

Principales descubrimientos en la inmunología después del año 1980

1980 B. Benacerraf (USA), J. Dausset (France) and G.D. Snell (USA) for their discoveries concerning genetically determined structures on the cell surface (major histocompatibility complex) that regulate immunological reactions.

1984 N.K. Jerne (Denmark/Switzerland) for theories concerning the specificity in development (lymphocyte clonality) and control of the immune system

1984 G.J.F. Köhler (Germany/Switzerland) and C. Milstein (Argentina/Great Britain) for the discovery of the principle for production of monoclonal antibodies.

1987 S. Tonegawa (Japan/USA) for the discovery of the genetic principle for generation of antibody diversity.

Principales descubrimientos en la inmunología después del año 1980

1996 P. Doherty and R. Zinkernagel (USA) for their discovery of how the immune system recognizes virus-infected cells uncovered the general mechanisms of the immune system to distinguish foreign agents from its own cells and tissues.

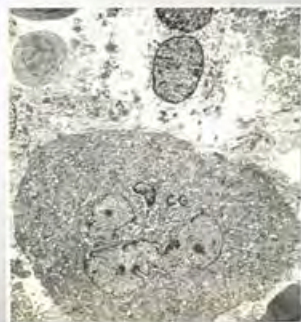
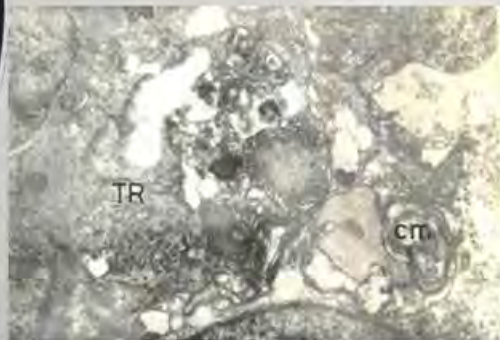
2002 Sydney Brenner, Howard Horvitz and John Sulston for their Discovery of genetic regulation of organ formation and programmed death.

2006 Craig Mello for his discovery concerning the RNA interference: as viruses attack the cellular genes to achieve defend harmful attacks.

2011 B.A. Beutler (USA) and J.A. Hoffmann (France) for their discoveries concerning the activation of innate immunity

2011 R. M. Steinman (USA) for his discovery of the dendritic cell and its role in adaptive immunity





1. Se demostró por primera vez partículas semejantes al virus de la rubéola en el timo de los embriones de los conejos comprobándose la acción lítica del mismo sobre los timocitos

Se discute la posibilidad de que esto sea la causa de la persistencia del virus con altos títulos de IgM, sugiriéndose que esto puede deberse a la falta de cooperación de los linfocitos T en los mecanismos de la respuesta inmune celular, la cual es timo dependiente, mientras que la producción de IgM no depende de esta células.

Simons M.J. Congenital rubella: an immunological paradox? *Lancet*; 1968, 2:1275-1278.

Mecanismo de persistencia del virus rubéola en infección congénita
María P. Adamo , Mauro S. Pedranti, María J. Calloni Sappag, Marta
T. Zapata.

Revista Facultad de Ciencias Médicas 2009; 66(Supl.1): 7-14

Los factores que determinan la duración de la excreción viral no se conocen.

Los mecanismos teratogénicos tampoco están dilucidado, aunque resultados directos de la replicación del virus (crecimiento lento y depolimerización del citoesqueleto) durante períodos críticos de la ontogenia podrían dar lugar a las malformaciones del SRC . También podría contribuir cierto efecto lítico de RUB en las células embrionarias / fetales y mediadores de la respuesta inmune . La posible participación del proceso de muerte celular inducido por RUB en el mecanismo teratogénico se renovó después al describirse la capacidad de RUB de inducir apoptosis in vitro .

