



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY



Patógenos inteligentes y sus estrategias para reprogramar sus hospederos

Juan Andrés Santos

- Marcela Almada

; Santiago Ramos

María Laura Chiribao

Ciclo de Metodología Científica II-2020

Grupo N° 79

Facultad de Medicina

Universidad de la República del Uruguay

Tabla de contenido

RESUMEN	2
ABSTRACT	3
PALABRAS CLAVES	4
INTRODUCCIÓN	5
Ciclo celular y su regulación	6
Daño al ADN y respuesta al daño en el ADN	7
Muerte celular	8
Apoptosis	8
Piroptosis	10
Breve reseña del sistema inmunológico	10
Señalización por NF- κ B: rol central en la inmunidad, supervivencia celular y regulación del ciclo celular	12
OBJETIVO GENERAL	14
METODOLOGÍA	14
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
Perturbación del ciclo celular y sus consecuencias	15
Manipulación de la muerte celular	19
Estrategias para evadir el sistema inmune innato	24
CONCLUSIONES	27
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
ANEXOS	33

RESUMEN

Dentro de los desafíos para la salud, las enfermedades infecciosas se caracterizan por su capacidad de presentar una profunda repercusión en la especie humana, constituyendo las grandes pandemias y epidemias locales a lo largo de la historia. En la actualidad, a pesar de los avances en tecnología, prevención y accesibilidad de tratamientos, las enfermedades infecciosas siguen siendo una importante causa de morbimortalidad, dándonos una sensación de vulnerabilidad frente a ellas. La repercusión de estas enfermedades disminuye con el desarrollo de los países. En nuestro país se logró el control de muchas enfermedades infecciosas gracias a la implementación de nuevas vacunas en los esquemas de vacunaciones, el control de los vectores transmisores de diversas enfermedades y el tratamiento y seguimiento de los pacientes, sin embargo no ha sido suficiente puesto que han surgido nuevos y numerosos casos de enfermedades infecciosas capaces de producir un importante impacto en el ser humano. En todos los casos existe una estrecha relación hospedero-patógeno que se caracteriza por una alteración o modulación de distintos procesos celulares. Se ha observado que los patógenos presentan diferentes estrategias para secuestrar o modular ciertas vías biológicas para su propio beneficio, por ejemplo evadiendo la respuesta inmune, modulando la muerte celular y/o mediante la alteración del ciclo celular, entre otros. La capacidad de modular estas vías por los patógenos a nivel celular determinará el transcurso de las distintas enfermedades.

En este estudio, hemos realizado un análisis comparativo en la respuesta de las células hospederas frente a diferentes patógenos intracelulares tanto virus como protozoarios, con el objetivo de conocer sus estrategias para manipular distintas vías celulares. Este trabajo evidenció diferencias y similitudes en las estrategias para modular las células hospederas lo cual puede ser de gran utilidad a la hora de buscar tratamientos nuevos para las distintas enfermedades.

ABSTRACT

Among the health challenges, infectious diseases are characterized by their ability to have a profound impact on the human species, constituting the great local pandemics and epidemics throughout history. At present, despite advances in technology, prevention and accessibility of treatments, infectious diseases continue to be a major cause of morbidity and mortality, giving us a feeling of vulnerability in the face of them. The impact of these diseases decreases with the development of the countries. In our country, the control of many infectious diseases was achieved thanks to the implementation of new vaccines in the vaccination schedules, the control of the transmission vectors of various diseases and the treatment and monitoring of patients, however it has not been sufficient since new and numerous cases of infectious diseases have emerged capable of producing a significant impact on humans. In all cases, there is a close host-pathogen relationship that is characterized by an

alteration or modulation of different cellular processes. It has been observed that pathogens present different strategies to sequester or modulate certain biological pathways for their own benefit, for example by evading the immune response, modulating cell death and/or by altering the cell cycle, among others. The ability to modulate these pathways by pathogens at the cellular level will determine the course of different diseases.

In this study, we have carried out a comparative analysis of the response of host cells to different intracellular pathogens, both viruses and protozoa, with the aim of knowing their strategies to manipulate different cellular pathways. This work showed differences and similarities in the strategies to modulate host cells, which can be very useful when searching for new treatments for different diseases.

PALABRAS CLAVES

Ciclo celular, Muerte celular, Sistema inmune innato, Célula hospedera, Modulación, Manipulación, Patógenos intracelulares, VIH, VHC, Zika, *Trypanosoma cruzi*, *Toxoplasma Gondii*, *Leishmania*

INTRODUCCIÓN

Los procesos relacionados con la división celular, la muerte celular y la diferenciación son fundamentales para regular el correcto funcionamiento de los organismos. Estos procesos están regulados por vías de señalización interconectadas entre sí, en donde los puntos de chequeo del ciclo celular, la reparación en el daño del ADN y la inducción de la muerte celular juegan un rol fundamental. La desregulación del ciclo celular así como de la muerte celular tienen como consecuencia el desarrollo de distintas enfermedades, entre ellas el cáncer, las enfermedades inflamatorias y neurodegenerativas así como las enfermedades infecciosas.

