencia una acumulación de proteínas virales y celulares en el interior del retículo endoplásmico, evento que desencadena el proceso apoptótico en la célula infectada.^{16,22,46} El mecanismo molecular implicado aún no se ha caracterizado.

MECANISMOS DE BLOQUEO DE LA APOPTOSIS EN LA INMUNIDAD INNATA

Debido a los efectos adversos de la apoptosis sobre la replicación y diseminación de los virus, muchos de ellos han desarrollado estrategias para bloquear la apoptosis de la célula infectada. Dichos mecanismos bloquean algunas de las rutas de apoptosis mencionadas. Cabe aclarar que para algunas vías aún no se describen mecanismos virales de bloqueo, tal es el caso de la detección de la penetración viral y la sobrecarga de proteínas en el retículo endoplásmico. Además, para algunos mecanismos de bloqueo de la apoptosis innata se han identificado las proteínas o ácido ribonucleico de origen viral que se encuentran implicados (Tabla 1). Los mecanismos de bloqueo de la apoptosis en la inmunidad innata se han clasificado por su modo de acción en: a) inhibición del daño a la mitocondria, b) inactivación de PKR y c) inactivación de p53 (Fig. 3).

Inhibición del daño a la mitocondria. Las proteínas Bcl-2 y Bcl-x_L, miembros de la familia Bcl-2, tienen como característica el poseer dominios hidrofóbicos transmembranales en su región C-terminal y localizarse principalmente en la mitocondria y el retículo endoplásmico. Su principal función es regular la liberación de citocromo C mitocondrial y la subsecuente activación de la caspasa ini-



Tabla 1. Proteínas virales inhibidoras de la inducción de apoptosis innata.

Mecanismo	Virus	Proteína
Antagonistas de p53	Adenovirus	E1B-55K
	Papillomavirus humano	E6
	Virus del Simio 40	antígeno-T
	Citomegalovirus humano	IE-1/IE-2
Inhibidor de la PKR	HIV-1	tat
	Virus de la influenza	NS1
	Hepatitis C	NS5A
	Adenovirus	VAI-RNA*
	Reovirus	3
Homólogos a Bcl-2	Vaccinia	E3L, K3L
	Herpesvirus saimiri	ORF16
	Herpesvirus humano tipo 8	KSbcl-2
	Herpesvirus equino 2	E4
	virus Epstein-Barr	BHRF-1
	Adenovirus	E1B 19K
	Herpesvirus alcelafino	A9
	Herpesvirus murino 68	M11
	Virus de la fiebre porcina	5-HL

*: Ácido ribonucleico.

ciadora 9.⁵³ Algunos virus presentan en su genoma secuencias que codifican para proteínas con homología a dominios de la proteína Bcl-2, lo que les permite inhibir la liberación del citocromo C mitocondrial y en consecuencia la apoptosis mediada por la caspasa 9 (Fig. 3a). Ejemplos de estos virus son: *Herpesvirus saimiri*,⁴³ herpesvirus humano tipo 8,¹⁴ virus Epstein-Barr,^{26,33} adenovirus,¹⁷ virus africano de la fiebre porcina^{1,45,55} y herpesvirus murino 68.⁷⁴

Inactivación de PKR. Varios virus han desarrollado mecanismos que les permiten inactivar la función enzimática de PKR (Fig. 3b), entre los cuales se encuentran los reovirus²⁹ y virus vaccinia,¹² que codifican proteínas que tienen la peculiaridad de unirse a los activadores de la PKR, como el RNA de doble cadena. Otra estrategia es empleada por el HIV tipo 1⁵⁸ y el mismo virus vaccinia,¹¹ los cuales producen proteínas que forman un complejo con PKR, lo que resulta en la inhibición de su actividad de cinasa. Los adenovirus por su parte, codifican VAI-RNA, el cual funciona como un competidor inhibidor de unión del RNA de doble cadena a la PKR.³¹ Recientemente se ha identificado que el virus de la hepatitis C posee la proteína NS5A que es capaz de inhibir la apoptosis mediada por la PKR.¹⁹

Inactivación de p53. La proteína p53 es conocida co-

mo el guardián del genoma, ya que es capaz de inducir apoptosis en células que sufren alteraciones en su material genético. Sin embargo, algunos virus, principalmente aquellos compuestos de DNA y que se replican en el núcleo, inactivan a p53 (Fig. 3c), tal es el caso del adenovirus⁵² y del papilloma virus humano que a través de su proteína E6 promueve la degradación de p53 por los proteasomas.^{60,61} Otros virus como citomegalovirus humano secuestran dicha proteína en el citosol por medio de las proteínas inmediatas tempranas,³⁶ inhibiendo su función como factor de transcripción e inductor de apoptosis.⁸⁰

Apoptosis en la respuesta inmune adquirida. Los virus que logran evadir las defensas antivirales innatas tienen que enfrentar la respuesta inmunológica adquirida, en la cual los CTL desempeñan una función vital en la eliminación de las células infectadas. Estos CTL se activan y lisan a las células infectadas después de reconocer péptidos de origen viral en asociación con moléculas clase I del complejo principal de histocompatibilidad en la superficie de las células infectadas.⁷⁷ Existen por lo menos dos mecanismos efectores por los cuales el CTL provoca la lisis de la célula infectada: la exocitosis granular y la interacción de moléculas de superficie (CD95-FasL). Sin embargo, en ambos mecanismos la muerte celular se encuentra asociada