Hipótesis de persistencia viral en la infección congénita por virus Rubéola. Varios mecanismos podrían explicar la persistencia de RUB en la infección congénita

A. Defecto en los mecanismos de defensa del hospedador.

La inmunotolerancia clásica (con ausencia de anticuerpos) no es una característica de la rubéola congénita, pero se han observado diferencias cualitativas en la respuesta de anticuerpos en las infecciones postnatal y congénita, y falla en la respuesta proliferativa in vitro de linfocitos de recién nacidos con rubéola congénita (25). Esta deficiencia indica disfunción de la inmunidad mediada por células y podría conducir a la persistencia viral por falta de eliminación de las células infectadas

B. Efectos teratogénicos y persistencia intracelular del virus independientes.

La disfunción inmune sería consecuencia de la infección fetal y dependerá del tiempo de gestación al momento de la infección. La invasión del feto por RUB resulta en una población de células infectadas que tienen un tiempo de vida finito. Si la inmunidad celular es deficiente, las células infectadas sobrevivirán hasta completar su tiempo de vida determinado. El virus persistirá en tanto las células infectadas sobrevivan. Así, la duración de la infección está determinada por el tiempo de vida de la célula infectada y es influenciada secundariamente por mecanismos inmunológicos

El sistema inmune ha "previsto" dos rutas diferentes de procesamiento, según que la amenaza sea un antígeno endógeno (intracelular) o exógeno (extracelular). Como ya sabemos, en cada caso existe una respuesta inmune diferente: actuación de células T citolíticas (CTL) para el antígeno endógeno, y producción de anticuerpos del tipo IgG para el antígeno exógeno.

Los antígenos exógenos se procesan por la ruta endocítica, tras lo cual los péptidos resultantes se unirán a moléculas MHC de clase II, lo cual dará la señal a los linfocitos T "auxilladores" (TH).

Los antígenos endógenos se procesan por la ruta citosólica, tras lo cual sus péptidos se unirán a moléculas de MHC de clase I de la célula enferma, que así se convierte en diana para la actuación de linfocitos T "asesinos" (TC, que en su forma "ejecutora" se denominan linfocitos T citolíticos, CTL).

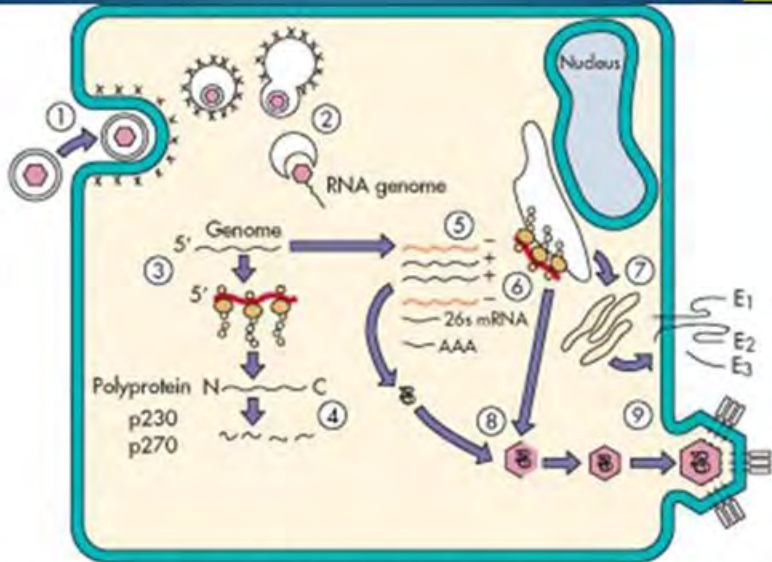
1.-La partículas virales son capaces de infectar tanto a neutrófilos como a eosinófilos.

2.-Los macrófagos sufren un efecto lítico producto de la acción del virus durante las primeras 72 horas post inoculación.

3.-Se produce una recuperación de la cavidad pasadas las 72 horas predominando los fibroblastos.

4.- No hay efecto del virus en las células proveniente de ratas inmunizadas previamente con el virus de la rubéola.

Se discute la posibilidad de la penetración del virus mediante las vacuolas fagocíticas y ensamblaje de las partículas maduras del mismo en el aparato de Golgi



Inducción de IFN alfa y Beta en la línea celular de fibroblasto de pulmón humano (Hs888Lu) infectados por RUB.

El ARN viral de doble cadena generado por el virus durante su replicación es reconocido en la línea celular de fibroblasto por TLR3/4 activando varios factores que en el núcleo promueven la transcripción de IFN alfa y beta. El IFN secretado se une a sus receptores en la superficie celular y desencadena la respuesta antiviral, incluyendo la expresión de OAS y MX, las que participan en la degradación de ARN y proteínas virales. IFN también induce la actividad de proteínas apoptóticas.