Las enfermedades infecciosas presentan ciertas peculiaridades con respecto al resto de las enfermedades; son impredecibles y pueden jugar un efecto global explosivo. Un ejemplo de esto es la actual pandemia mundial de COVID 19 causada por el nuevo coronavirus Sars Cov 2, cuyo impacto global a nivel de la salud, de la economía y social, entre otros ha sido devastador pero aún incierto (1). Otra de las características es que son enfermedades transmisibles a otros. A diferencia de otras enfermedades crónicas cuyas causas son multifactoriales, las enfermedades infecciosas son causadas generalmente por un único agente infeccioso cuya identificación facilita el manejo de la enfermedad. Dada su naturaleza, las enfermedades infecciosas son potencialmente prevenibles con determinadas políticas públicas o abordajes inmunológicos como la vacunación. Por último, una de las características más destacable de los agentes infecciosos es su gran adaptabilidad a sus hospederos y al entorno, lo cual les confiere una ventaja evolutiva evadiendo mecanismos que apuntan a su destrucción como el sistema inmune, factores ambientales y fármacos antimicrobianos (2).

De las 58,8 millones de muertes anuales en todo el mundo, aproximadamente 15 millones (25,5 %) son causadas por enfermedades infecciosas, datos que no incluyen muertes secundarias a causa de infecciones. Las enfermedades causadas por virus son una de las principales contribuyentes a estas cifras (enfermedades respiratorias, SIDA, Hepatitis B) y otras como la Malaria, causadas por parásitos protozoarios (2). De hecho, existe un grupo importante de enfermedades, denominadas enfermedades tropicales desatendidas que afectan a más de 1 billón de personas, asociadas muchas de ellas a la pobreza en regiones tropicales o subtropicales. Entre estas enfermedades se destaca la malaria, la enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis americana y la Leishmaniasis, esta última ha cobrado importancia recientemente en nuestro país (3). Existen diversos patógenos que causan diferentes enfermedades para los humanos, cada uno tiene una estrategia propia para ingresar al organismo, burlar el sistema inmune, encontrar su objetivo ya sea a nivel celular, molecular u orgánico y de esta manera aprovechar los recursos celulares que le permitan reproducirse y cumplir sus ciclos de vida.

Estudios transcriptómicos en células infectadas con diferentes protozoarios (4–7), virus (8,9) y bacterias (10) han revelado la capacidad de estos microorganismos de modular y reprogramar la

expresión génica de la célula hospedera alterando diferentes vías de señalización y metabólicas. Algunos de los procesos celulares alterados más importantes están relacionados con la inflamación y respuesta inmune, muerte y proliferación celular, metabolismo energético y lipídico entre otros.

Ya que las células eucariotas y más específicamente las humanas tienen un alto nivel de complejidad en sus procesos y vías metabólicas, necesarios para el correcto desarrollo de sus funciones, en esta revisión nos enfocaremos principalmente en tres procesos que son perturbados por los agentes infecciosos; en primer lugar analizaremos la información relacionada a la alteración de la señalización y control del ciclo celular y la muerte celular así como su vínculo con la respuesta al daño en el ADN y por otro lado, algunos aspectos vinculados a la evasión del sistema inmunitario, con un foco en las células de la inmunidad innata.

Ciclo celular y su regulación

El ciclo celular o ciclo de división celular se define como la serie de eventos que tienen lugar en una célula y generan como resultado su división en dos células hijas. El ciclo celular presenta una interfase en la cual no se observan cambios al microscopio y la mitosis (fase de división del núcleo). La interfase es la preparación de la células para la división celular y se puede dividir en 3 etapas: G1 o Gap1 es la fase en que la célula crece, la fase S en donde se sintetiza el ADN y la fase G2 en la cual la mitocondria se divide y la célula se prepara para la división. La mitosis y la citoquinesis (división celular) no forman parte de la interfase. Existen diferentes puntos de control denominados “Checkpoints” que aseguran la detención del ciclo celular cuando las condiciones no son óptimas (por ejemplo frente al daño en el ADN). Los principales puntos de control son G1 checkpoint, el principal que es el de G2/M y luego otro en la transición de metafase a anafase (durante la mitosis) (11).

Cuando la célula está en reposo se encuentra en un estado denominado G0, aquí las señales intrínsecas y extrínsecas que inhiben o inducen la entrada del ciclo se encuentran desplazadas hacia la inhibición. Una vez que los factores extrínsecos (factores de crecimiento, hormonas, interleucinas entre otros) y los factores intrínsecos se activan, la célula ingresa en la fase G1 del ciclo. Este proceso celular está altamente regulado con puntos de control en los que la célula evalúa su estado antes de continuar con el siguiente paso, ya que una vez iniciada cada etapa su avance es irreversible (12).

Durante las distintas fases del ciclo se expresan proteínas denominadas ciclinas que participan en la regulación del ciclo celular mediante un grupo de quinasas de Ser/Thr denominadas quinasas dependientes de ciclinas (CDK), las cuales fosforilan distintos blancos para regular su actividad. La actividad de estas proteínas depende de su unión a las ciclinas que se expresan diferencialmente en las distintas etapas del ciclo como se muestra en la Figura 1. Las CDK poseen distintas afinidades por las

ciclinas, algunas tienen afinidad por más de una y otras solo tienen una ciclina específica (Figura 1). Estas CDK pueden estar tanto estimuladas como inhibidas por distintos factores como por ejemplo las proteínas p21 y p53 quienes se encargan de detener el ciclo si existe daño en el ADN. Es gracias a estos factores que la célula detiene su ciclo y comprueba que no hay ninguna alteración, principalmente que el ADN no presente daños, lo que generaría que la célula resultante se reproduzca con este daño lo que resultaría en algo catastrófico para ese linaje celular ((13))(14)