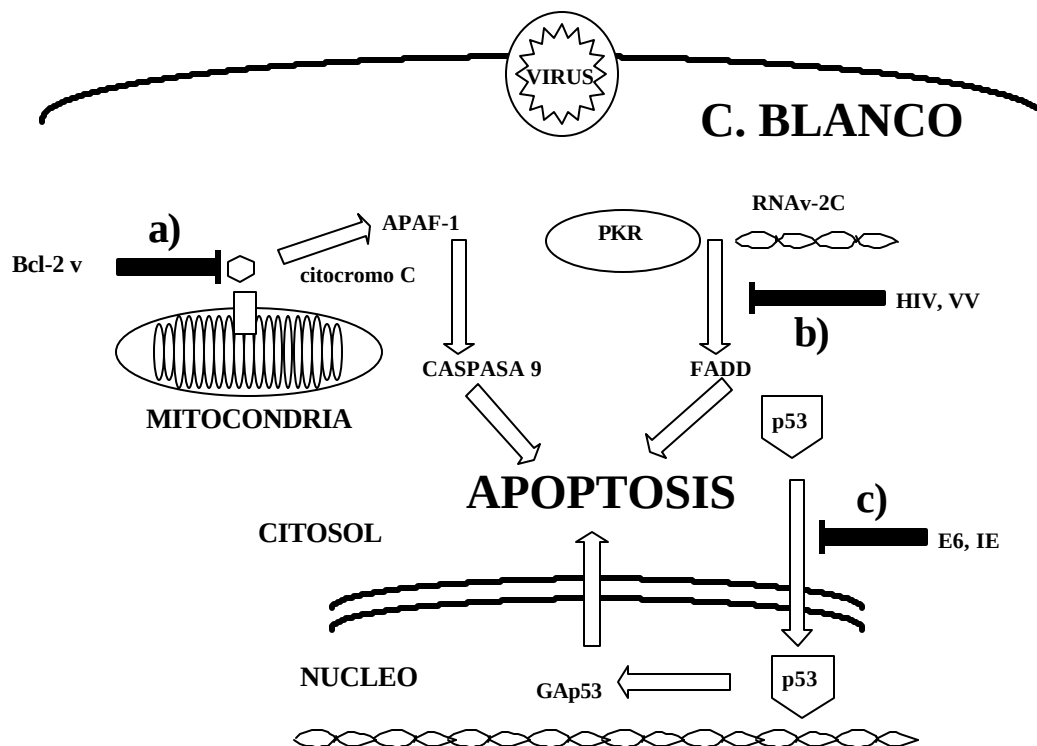


Fig. 3. Mecanismos de bloqueo de la apoptosis innata. Los virus presentan genes que codifican proteínas que bloquean el desarrollo de la apoptosis innata por: a) inhibición de la liberación de citocromo C, b) inactivación de la enzima PKR, c) inactivación de p53. Bcl-2v: Proteínas virales homologas a Bcl-2. HIV: Virus de la inmunodeficiencia humana. VV: Virus vaccinia. E6: Proteína E6 del virus papilloma humano. IE: Proteínas inmediatas-tempranas de citomegalovirus humano.

a eventos apoptóticos.⁶⁴

En la muerte celular mediada por exocitosis granular, los CTL liberan el contenido de sus gránulos (principalmente perforinas y granzimas) de manera dirigida hacia el espacio intercelular formado durante la interacción del CTL con la célula infectada. Las perforinas y las granzimas actúan cooperativamente, así la perforina se une a grupos de fosforilcolina de la membrana celular para posteriormente polimerizarse y provocar la formación de poros en la bicapa lipídica de la célula infectada, facilitando la entrada al citosol de las granzimas.⁶⁸ Estas últimas, desencadenan la apoptosis funcionando como activadoras de caspasas claves para el desarrollo de la apoptosis como son las caspasas iniciadoras, o bien sobre caspasas efectoras¹⁸ (Fig. 4a).

El segundo mecanismo de citotoxicidad de los CTL involucra la interacción de la molécula Fas/Apo-1 o CD95 expresada en la célula infectada, con su ligando (Fas-L) expresado en los linfocitos T activados.⁵⁶ La unión CD95-FasL, expone los dominios de muerte (DD) intracelulares de CD95. A estos dominios se asocia la proteína adaptadora FADD la cual a su vez permite la asociación de la pro-caspasa 8 por medio de los dominios efectores de muerte (DED), conociéndose a este complejo molecular como DISC (complejo de señalización inductor de muerte). La pro-caspasa 8 parece sufrir después de su asociación un proce-

so de auto-activación, disociándose del DISC y dando inicio a la fase efectora de la apoptosis. En esta fase las caspasas que se encuentran como zimógenos, son activados por rupturas proteolíticas dando origen a una cascada de caspasas.⁴⁸ Se ha observado que la caspasa 8 puede activar a las caspasas 3 y 7, y la caspasa 3 puede, a su vez, activar a la caspasa 6. Tanto la caspasa 3 como la 6 actúan en la fase efectora de la apoptosis degradando una gran cantidad de proteínas celulares²⁷ (Fig. 4b).

MECANISMOS DE BLOQUEO DE LA APOPTOSIS EN LA INMUNIDAD ADQUIRIDA

Algunos virus han desarrollado estrategias que les permiten bloquear la apoptosis inducida por los CTL. Al igual que en los mecanismos de bloqueo de la apoptosis innata también se han identificado algunas proteínas de origen viral que participan en el bloqueo de la apoptosis por CTL (Tabla 2) y que por el tipo de blanco sobre el que actúa, se clasifican en: a) inhibidores de la granzima B, b) inhibidores de la interacción CD95-FasL, c) inhibidores de la formación del DISC y d) inhibidores de las caspasas (Fig. 5).