Conclusiones:

1.- Los efectos de virus se manifiestan de manera mas lenta en los cultivos de macrófagos, las mayores alteraciones son observadas a las 72 horas posterior a la inoculación del virus.

2.. Se pone en evidencia que el mecanismo de penetración del virus es a través de endocitosis y la liberación del mismo al citoplasma celular se produce por fusión del mismo con la membrana de la vacuola fagocítica.

3.. Existen alteraciones de los microfilamentos y microtúbulos relacionado con la infección viral.

4.- Los macrófagos proveniente de las ratas previamente inmunizadas no presentan alteraciones.

Se discute la posibilidad de que el efecto retardado de infección del virus se deba a que haya una activación de los macrófagos por le implantación de la lámina cubreobjeto en la cavidad peritoneal y que en el caso de las ratas inmunizadas, exista una cooperación linfocito-macrófago para la producción de interferón, lo cual evita la infección viral.

El análisis de expresión de genes en cultivos infectados permitió identificar ~500 genes inducidos o suprimidos por RUB en FFH (fibroblastos fetales) y en Hs888Lu (fibroblastos de pulmón humano adulto) (de identidad diferente pero con un patrón de funciones similar); 5% de ellos participan en la defensa celular (respuesta innata, citoquinas, quemoquinas), y la mayoría de los restantes interviene en transducción de señales, regulación de la transcripción y metabolismo celular.

Las células fetales tienen sobre-expresados genes anti-apoptóticos y sub-expresados genes pro-apoptóticos, de tal manera que el patrón de expresión de genes prevaleciente promueve la supervivencia en FFH

Del análisis de los genes inducidos y suprimidos por RUB en células Hs888Lu surge que el patrón de expresión de genes en estas células promueve la apoptosis luego de la infección, en la cual la vía del IFN tiene una participación importante (23)

La inducción del IFN es parte de la respuesta antiviral de la célula fetal, sin embargo la fase efectora de la apoptosis parece estar bloqueada por diversos mecanismos anti-apoptóticos

22. Pugachev K Y, and Frey T K, 1998. Rubella virus induces apoptosis in culture cells. *Virology* 250, 359 – 370.

23. Duncan R, et al 1999. Rubella virus induced, apoptosis varies among cell lines and is modulated by Bcl-XL and caspase inhibitors. *Virology*; 1999, 255:117-128.

Martínez L D, Zapata M T. Apoptosis induction by the infection with Gilchrist strain of rubella virus. *J Clin Virol*; 2002, 25:309-315

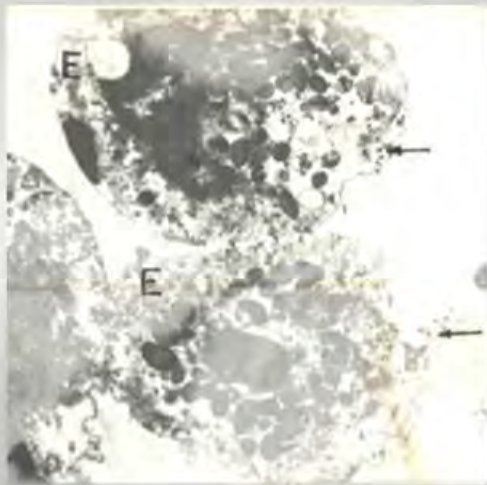
Entre 1998 y 2002 se demostró que RUB induce apoptosis con activación de caspasa 3 en cultivos (Vero, RK13, neuronas de ratón), que el efecto citopático (ECP) de RUB está mediado por la apoptosis y que la magnitud de apoptosis inducida varía entre tipos celulares (Megyeri y col. En 1999), observaron apoptosis inducida por RUB en células Vero y RK13, pero no en dos líneas de fibroblastos embrionarios humanos (HEL-17 y HEL-18). Muchos virus activan sensores que desencadenan la apoptosis como respuesta innata frente a la infección viral (37-38). En este caso la apoptosis sería un mecanismo de defensa autónomo de la célula destinado a cortar el ciclo de replicación del virus y deshacerse de la célula infectada (39-40).