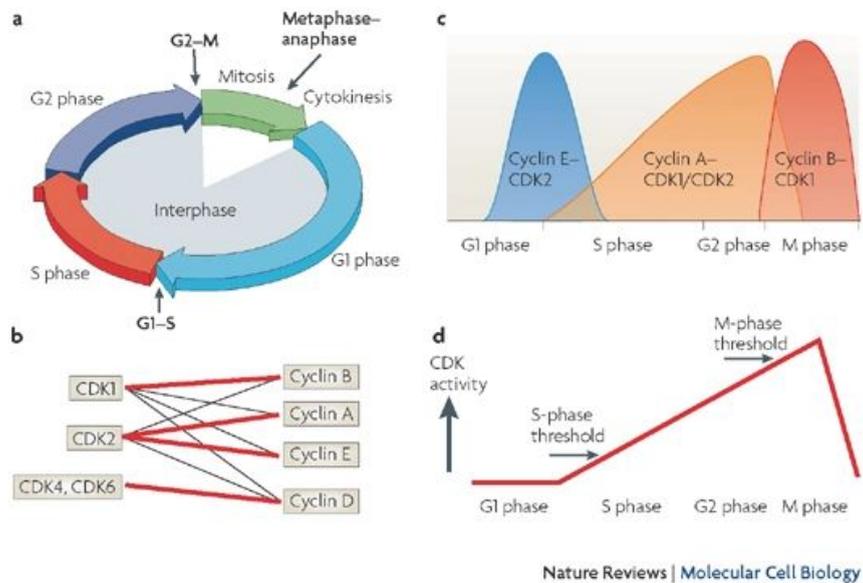


Figura 1: Regulación del ciclo celular. a) Representación del ciclo celular en una célula típica con sus cuatro fases G1, S, G2 y M. b) Interacción de las enzimas quinasas dependientes de ciclina (CDK), y su afinidad a las distintas proteínas ciclinas. c) Niveles de actividad de las ciclinas y CDK en cada etapa del ciclo. d) Actividad de las CDK según avanza el ciclo celular (14).

Una vez que la célula sensa que no hay alteraciones y comprueba que es prudente avanzar en el ciclo, las CDK permiten el pasaje de G1 a S, la fase S es la fase de síntesis, aquí es donde todo el genoma y proteoma se duplica, es también en esta fase donde muchos de los patógenos se benefician de las “materias primas” que provee la célula para su proliferación (15). Tanto p21 como p53 (entre otros factores) juegan un rol central en la regulación de diferentes fases del ciclo, por lo que estas moléculas y los genes que los codifican son blanco de manipulación por diferentes patógenos (13).

Daño al ADN y respuesta al daño en el ADN

Es muy importante que la información genética de cada célula se mantenga íntegra y dado que el ADN sufre continuamente agresiones o daños por diversos factores es fundamental para la célula contar con una maquinaria eficiente de detección y reparación del daño. Una de las causas más

importantes de daño al ADN es la infección celular por diferentes patógenos, en este contexto la célula monta respuestas inflamatorias hostiles para combatir al patógeno llevando al daño en su propio genoma. Otros patógenos como los virus, impactan en el genoma a través de genotoxinas u oncoproteínas que inducen cambios en el genoma de la célula hospedera. La expresión de oncogenes durante la infección viral induce estrés de replicación, lo cual desencadena una respuesta al daño en el ADN repercutiendo en el ciclo celular como veremos más adelante. En el caso de la infección por parásitos protozoarios, el daño parece ser generado por procesos inflamatorios y de respuesta del hospedero, los cuales mediante generación de oxidantes o la activación que modifican las bases nitrogenadas del ADN (16).

Frente al daño en el material genético se activa una vía denominada respuesta al daño en el ADN (DDR en inglés) permite no solo controlar la detención del ciclo celular sino también activar vías de reparación en los sitios de daño, activar la transcripción de ciertos genes y eventualmente desencadenar la muerte celular. Cuando se induce la vía DDR se activa la proteína Chk2 (Checkpoint kinase 2) la cual fosforila diferentes sustratos incluyendo las fosfatasa Cdc25A y Cdc25C que participan en la detención del ciclo celular a nivel de G1 o en la transición de G2 a M respectivamente (17). Chk2 también regula directamente la muerte celular promoviendo la apoptosis mediada por p53. Dentro de los efectores, existen mecanismos solapantes que aseguran la detención del ciclo celular en G1 o G2 por diferentes vías como consecuencia del daño en el ADN. Esta es otra de las vías manipuladas por patógenos intracelulares, principalmente los virus (16).

Muerte celular

La muerte celular se produce en organismos multicelulares, se trata de un proceso crítico y activo, en el cual se elimina la célula potencialmente dañada con el fin de mantener la homeostasis de los tejidos. Dentro de las principales formas de muerte celular se describen: apoptosis, necrosis, oncosis, piroptosis y autofagia, los cuales pueden acontecer por vías de señalización diferentes o en algunos casos en forma superpuesta. La apoptosis, piroptosis y la necroptosis son tipos de muerte celular programada que presentan sus particularidades y son vías blanco de modulación por patógenos intracelulares para su diseminación y/o persistencia en sus hospederos. Veremos algunas de las características principales de la apoptosis y la piroptosis tres tipos de muerte celular programada que participan en los procesos infecciosos.

Apoptosis

Este tipo de muerte celular involucra la activación de una serie de eventos que termina en la muerte celular genéticamente regulada, por lo que se la denomina muerte celular programada o suicidio

celular. Cuando ocurre este tipo de muerte celular, se produce en forma ordenada y silenciosa, tiene como una de las características principales que la membrana celular no se destruye, sino que engloba los cuerpos apoptóticos, los cuales son reconocidos, captados y eliminados por los fagocitos, evitando la inflamación y por ende produce daño mínimo a los tejidos circundantes. La vía apoptótica depende de la activación de ciertas proteasas denominadas caspasas, dentro de las que se encuentran las caspasas iniciadoras (casp 8 y 9) y las caspasas efectoras (casp 3, 6, 7) las cuales desencadenan la fragmentación del ADN, la destrucción del citoesqueleto y la formación de cuerpos apoptóticos entre otros (18).