Inhibidores de la granzima B. Hasta el momento se han identificado dos estrategias por las cuales los virus son capaces de evitar la acción de la granzima B (Fig. 5a). La primera es la inhibición específica de su síntesis por parte

de los CTL infectados, tal como se ha demostrado en la infección por el virus de la parainfluenza tipo 3.⁶⁵ La segunda estrategia es la observada en la infección por el virus de la viruela vacuna, en la cual se inhibe la función proteolítica de la granzima B y por tanto es incapaz de activar a las caspasas. La proteína viral que participa en esta inhibición es el modificador A de la respuesta a citocinas o Crm A.⁵¹

Inhibidores de la interacción CD95-FasL. La estrategia más directa para evitar la interacción de CD95-FasL es la eliminación de estas moléculas de la superficie de las células infectadas y de los CTL, respectivamente (Fig. 5b). Por ejemplo, en la infección por adenovirus la proteína viral E3 tiene la cualidad de forzar la internalización del CD95 de superficie y su posterior destrucción en los lisosomas.^{63,72} Otro ejemplo es la infección de linfocitos T por

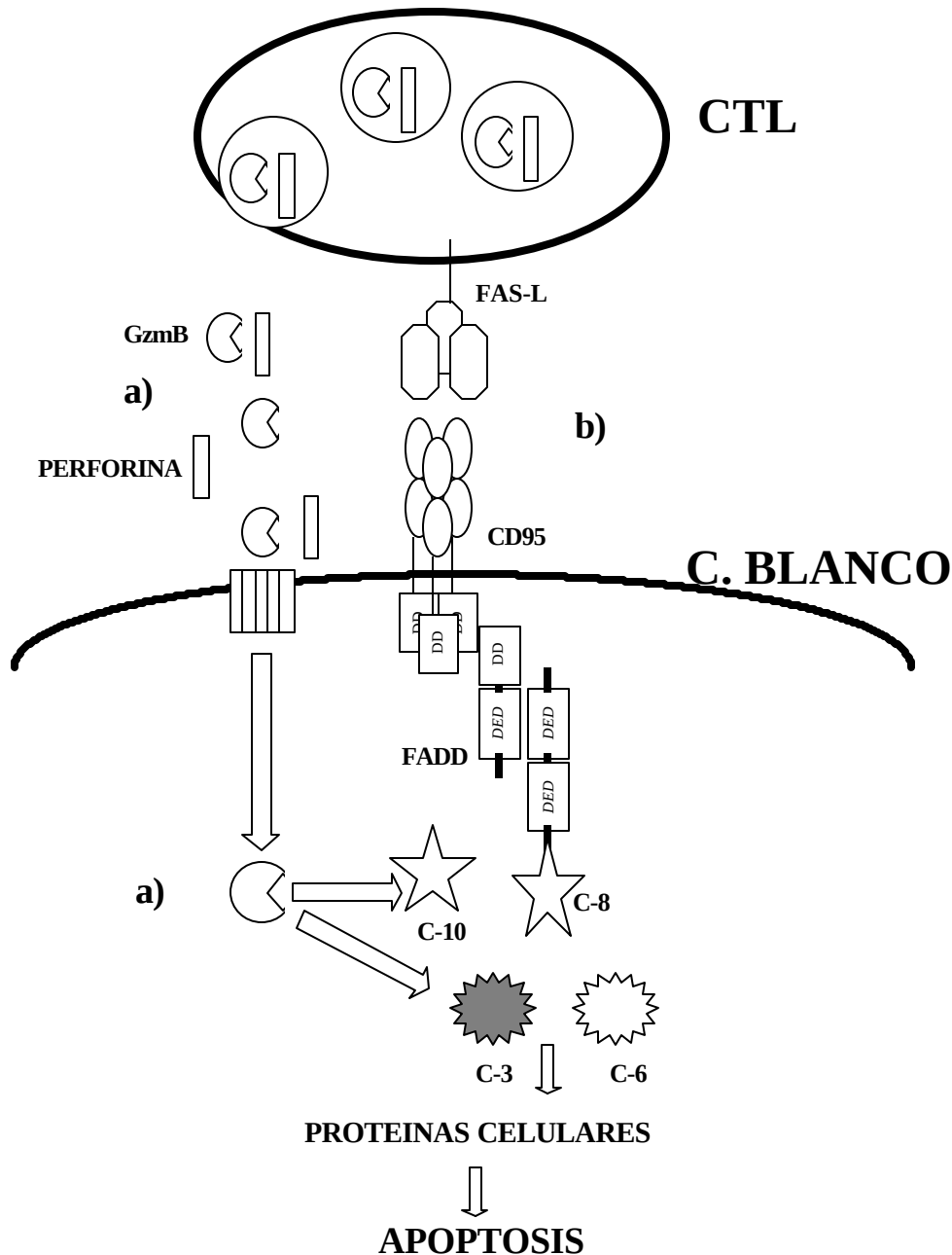


Fig. 4. Inducción de apoptosis por la inmunidad adaptativa. La apoptosis es inducida en la célula infectada después del reconocimiento por CTL de antígenos virales en el contexto de moléculas MHC-I. Este proceso ocurre a través de dos mecanismos: a) exocitosis granular, ó b) la interacción CD95-FasL. GzmB: Granzima B. Fas-L: Ligando de CD95. FADD: Proteína adaptadora. DD: Dominio de muerte. DED: Dominio efector de muerte. C-: Caspasa.

virus del herpes simplex tipo 2, en la cual se ha observado inhibición en la expresión de FasL, aunque se desconoce el mecanismo molecular involucrado.⁶⁶

Inhibidores de la formación del DISC. Recientemente se ha descrito una nueva familia de proteínas virales que tienen la capacidad de inhibir la apoptosis mediada por CD95.⁷¹ Estas moléculas fueron denominadas FLIP (inhibidor de la proteína FLICE). Estas proteínas se caracterizan por poseer dos DED, los cuales son capaces de interactuar con los DED de las moléculas FADD y/o caspasa 8 e inhibir de esta manera el reclutamiento de la caspasa 8 y la activación por CD95 (Fig. 5c). Además, se ha observado que las moléculas FADD y las caspasas 8 y 10 se encuentran implicadas en las vías de señalización de todos los receptores de muerte, por tanto, los FLIP son capaces de inhibir la apoptosis mediada por otros miembros de la superfamilia TNF-R/NGF-R como lo son las moléculas TNF-R1, TRAMP y TRAIL. Estas proteínas se han identificado en el herpesvirus humano tipo 8,^{28,71} *Herpesvirus saimiri*,⁷¹ *Herpesvirus equino* 2,^{8,28,71} *herpesvirus bovino* 4^{28,71,75} y el virus del molusco contagioso.^{8,28,71}