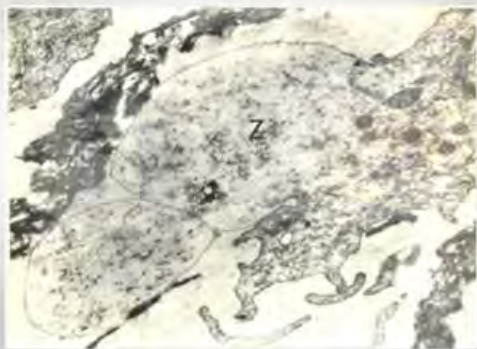
- 22. Pugachev K.V. and Frey T K. 1998. Rubella virus induces apoptosis in culture cells. *Virology* 250, 359 – 370.
- 23. Duncan R. et al. 1999. Rubella virus induced apoptosis varies among cell lines and is modulated by Bcl-XL and caspase inhibitors. *Virology*; 1999, 255:117-128.
- Martínez L.D, Zapata M.T. Apoptosis induction by the infection with Gilchrist strain of rubella virus. *J Clin Virol*; 2002. 25:309-315
- 39. Everett H, McFadden G. Apoptosis: an innate immune response to virus infection. *Trends Microbiol*; 1999, 7:160-165.
- 40. Koyama A H, Adachi A. Physiological significance of apoptosis during animal virus infection. *Int Rev Immunol*; 2003, 22:341-359.

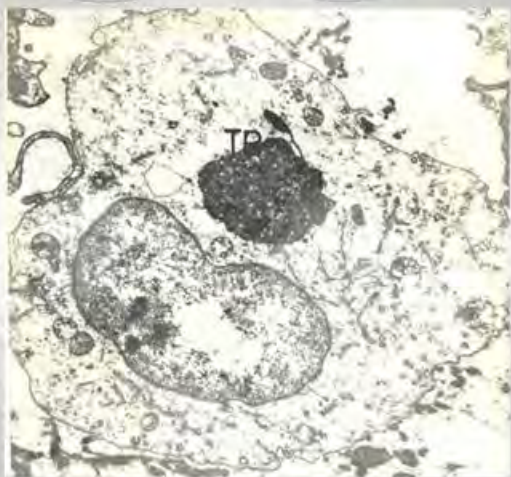
Rol de la apoptosis en la infección por virus rubéola.

La capacidad de RUB para inducir apoptosis en distintos tipos celulares difiere según su grado de diferenciación y no proliferación. Además RUB induce la activación de Akt y ERK en células Vero, BHK-21, Hs888Lu y RK-13 (55), aunque sólo de manera transitoria y previo a la aparición de ECP (apoptosis) en el cultivo. Ello indica que la apoptosis inducida por RUB es un mecanismo innato de defensa contra la infección viral, autónomo de la célula. Como otros virus, RUB habría encontrado una vía para escapar a este mecanismo de defensa, prolongando la vida de la célula el tiempo suficiente para completar su ciclo.

Dado que se observan diferencias en el potencial apoptogénico de diferentes cepas de RUB, siendo más citopatogénicas las cepas salvajes que las cepas atenuadas prototipos, el grado de atenuación viral también influye en su habilidad para sobrepasar el umbral de detección de la infección e inducción de la respuesta antiviral. Aún no se sabe qué factores influyen en la capacidad apoptogénica de RUB. Hasta ahora no se encontraron dominios en las proteínas virales capaces de interactuar con proteínas celulares para inducir apoptosis por vía Intrínseca, pero experimentos en los que se bloquea la actividad del IFN sugieren que existe un mecanismo por el que RUB induce apoptosis Independiente de la vía del IFN (23).







Conclusiones

- 1.- Las elucubraciones científicas realizadas en esta tesis de doctorado hace 34 años fueron demostradas con los descubrimientos posteriores al año 1980.
- 2.- Aun queda vigente en la literatura la no respuesta a la Paradoja Inmunológica, a pesar de que en esta tesis se demuestra la destrucción de las células del timo causada por la infección del virus de la rubeola, que explica como la respuesta celular de los mecanismos de defensa inmunológicos contra virus están afectados por no poderse llevar a cabo la cooperación de los linfocitos T CD4 auxiliares para la producción de anticuerpos IgG, así como la acción citotóxica de los T CD8.
- 3.- Los cambios ultraestructurales que fueron descritos como causa de la infección viral a la luz de los nuevos conocimientos no son mas que signos del proceso de muerte celular programada o apoptosis causado por la infección viral.