La apoptosis puede ser estimulada por dos vías diferentes, la vía intrínseca y la vía extrínseca. La vía intrínseca o mitocondrial se inicia cuando la célula misma detecta daño, esta detección es llevada a cabo por una gran variedad de sensores y puede ser inducida por una vía positiva o negativa. La vía positiva se inicia en presencia de ciertos agentes tóxicos para la célula como la hipoxia, toxinas, especies reactivas del oxígeno, virus entre otros. La vía negativa por otro lado se activa en ausencia de ciertos factores en el entorno celular, como factores de crecimiento algunas citocinas y hormonas. La falta de estas señales de crecimiento y sobrevida, activa o induce moléculas pro apoptóticas como noxa, puma y bax que normalmente se encuentran inhibidas, dando inicio a la apoptosis (18). La activación de la vía intrínseca de la apoptosis, lleva a la liberación de proteínas proapoptóticas a través de poros de la membrana mitocondrial, hacia el citoplasma (Ejemplo: el citocromo c, Smac / Diablo y HtrA2 /Omi) provocando la activación de cascada de proteínas caspasas. El citocromo interactúa con Apaf-1, formándose un complejo, que activa la pro-caspasa-9 y como consecuencia, se activa la caspasa-3 efectora. Los eventos ocurridos durante la apoptosis intrínseca están estrictamente controlados por la familia de proteínas Bcl-2 y la proteína supresora tumoral p53 (involucrada en la activación de la familia Bcl-2). La vía extrínseca, también conocida como vía del receptor de muerte (DR), es iniciado por células asesinas naturales o macrófagos al producir ligandos, que al unirse con los DR en la membrana de la célula diana (Los DR son miembros de la superfamilia del factor necrosis tumoral (TNF)), inducen la vía extrínseca a través de la activación de procaspasa 8 a caspasa 8, la cual inicia la activación de las caspasa efectora Casp3 (18).

Dentro de los diferentes tipos de estrés que sufren las células se encuentra el daño en el ADN, producido por ejemplo en infecciones causadas por virus y protozoarios. Como veremos más adelante, muchos patógenos son capaces de interferir tanto con la señalización de daño en el ADN como con la señalización que lleva a la apoptosis, evitando o acelerando este proceso.

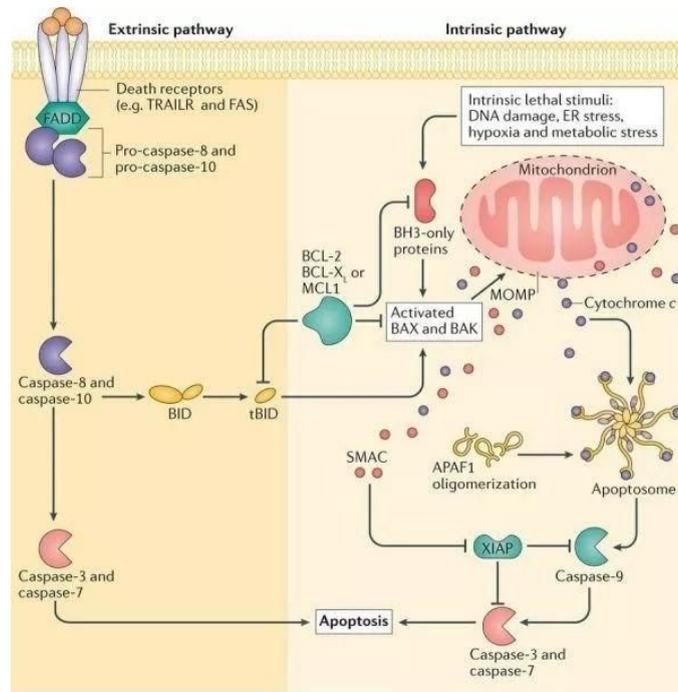


Fig 3: Activación de la vía intrínseca y extrínseca de la apoptosis (19)

Piroptosis

La piroptosis, es un tipo de muerte celular programada, que depende de caspasas inflamatorias como la caspasa 1, la caspasa 4 o la caspasa 5, la cual a diferencia de la apoptosis clásica, ocurre en un ambiente proinflamatorio con afectación de las células vecinas, y la característica lisis celular por formación de poros en la membrana celular. La muerte celular por piroptosis se desencadena por la activación del inflamasoma, un complejo formado por sensores y caspasas que llevan a la lisis celular y a la liberación de IL1b y de IL18. Ambas citoquinas son una marca característica de la activación del inflamasoma. IL18 promueve la liberación de IFN gamma en las células TH1, NK y células T citotóxicas, por lo que tiene un rol importante frente a patógenos intracelulares (20).

Breve reseña del sistema inmunológico

El sistema inmunitario es el encargado de mantener la integridad del individuo, este encuentra patógenos ya sean propios o ajenos, los destruye y/o neutraliza las toxinas (sin necesidad de destruirlas). Esta función es llevada a cabo gracias a que la respuesta inmune se divide en diferentes niveles que funcionan como barreras al ingreso de elementos extraños o agentes infecciosos. Estos niveles son la respuesta inmune innata y la adaptativa. En este trabajo nos centraremos en la respuesta inmune innata, mencionando a la inmunidad adaptativa como un proceso con el cual colabora la respuesta inmune innata. La inmunidad innata constituye la primera línea de defensa (horas) del

organismo contra el daño a tejidos e infecciones, por lo tanto se localiza en piel, mucosas y flora microbiana. Además, el sistema del complemento y algunas células como las células dendríticas, células epiteliales, granulocitos, macrófagos y células NK (Natural Killer) participan en este tipo de inmunidad.