Inhibidores de caspasas. El primer inhibidor de las caspasas que se identificó fue la proteína CrmA del virus de la viruela vacuna.^{54,70} Esta proteína es miembro de la

familia de los inhibidores de las serina proteasas o serpinas. La CrmA es capaz de inhibir directamente a la caspasa 1⁵⁴ y a la caspasa 8.⁷⁹ Recientemente se han identificado a otras dos proteínas virales con homología a CrmA, la M1 del herpesvirus murino 68,⁷⁴ y la SPI-2 del virus vaccinia.^{15,34} Otro inhibidor de las caspasas es la proteína p35 del baculovirus, la cual inhibe la apoptosis tanto de células de insectos, como de mamíferos.⁵ Su especificidad por las caspasas es más amplia que la de CrmA, ya que se ha demostrado que es capaz de bloquear a las caspasas 1, 2, 3 y 4; lo que le permite inhibir señales de apoptosis tanto de CD95, como de otros estímulos apoptóticos.^{10,76} Otra proteína del baculovirus para bloquear la actividad de las caspasas es la Op-IAP, que pertenece al grupo de las proteínas inhibidoras de apoptosis o IAP.²⁵ Estas proteínas pueden unirse de manera directa a varias caspasas e inhibir de esta forma la señal proporcionada por CD95.⁵⁷ La proteína viral E3 del adenovirus tipo 5 inhibe la apoptosis inducida por CD95 y TNF- α formando complejos con la caspasa 8, lo que evita su función.¹³ Actualmente se conoce que el virus herpes simplex tipo 1 tiene la capacidad de inhibir la actividad de caspasas,²⁰ así como el virus myxoma³⁹ y el virus de la hepatitis B que inactiva la caspasa 3 a través de la proteína Hbx²¹ (Fig. 5d).

Tabla 2. Proteínas virales inhibidoras de la inducción de apoptosis mediada por CTL.

Mecanismo	Virus	Proteína
Inhibidores de la granzima B	Parainfluenza tipo 3	?
	Virus de la viruela vacuna	CrmA
Inhibición de la interacción CD95-Fas-L	Adenovirus	E3-10.4/14.5
	Herpes simplex tipo 2	?
Inhibidores de caspasas	Virus de la viruela vacuna	CrmA
	Herpesvirus murino 68	M1
	Vaccinia	SPI-2
	Baculovirus	p35, IAP
	Virus de la fiebre porcina	pA224L
	Myxoma	Serp2
	Hepatitis B	Hbx
	Herpes simplex tipo 1	?
	Adenovirus tipo 5	E3-14.7 K
Inhibidores de la formación del DISC	Herpesvirus humano tipo 8	ORF71/K13
	Herpesvirus saimiri	ORF71
	Herpesvirus equino 2	E8
	Herpesvirus bovino 4	BORFE2
	Virus del molusco contagioso	159L, 160L

?: No identificado.

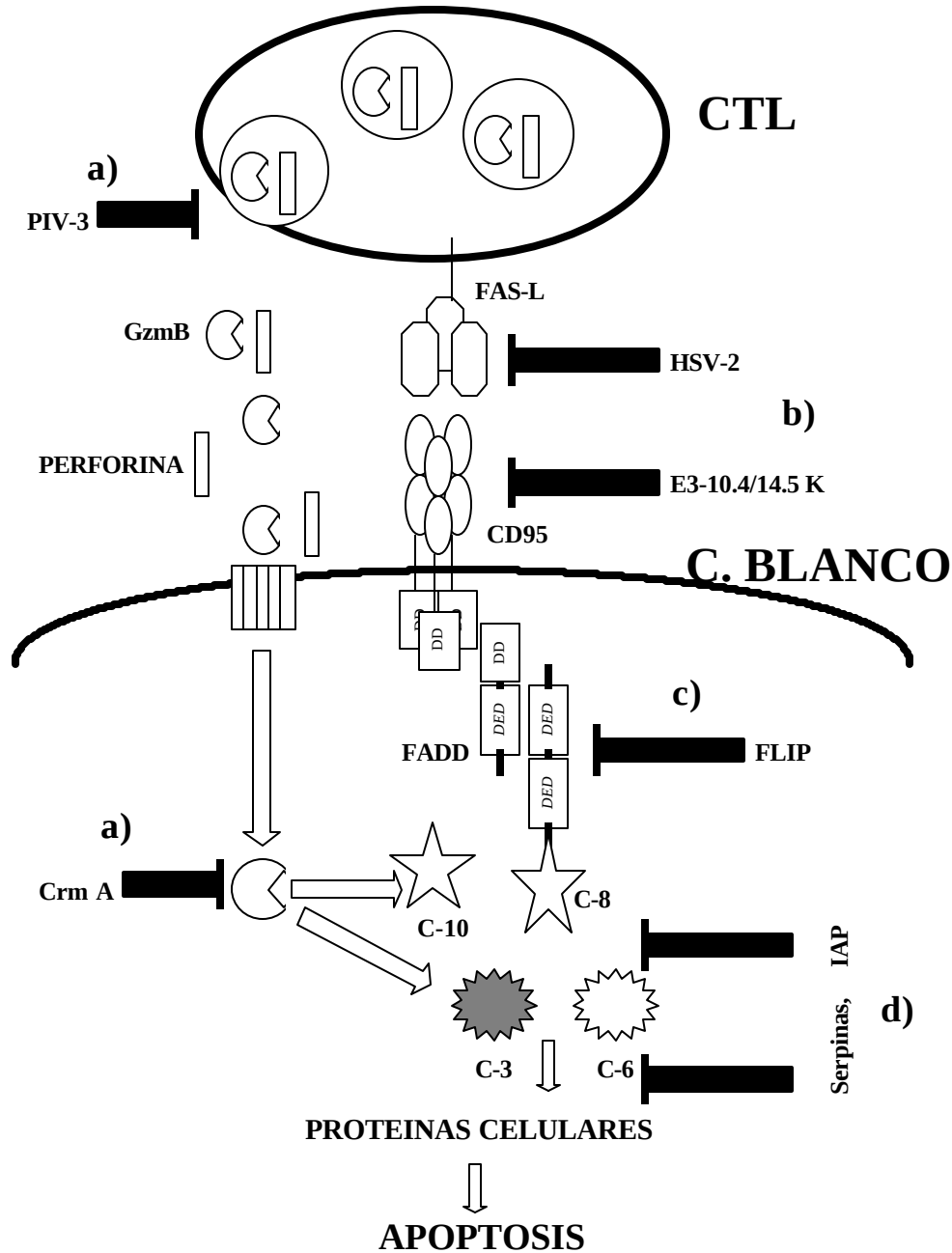


Fig. 5. Mecanismos de bloqueo de la apoptosis inducida por CTL. Algunos virus poseen genes que codifican proteínas con la capacidad de inhibir a diferentes niveles el proceso de apoptosis, clasificándose en: a) inhibición de la granzima B, b) inhibición de la interacción CD95-FasL, c) inhibición de la formación del DISC, d) inhibición de las caspasas. PIV-3: Virus de la parainfluenza tipo 3. GzmB: Granzima B. Crm A: Modificador A de la respuesta a citocinas. HSV-2: Virus herpes simplex tipo 2. FLIP: Inhibidores de FLICE. IAP: Proteínas inhibidoras de apoptosis.

CONCLUSIONES

La apoptosis es un mecanismo muy importante para el control de las infecciones virales. Su participación es fundamental en el inicio de la infección (apoptosis innata) y en etapas posteriores (apoptosis en la inmunidad adquiri-

da). Sin embargo, aunque el sistema inmune presenta estos mecanismos para controlar los procesos infecciosos, los virus han desarrollado durante su evolución estrategias que les permiten bloquear casi todas las vías de inducción de apoptosis descritas, lo que facilita su replicación y diseminación a células no infectadas. La interacción entre ambos

mecanismos resulta en un equilibrio sumamente delicado entre la capacidad que poseen los virus para inhibir la apoptosis y la que posee el huésped para sobrevivir a las infecciones.

Además, otros estudios han mostrado que algunos virus logran inducir apoptosis en células del sistema inmune^{9,40,78}, logrando manipular el proceso apoptótico induciéndolo o bloqueándolo según les beneficie. Por tal motivo el conocimiento de los mecanismos celulares de inducción de apoptosis en las infecciones virales, así como las estrategias de bloqueo de este proceso por los virus es de gran relevancia para la elaboración de terapias para el control y erradicación de las infecciones virales.