Los macrófagos se encuentran en todo el organismo, derivan de un precursor mieloide que al madurar los libera a la sangre como monocitos, los cuales circulan un breve período de tiempo en la sangre y luego se dirigen a los tejidos para terminar su maduración. Dependiendo del estímulo al que es sometido, es el fenotipo que va a adquirir, pudiendo encontrarse muchísimas variedades de células con distintas denominaciones pero que todas derivan de un mismo precursor. Dependiendo del entorno, del contexto de citoquinas y de la duración de la exposición, los macrófagos pueden polarizarse en diferentes fenotipos, los cuales presentan diferentes capacidades efectoras. Clásicamente, esta polarización se ha definido como activación clásica o M1 que presenta un fenotipo inflamatorio o activación alternativa o M2 con un fenotipo antiinflamatorio (Figura 4). Actualmente, esta clasificación parece ser una simplificación excesiva ya que sobre todo en humanos, los macrófagos pueden presentar marcadores tipo M1 o M2 o incluso mezcla de ambos y de hecho se ha visto que su activación puede cambiar en respuesta a cambios en el entorno (21)

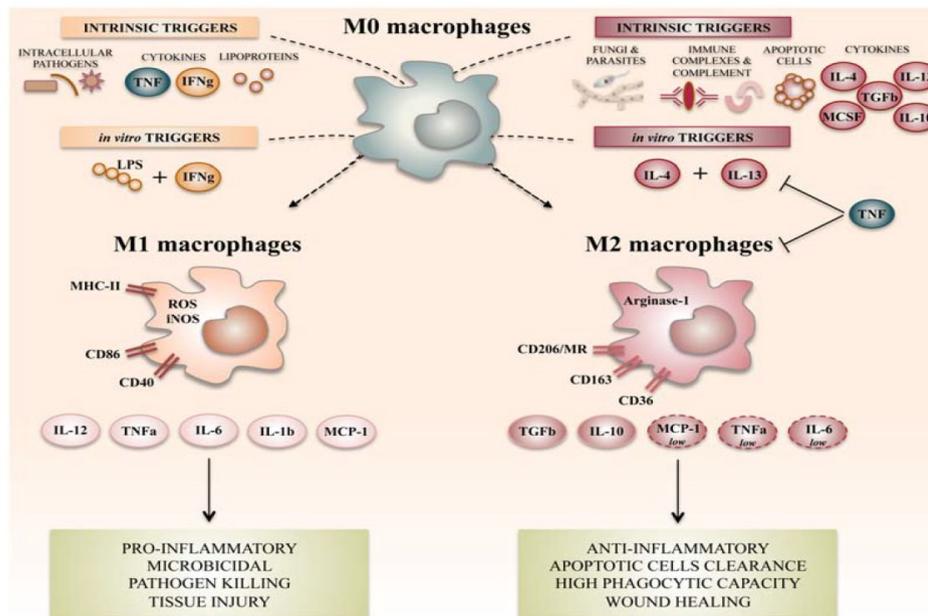


Figura 4: Esquema de la polarización de macrófagos. Distintos estímulos son capaces de inducir el fenotipo tipo M1 o M2. La activación genera la liberación de diferentes características así como la liberación de citoquinas y quimioquinas que llevan a un fenotipo proinflamatorio (M1) o anti inflamatorio-reparados (M2) (21)

El fenotipo M1 es característico de los macrófagos tisulares, los cuales tienen una robusta respuesta inflamatoria para la eliminación de patógenos intracelulares. Este fenotipo se genera en un entorno inflamatorio dominado por receptores TLR activados y por señalización dependiente de IFN gamma. Estos liberan citoquinas proinflamatorias como IL6, IL1B, IL12,, TNF alfa e IFN tipo I así como varias quimioquinas. Al interactuar con los linfocitos de la inmunidad adaptativa, genera que estos se polaricen hacia una respuesta TH1, lo que les permite combatir adecuadamente la amenaza. El fenotipo M2 de los macrófagos participa en la inmunidad contra helmintos y hongos y son generados por entornos donde se encuentran las IL10, IL4, IL23 y el factor estimulador de colonias de macrófagos (M-CSF). Son además el fenotipo característico en el embarazo, sobre todo en los primeros meses, donde se debe ocultar al embrión en formación del resto del sistema inmune ya que presenta antígenos que no son propios del organismo materno (22). Otra función de la inmunidad innata es la presentación de antígenos, proceso por el cual las células presentadoras de antígenos se presentan a través de las moléculas de MHC 2, antígenos exógenos al receptor TCR de la célula T, pertenecientes a la inmunidad adaptativa. El MHC1 se encuentra en todas las células nucleadas del organismo, y presenta antígenos endógenos procedentes del citosol. El sistema inmune es por tanto facultativo de discriminación entre lo “propio” y “no propio” , dado que cuando se pierde dicho equilibrio estamos ante fenómenos de autoinmunidad.