REFERENCIAS

1. Afonso, C. L., J. G. Neilan, G. F. Kutish and D. L. Rock. 1996. An African swine fever virus Bcl-2 homolog, 5-HL, suppresses apoptotic cell death. *J. Virol.* 70:4858-4863.
2. Akaike, T., M. Suga and H. Maeda. 1998. Free radicals in viral pathogenesis: molecular mechanisms involving superoxide and NO. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 217:64-73.
3. Balachandran, S., C. N. Kim, W. C. Yeh, T. W. Mark, K. Bhalla and G. N. Barber. 1998. Activation of the dsRNA-dependent protein kinase, PKR, induces apoptosis through FADD-mediated death signaling. *EMBO J.* 17:6888-6902.
4. Balthesen, M., M. Messerle and J. Reddehase. 1993. Lungs are a major organ site of cytomegalovirus latency and recurrence. *J. Virol.* 67:5360-5366.
5. Beidler, D. R., M. Tewari, P. D. Friesen, G. Poirier and V. M. Dixit. 1995. The baculovirus p35 protein inhibits Fas- and tumor necrosis factor-induced apoptosis. *J. Biol. Chem.* 270:16526-16528.
6. Berke, G. 1995. The CTL's kiss of death. *Cell.* 81:9-12.
7. Berndt, C., B. Möps, S. Angermüller, P. Gierschick and P. H. Krammer. 1998. CXCR4 and CD4 mediate a rapid CD95-independent cell death in CD4⁺ T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 95:12556-12561.
8. Bertin, J., R. C. Armstrong, S. Otilie, D. A. Martin, Y. Wang, S. Banks, G. H. Yang, T. G. Senkevich, E. S. Alnemri, B. Moss, M. J. Lenardo, K. J. Tomaselli and J. I. Cohen. 1997. Death effector domain-containing herpesvirus and poxvirus proteins inhibit both Fas and TNFR1-induced apoptosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 94:1172-1176.
9. Bonzon, C. and H. Fan. 1999. Moloney murine leukemia virus-induced preleukemic thymic atrophy and enhanced thymocyte apoptosis correlate with disease pathogenicity. *J. Virol.* 73:2434-2441.
10. Bump, N. J., M. Hackett, M. Hugunin, S. Seshagiri, K. Brady, P. Chen, C. Ferenz, S. Franklin, T. Ghayur, P. Li, P. Licari, J. Mankovich, L. Shi, A. H. Greenberg, L. K. Miller and W. W. Wong. 1995. Inhibition of ICE family proteases by baculovirus antiapoptotic protein p35. *Science.* 269:1885-1888.
11. Carroll, K., O. Elroy-Stein, R. Moss and R. Jagus. 1993. Recombinant vaccinia virus K3L gene product prevents activation of dsRNA dependent eIF 2 kinase. *J. Biol. Chem.* 268:12837-12842.
12. Chang, H. W., J. C. Watson and B. L. Jacobs. 1992. The E3L gene of vaccinia virus encodes and inhibition of the interferon induced, dsRNA dependent protein kinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 89:4825-4829.
13. Chen, P., J. Tian, I. Kovesdi and J. T. Bruder. 1998. Interaction of the adenovirus 14.7 kDa protein with FLICE inhibits Fas ligand-induced apoptosis. *J. Biol. Chem.* 273:5815-5820.
14. Cheng, E. H., J. Nicholas, D. S. Bellows, G. S. Hayward, H. G. Guo, M. S. Reitz and J. M. Hardwick. 1997. A Bcl-2 homolog encoded by Kaposi sarcoma-associated virus, human herpesvirus 8, inhibits apoptosis but does not heterodimerize with Bax or Bak. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 94:690-694.
15. Döbelstein, M. and T. Shenk. 1996. Protection against apoptosis by the vaccinia virus SPI-2 (B13R) gene product. *J. Virol.* 70:6479-6485.
16. Everett, H. and G. McFadden. 1999. Apoptosis: an innate immune response to virus infection. *Trends Microbiol.* 7:160-165.
17. Farrow, S. N., J. H. White, I. Martinou, T. Raven, K. T. Pun, C. J. Grinham, J. C. Marinou and R. Brown. 1995. Cloning of a bcl-2 homologue by interaction with adenovirus E1B 19K. *Nature.* 374:731-733.
18. Froelich, C. J., V. M. Dixit and X. Yang. 1998. Lymphocyte granule-mediated apoptosis: matters of viral mimicry and deadly proteases. *Immunol. Today.* 19:30-36.
19. Gale, M., B. Kwieciszewski, M. Dosset, H. Nakao and M.G. Katze. 1999. Antiapoptotic and oncogenic potentials of hepatitis C virus are linked to interferon resistance by viral repression of the PKR protein kinase. *J. Virol.* 73:6506-6516.
20. Galvan, V., R. Brandimarti and B. Roizman. 1999. Herpes simplex virus 1 blocks caspase-3-independent and caspase-dependent pathways to cell death. *J. Virol.* 73:3219-3226.
21. Gottlob, K., M. Fulco, M. Levrero and A. Graessmann. 1998. The hepatitis B virus Hbx protein inhibits caspase 3 activity. *J. Biol. Chem.* 273:33347-33353.
22. Granville, D. J., C. M. Carthy, H. Jiang, G. C. Shore, B. M. McManus and D. W. Hunt. 1998. Rapid cytochrome C release, activation of caspase 3, 6, 7 and 8 followed by Bap31 cleavage in HeLa cells treated with photodynamic therapy. *FEBS Lett.* 437:5-10.
23. Green, D.R. 1998. Apoptotic pathways: the roads to ruin. *Cell.* 94:695-698.
24. Guillermin, C., V. Robert-Hebmann, U. Hübner, M. Hirn and C. Devaux. 1998. An anti-CD4 (CDR3-loop)



- monoclonal antibody inhibits human immunodeficiency virus type 1 envelope glycoprotein-induced apoptosis. *Virology* 248:254-263.
25. Hawkins, C. J., A. G. Uren, G. Häcker, R. L. Medcalf and D. L. Vaux. 1996. Inhibition of interleukin β -converting enzyme-mediated apoptosis of mammalian cells by baculovirus IAP. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:13786-13790.
 26. Henderson, S., D. Huen, M. Rowe, C. Dawson, G. Johnson and A. Rickinson. 1993. Epstein-Bar virus-coded BHRF1 protein, a viral homologue of Bcl-2, protects human B cells from programmed cell death. *Proc Natl Acad Sci. USA* 90:8479-8483.
 27. Hirata, H., A. Takahashi, S. Kobayashi, S. Yonehara, H. Sawai, T. Okazaki, K. Yamamoto and M. Sasada. 1998. Caspases are activated in a branched protease cascade and control distinct downstream processes in Fas-induced apoptosis. *J. Exp. Med.* 187:587-600.
 28. Hu, S., C. Vincenz, M. Buller and V. M. Dixit. 1997. A novel family of viral death effector domain-containing molecules that inhibit both CD95- and tumor necrosis factor receptor-1-induced apoptosis. *J. Biol. Chem.* 272:9621-9624.
 29. Imani, F. and B. L. Jacobs. 1988. Inhibitory activity for the interferon-induced protein kinase is associated with the reovirus serotype 1 sigma 3 protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:7887-7891.
 30. Kaplan, D. and S. Sieg. 1998. Role of the Fas/Fas ligand apoptotic pathways in human immunodeficiency virus type I disease. *J. Virol.* 72:6279-6282.
 31. Katze, M. G., D. DeCorato, B. Safer, J. Galabru and A. G. Hovanessian. 1987. Adenovirus VAI RNA complexes with the 68,000 Mr protein kinase to regulate its autophosphorylation and activity. *EMBO J.* 6:689-697.
 32. Katze, M. G. 1995. Regulation of the interferon induced PKR: can viruses cope? *Trends Microbiol.* 3:75-78.
 33. Kawanishi, M. 1997. Epstein-Barr virus BHRF1 protein protects intestine 407 epithelial cells from apoptosis induced by tumor necrosis factor alpha and anti-Fas antibody. *J. Virol.* 71:3319-3322.
 34. Kettle, S., A. Alcamí, A. Khanna, R. Ehret, C. Jassoy and G. L. Smith. 1997. Vaccinia virus serpin B13R (SPI-2) inhibits interleukin-1 β -converting enzyme and protects virus-infected cells from TNF- and Fas-mediated apoptosis, but does not prevent IL-1 β -induced fever. *J. Gen. Virol.* 78:677-685.
 35. Klenerman, P. and R. M. Zinkarnagel. 1998. Original antigenic sin impairs cytotoxic T lymphocyte response to viruses bearing variant epitopes. *Nature* 394:482-485.
 36. Kovacs, A., M. L. Weber, L. J. Burns, H. S. Jacobs and K. Vercelloti. 1996. Cytoplasmic sequestration of p53 in cytomegalovirus-infected human endothelial cells. *Am. J. Pathol.* 149:1531-1539.
 37. Koyama, A. H., H. Irie, T. Fukumori, S. Hata, S. Ida, H. Akari and A. Adachi. 1998. Role of virus-induced apoptosis in a host defense mechanism against virus infection. *J. Med. Invest.* 45:37-45.
 38. Meinel, E., H. Fickenscher, M. Thome, J. Tschopp and B. Fleckenstein. 1998. Anti-apoptotic strategies of lymphotropic viruses. *Immunol. Today* 19:474-479.
 39. Messud-Petit, F., J. Gelfi, M. Delverdier, M. F. Amardeilh, R. Py, G. Sutter and S. Bertagnoli. 1998. Serp2, an inhibitor of the interleukin-1 β -converting enzyme, is critical in the pathobiology of myxoma virus. *J. Virol.* 72:7830-7839.
 40. Meyaard, L., S. A. Otto, R. R. Jonker, M. J. Mijster, R. P.M. Keet and F. Miedema. 1992. Programmed death of T cells in HIV-1 infection. *Science* 257:217-219.
 41. Nash, P., J. Barret, J. X. Cao, S. Hota-Mitchell, A. S. Lalani, H. Everett, X. M. Xu, J. Robichaud, S. Hnatiuk, C. Ainslie, B. T. Seet and G. McFadden. 1999. Immunomodulation by viruses: the myxoma virus story. *Immunol. Rev.* 168:103-120.
 42. Nash, T. 1996. Immunity to viruses, p 16.1-16.8. En: I. Roitt, J. Brostoff and D. Male (ed.). *Immunology*. 4th ed. Mosby, London, England.
 43. Nava, V. E., E. H. Cheng, M. Veluona, S. Zou, R. J. Clem, M. L. Mayer and J. M. Hardwick. 1997. Herpesvirus saimiri encodes a functional homologue of the human bcl-2 oncogene. *J. Virol.* 71:4118-4122.
 44. Neil, J. C., E. R. Cameron and E. W. Baxter. 1997. p53 and tumor viruses: catching the guardian off-guard. *Trends Microbiol.* 5:115-120.
 45. Neilan, J. G., Z. Lu, C. L. Afonso, G. F. Kurtish, M. D. Sussman and D. L. Rock. 1993. An African swine fever virus gene with similarity to the proto-oncogene bcl-2 and the Epstein-Barr virus gene BHRF1. *J. Virol.* 67:4391-4394.
 46. Ng, F. W. H. and G. C. Shore. 1998. Bcl-XL cooperatively associates with the Bap31 complex in the endoplasmic reticulum dependent on procaspase-8 and Ced-4 adaptor. *J. Biol. Chem.* 273:3140-3143.
 47. Ohnismus, H., M. Heinkelein and C. Jassoy. 1997. Apoptotic cell death upon contact of CD4⁺ T lymphocytes with HIV glycoprotein-expressing cells is mediated by caspases but bypasses CD95 (Fas/Apo-1) and TNF receptor 1. *J. Immunol.* 159:5246-5252.
 48. Peter, M. E. and P. H. Krammer. 1998. Mechanisms of CD95 (APO-1/Fas)-mediated apoptosis. *Curr. Opin. Immunol.* 10:545-551.
 49. Pircher, H., D. Moskophidis, U. Rohrer, K. Bürki, H. Hengartner and R. M. Zinkarnagel. 1990. Viral escape by selection of cytotoxic T cell-resistant variants in vivo. *Nature* 346:629-633.
 50. Ploegh, H. L. 1998. Viral strategies of immune evasion. *Science* 280:248-253.
 51. Quan, L. T., A. Caputo, R. C. Bleackley, D. J. Pickup and Salvesen G. S. 1995. Granzyme B is inhibited by the cowpox virus serpin cytokine response modifier A. *J. Biol. Chem.* 270:10377-10379.
 52. Querido, E., R. C. Marcellus, A. Lai, R. Charbonneau,