Señalización por NF-κB: rol central en la inmunidad, supervivencia celular y regulación del ciclo celular

La familia nuclear factor kappa B (NF-κB) representa un grupo inducible de factores de transcripción que participan en la regulación de diferentes procesos celulares como la inflamación, la respuesta inmune y la supervivencia celular entre otros (Figura 5). Los miembros de la familia NF-κB forman homómeros o heterodímeros *in vivo* y su combinación tiene como resultado las diferentes respuestas activadas. Las proteínas NF-κB se encuentran normalmente en el citosol y su actividad es regulada por su interacción con proteínas inhibidoras denominadas IκB (23).

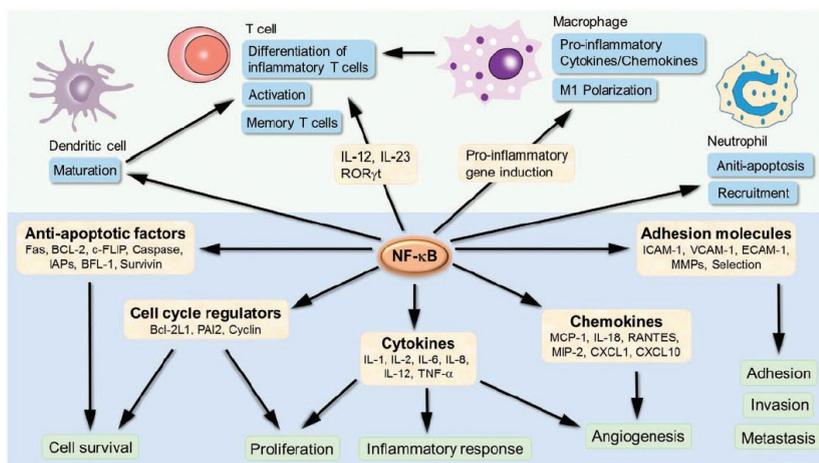


Figura 5: Señalización por NF-κB. Genes blanco de NF-κB y su participación en la regulación de la supervivencia celular, apoptosis, proliferación y respuesta inflamatoria (23).

Los complejos I κ B-NF- κ B citosólicos mantienen al factor de transcripción inactivo, el cual puede activarse frente a diferentes estímulos por 3 vías principales: la canónica, la no canónica y por una tercera vía menos conocida (Figura 6). La vía canónica es la primaria y se desencadena por diferentes estímulos como citoquinas, estrés, componentes microbianos, factores de crecimiento. Luego del estímulo se induce la fosforilación del inhibidor I κ B y como consecuencia su degradación en el proteasoma. Una vez liberado el factor NF- κ B (particularmente los dímeros p50/RelA y p50/cRel) se transloca al núcleo de manera rápida y transitoria en donde induce la expresión de sus genes blanco (24) (Figura 5 y Figura 6). La desregulación de esta vía ha sido asociada a distintos procesos patogénicos en distintas enfermedades inflamatorias (23).

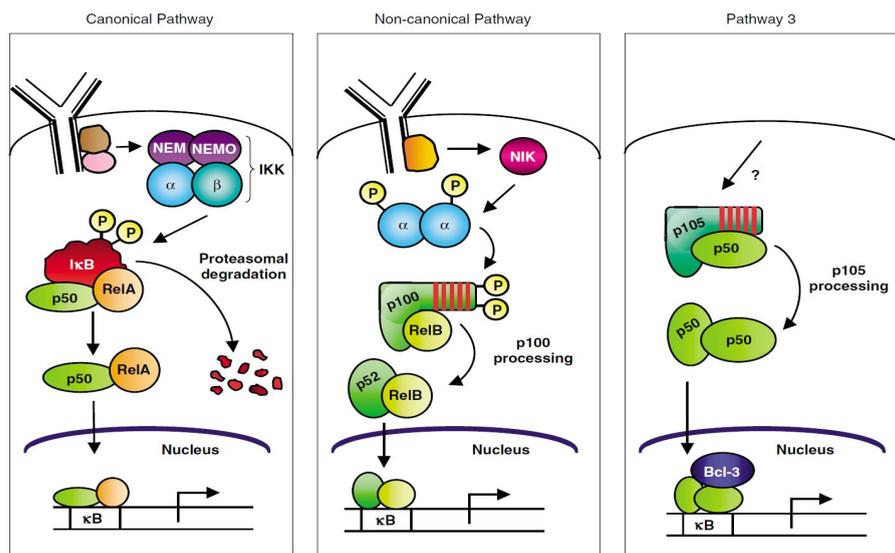


Figura 6: Diferentes vías de activación de NF κ B La vía canónica es la principal y se activa cuando el inhibidor de NF κ B es fosforilado y degradado. NF κ B se trasloca al núcleo donde activa la transcripción de sus genes blanco (24).

OBJETIVO GENERAL

Analizar y comparar algunas de las estrategias utilizadas por diferentes tipos de patógenos que causan infecciones en los seres humanos (en particular virus y protozoarios) para interferir, reprogramar, alterar y manipular diferentes procesos celulares como la muerte celular, la proliferación, el ciclo celular y la activación de vías inflamatorias. Pretendemos con esta revisión bibliográfica comprender de qué manera pueden ser alteradas ciertas vías celulares a nivel molecular durante la infección y qué impacto tiene esta manipulación de las vías de la célula hospedera para la persistencia, replicación y/o beneficio de los diferentes patógenos estudiados.

METODOLOGÍA

La estrategia de búsqueda bibliográfica para realizar este trabajo se puede dividir en dos partes; en un principio se realizó una búsqueda bibliográfica con el fin de comprender mecanismos generales de reprogramación en células infectadas con diferentes patógenos con un enfoque transcriptómico. En esta primera instancia buscamos artículos científicos donde se estudió la respuesta global a nivel transcriptómico de células humanas infectadas con diferentes protozoarios, bacterias, virus y hongos. La búsqueda se realizó en bases de datos Pubmed, Google Scholar, y Timbó utilizando los términos “Transcriptome” “Response” “Infections” “Reprogramming” “Intracellular pathogen”, “Microbial” “Intracelular” y los términos booleanos AND, OR y NOT. Luego de tener una visión global de las principales vías celulares alteradas en procesos infecciosos, seleccionamos algunos de los más representativos y particularmente en infecciones virales y aquellas causadas por protozoarios.

En la segunda etapa, se realizó una revisión bibliográfica enfocada al estudio de la interacción de diferentes virus y protozoarios con distintos tipos de células blanco, preferentemente en modelos de células humanas. Nos enfocamos en estudiar ciertas vías celulares que se ven afectadas durante el proceso de invasión y que son de gran relevancia para el correcto funcionamiento celular, como el ciclo celular, la muerte celular y la respuesta inflamatoria. Para ello se utilizaron como base de datos Pubmed, Google Scholar, y Timbó para la selección, lectura y discusión de artículos científicos de investigación y de revisión, principalmente en el modelo humano, aunque también se incluyó el modelo murino del cual muchas veces se dispone de mayor información. La búsqueda se realizó utilizando combinaciones de los términos de búsqueda “Cell cycle”, “Cell death”, “Host cell”, “Infection”, “Alteration”, “Modulation”, “DNA damage response” “Intracellular pathogen”, “VIH”, “VHC”, “Zika”, “*Trypanosoma cruzi*”, “*Plasmodium falciparum*”, “*Toxoplasma gondii*”, y los términos booleanos AND, OR y NOT. En el caso de las revisiones, se incorporó un filtro de fecha de publicación para considerar aquellas publicaciones posteriores al año 2010

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación analizaremos algunos de los mecanismos utilizados por virus y protozoarios para interferir con el ciclo celular de la célula hospedera, la muerte celular y la respuesta inflamatoria. Analizaremos las posibles ventajas para la persistencia y sobrevivencia de los microorganismos y su consecuencia en la patogénesis.

Perturbación del ciclo celular y sus consecuencias

Existen diferentes patógenos intracelulares que presentan la capacidad de perturbar el ciclo celular normal de muchas células humanas. La alteración del control del ciclo celular hace que las infecciones virales contribuyan de manera importante al desarrollo de cáncer. Dentro de ellos, los virus como los de la hepatitis B y C (VHB y VHC), son los principales agentes etiológicos de carcinoma hepatocelular y han sido asociados a linfoma no-Hodgkin (16).

En este trabajo daremos algunos ejemplos de estrategias utilizadas por diferentes patógenos intracelulares para modular el ciclo celular. Un ejemplo de ello es la proteína NS2 del VHC la cual detiene el ciclo en la fase S ya que inhibe el complejo ciclina A-CDK2. Esta proteína viral se une al promotor del ADN que regula la síntesis de ciclina A y lo inhibe, disminuyendo la cantidad de ARNm de ciclina A disponible, impidiendo la transición de S a G2 (15). A su vez NS2 está involucrada en otros procesos celulares, como la inhibición de la apoptosis dependiente de NF- κ B, este último aumenta su actividad ante esta proteína viral, ya que genera la fosforilación de los inhibidores de NF- κ B y la activación de este factor de transcripción (25,26).

En el caso del VHB se ha visto que la proteína X está involucrada en la inducción de estrés en el retículo endoplásmico (RE). Se demostró que la proteína PP2A (Serina / treonina-proteína fosfatasa 2A) tiene un rol fundamental en la regulación del ciclo celular, esta proteína tiene subunidad reguladora variable B es quien se encarga de la especificidad. Una de sus variantes B56 γ se relaciona con la regulación del ciclo celular, promoviendo la desfosforilación de p53 y por ende su estabilización (27). Las proteínas p21 y p53 son proteínas dependientes del complejo ciclina A-CDK2 que inhiben directamente la síntesis de ADN y la transición de S a G2. Se demostró que la proteína X del virus aumenta la expresión de B56 γ por un mecanismo que depende de la inducción del estrés del RE y la activación de AP-1. El estrés del RE genera que AP1 se trasloque al núcleo uniéndose a la región 5' del gen PPP2R5B que codifica B56 γ y aumenta su expresión. El aumento de la expresión de B56 γ desfosforila a p53, quien está unido a una proteína reguladora, esta desfosforilación desestabiliza esta unión liberando a p53 quien a su vez induce la expresión de p21, ambos detienen el ciclo en fase S/G2 donde el virus se beneficia de los nucleótidos disponibles en esta fase ((28)(15).

Por lo tanto, encontramos que por distintas vías los dos virus que producen hepatitis potencialmente carcinógenas comparten la estrategia de detener el ciclo en fase S.

El VIH es un lentivirus de la familia retroviridae, de genoma ARN, envuelto por una bicapa lipídica esférica, rodeado de espículas, con una cápside proteica y una capa más interna en forma de cono truncado. Al contrario que el VHC y VHB, el VIH daña directamente el ADN de linfocitos CD4⁺ en G2, lo que genera una muerte masiva de estas células activas y una detención del ciclo en células inactivas (29). Luego de ingresar a la célula el VIH realiza la retrotranscripción y después de esto ingresa al núcleo por medio del RE, para integrarse en el genoma celular pudiendo quedar latente por mucho tiempo, lo que lo hace resistente a los antirretrovirales. Una vez que se activa, manipula los sistemas de detección de daño y reparación del ADN, por medio de las proteínas Vif y Vpo con el propósito de evitar la detección de su material genético y así poder replicarse con la maquinaria de la célula. Una consecuencia de ello es la inestabilidad genómica en la célula infectada, por lo que se detiene el ciclo en G2 produciendo así un déficit de células inmunitarias que no logran replicar ante los estímulos. La detención del ciclo celular indefinida así como su consecuencia de la muerte celular, produce la inmunosupresión característica de la infección por VIH (29).