- J. G. Teodoro, G. Ketner and P. E. Branton. 1997. Regulation of p53 levels by the E1B 55-kilodalton protein and E4orf16 in adenovirus-infected cells. *J. Virol.* 71:3788-3798.
53. Raff, M. 1998. Cell suicide for beginners. *Nature* 396:119-122.
54. Ray, C. A., R. A. Black, S. R. Kronheim, T. A. Greenstreet, P. R. Sleath, G. S. Salvesen and D. J. Pickup. 1992. Viral inhibition of inflammation: cowpox virus encodes an inhibitor of the interleukin-1 β converting enzyme. *Cell* 69:597-604.
55. Revilla, Y., A. Cebrian, E. Baixeras, C. Martinez, E. Vinuela and M. L. Salas. 1997. Inhibition of apoptosis by the african swine fever virus Bcl-2 homologue: role of BH1 domain. *Virology* 228:400-404.
56. Rouvier, E., M. F. Luciani and P. Golstein. 1993. Fas involvement in Ca²⁺-independent T cell-mediated cytotoxicity. *J. Exp. Med.* 177:195-200.
57. Roy, N., Q. L. Deveraux, R. Takahashi, G. S. Salvesen and J. C. Reed. 1997. The cIAP-1 and cIAP-2 proteins are direct inhibitors of specific caspases. *EMBO J.* 16:6914-6925.
58. Roy, S., M. G. Katze, N. T. Parkin, Y. Ederly, A. G. Hovanessian and N. Sonenberg. 1990. Control of the interferon induced 68-kilodalton protein kinase by the HIV-1 tat gene product. *Science* 247:1216-1219.
59. Sánchez-Cruz, P. and R. Pelayo-Camacho. 1996. Múltiples estrategias de evasión de la respuesta inmune por citomegalovirus humano: Mecanismos moleculares. *Lab. Acta.* 8:65-73.
60. Scheffner, M., J. M. Huibregtse, R. D. Vierstra and P. M. Howley. 1993. The HPV-16 E6 and E6-AP complex functions as a ubiquitin-protein ligase in the ubiquitination of p53. *Cell* 75:495-505.
61. Scheffner, M., B. A. Werness, J. M. Huibregtse, A. J. Levine and P. M. Howley. 1990. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell* 63:1129-1136.
62. Schweizer, M. and E. Peterhans. 1999. Oxidative stress in cells infected with bovine viral diarrhoea virus: a crucial step in the induction of apoptosis. *J. Gen. Virol.* 80:1147-1155.
63. Shisler, J., C. Yang C, B. Walter, C. F. Ware and L. R. Gooding. 1997. The adenovirus E3-10.4K/14.5K complex mediates loss of cell surface Fas (CD95) and resistance to Fas-induced apoptosis. *J. Virol.* 71:8299-8306.
64. Shresta, S., C. T. N. Pham, D. A. Thomas, T. A. Graubert and T. J. Ley. 1998. How do cytotoxic lymphocytes kill their targets? *Curr. Opin. Immunol.* 10:581-587.
65. Sieg, S., L. Xia, Y. Huang and D. Kaplan. 1995. Specific inhibition of granzyme B by parainfluenza virus type 3. *J. Virol.* 69:3538-3541.
66. Sieg, S, Z. Yildirim, D. Smith, N. Kayagaki, H. Yagita, Y. Huang and D. Kaplan. 1996. Herpes simplex virus type 2 inhibition of Fas ligand expression. *J. Virol.* 70:8747-8751.
67. Sinclair, J. and P. Sissons. 1996. Latent and persistent infection of monocytes and macrophages. *Intervirology.* 39:293-301.
68. Smyth, M. J., and J. A. Trapani. 1995. Granzymes: exogenous proteinases that induces target cells apoptosis. *Immunol. Today* 16:202-206.
69. Soengas, M. S., R. M. Alarcón, H. Yoshida, A. J. Giaccia, R. Hakem, T. W. Mak and S. W. Lowe. 1999. Apaf-1 and caspase-9 in p53-dependent apoptosis and tumor inhibition. *Science.* 284:156-159.
70. Tewari, M. and V. M. Dixit. 1995. Fas- and tumor necrosis factor-induced apoptosis is inhibited by the pox virus crmA gene product. *J. Biol. Chem.* 270:3255-3260.
71. Thome, M., P. Schneider, K. Hofmann, H. Fickenscher, E. Meinel, F. Neipel, C. Mattman, K. Burns, J. L. Bodmer, M. Schröter, C. Scaffidi, P. H. Krammer, M. E. Peter and J. Tschoopp. 1997. Viral FLICE-inhibitory proteins (FLIPs) prevent apoptosis induced by death receptors. *Nature* 386:517-521.
72. Tollefson, A. E., T. W. Hermiston, D. L. Lichtenstein, C.F. Colle, R. A. Trip, T. Dimitrov, K. Toth, C. E. Wells, P.C. Doherty and W. S. Wold. 1998. Forced degradation of Fas inhibits apoptosis in adenovirus-infected cells. *Nature* 392:726-730.
73. Vilcek, J. and G. C. Sen. 1996. Interferons and other cytokines. In: B. N. Fields, Knipe D. M. and P. M. Howley (ed). *Fundamental Virology*. Third ed. Lippincott-Raven Publishers.
74. Virgin, H. W., P. Latreille and P. Wamsley. 1997. Complete sequence and genomic analysis of murine gammaherpesvirus 68. *J. Virol.* 71:5894-5904.
75. Wang, G. H., J. Bertin and Y. Wang. 1997. Bovine herpesvirus 4 BORFE2 protein inhibits Fas- and tumor necrosis factor receptor 1-induced apoptosis and contains death effector domains shared with other gamma-2 herpesviruses. *J. Virol.* 71:8928-8932.
76. Xue, D. and H. R. Horvitz. 1995. Inhibition of the *Caenorhabditis elegans* cell-death protease CED-3 by a CED-3 cleavage site in baculovirus p35 protein. *Nature* 377:248-251.
77. York, I. A. and K. L. Rock. 1996. Antigen processing and presentation by the class I major histocompatibility complex. *Annu. Rev. Immunol.* 14:369-396.
78. Yoshida, H., H. Sumichika, S. Hamano, X. He, Y. Minamishima, G. Kimura and K. Nomoto. 1995. Induction of apoptosis of T cells by infecting mice with murine cytomegalovirus. *J. Virol.* 69:4769-4775.
79. Zhou, Q., S. Snipas, K. Orth, M. Muzio, V. M. Dixit, G. S. Salvesen. 1997. Target protease specificity of the viral serpin CrmA. Analysis of five caspases. *J. Biol. Chem.* 272:7797-7800.
80. Zhu, H, Y. Shen and T. Shenk. 1995. Human cytomegalovirus IE1 and IE2 proteins block apoptosis. *J. Virol.* 69:7960-7970.