La alteración del ciclo celular no se restringe a infecciones virales, se ha encontrado en varios estudios recientes que el protozoario *Toxoplasma gondii* induce cambios en el ciclo celular de células hospederas. Los experimentos sugieren que el parásito tiene mayor accesibilidad a las células hospederas cuando se encuentran en la fase S del ciclo celular. Así los anticuerpos dirigidos a las moléculas expresadas en esta fase son particularmente eficaces para bloquear la infección (30). De manera interesante, tanto *T. gondii* como la célula infectada por el parásito liberan factores que inducen a las células vecinas a entrar en fase S del ciclo celular, lo que permite una invasión rápida por *T. gondii* ubicado en el medio extracelular y proporciona una posible ventaja selectiva para el parásito.

Para evaluar la alteración del ciclo celular durante la infección por *T. gondii*, se cuantificó la incorporación de BrdU (el cual es un marcador de fase S del ciclo celular) en la línea celular HFF (fibroblastos de prepucio humano) infectadas con *T. gondii* y control. Los resultados mostraron que el marcador se incorporó en una proporción significativamente mayor de células infectadas por la cepa RH *T. gondii* (8,6%), en comparación con el control (0,2%) sugiriendo que la infección incrementa la proporción de células en fase S. Se demostró también de manera interesante que las células vecinas que no tenían signos de invasión, también fueron marcadas con BrDU, siendo positivas en un 6%, con un aumento significativo respecto al control lo que indica una posible relación entre las células infectadas y las células vecinas, sin estar necesariamente en contacto. Esto podría implicar la liberación de un factor soluble liberado por el parásito o por las células infectadas que inducen a los fibroblastos a la fase S. Un efecto similar ha sido observado en infecciones virales en donde se ha

demostrado también que la proteína del VIH Vif promueve y acelera la transición de G1 a S en el ciclo celular mediante su interacción con las proteínas Brd4 and Cdk9 (31). Se ha observado un aumento en la eficiencia de la invasión parasitaria en la línea HFF cuando estas eran pre incubadas con medio condicionado (medio proveniente de un cultivo de parásitos). Este aumento en la capacidad invasiva es notorio cuando se analizan tiempos cortos de interacción ya que pasada una hora no se observan diferencias significativas. Se plantea que esto puede deberse a que con el paso del tiempo aunque los HFF no expuestos al medio acondicionado expresaría menos moléculas receptoras para la invasión los parásitos siguen viables y terminan por localizar al receptor e invadir las células (30)

Una proteína kinasa producida por el parásito *T. gondii* denominada ROP16 desregula todas las vías, está también regula la activación alternativa de los macrófagos entre otras acciones, también regula varias proteínas a nivel epigenético, entre ellas la ciclina B1, este efecto está mediado por UHRF1 el cual metila y silencia el gen CCNB1 lo cual detiene a las células en fase G2 (32).

Encontramos entonces que los virus como el VHC y VHB al dañar directamente el genoma de la célula hospedera, detienen el ciclo rápidamente en la fase S donde además se benefician de los recursos celulares que encuentran en esta fase. Tanto el virus del VIH como el apicomplejo *T. gondii*, a diferencia de los virus VHC y VHB detienen el ciclo luego de la fase S, más precisamente en G2. Es distinto el caso de *T. gondii*, quien dependiendo de la población celular a la que infecte, podría comportarse de distinta manera, ya que tiene la capacidad de alterar la citoquinesis al igual que *Trypanosoma cruzi*, se ha demostrado que la capacidad de corromper el mecanismo habitual de división celular es heterogénea para este parásito(33). En el caso de *T. gondii* se ha observado en modelos de células BUVEC (células endoteliales primarias) que la infección estimula la proliferación celular. En consecuencia las células BUVEC se generaban bi o multinucleadas (27%), lo que indica que estas células por lo menos entran en mitosis (33). Este efecto inhibitorio de la citoquinesis también fue observado in vitro en células HMVEC (músculo del endotelio vascular humano) infectadas por *T. cruzi*, en donde se observó un aumento en la proporción de células multinucleadas y particularmente en las células infectadas con amastigotes (5). La mayoría de estas células experimentaron una falla en la citoquinesis al igual que en las infecciones por *T. cruzi* y en hepatocitos de la línea HepG2 por *Plasmodium* (34).

Las diferencias en el comportamiento de *T. gondii* dependen del tipo celular afectado, así en la línea HFF genera la inducción de la fase S del ciclo y en células BUVEC estimula la proliferación celular y la mitosis (33). Las células HFF infectadas por *T. cruzi* mostraron también una mayor incorporación de BrDU en comparación con células no infectadas sugiriendo una inducción de la fase S a las 48 hs post infección (5). La desregulación del ciclo celular en células infectadas por *T. cruzi* también fue evidenciada a nivel transcriptómico en distintas líneas celulares, aunque los mecanismos involucrados son aún desconocidos (4,5).

Encontramos entonces que varios patógenos tienen interacciones en distintos puntos del ciclo celular por distintas estrategias. Dependiendo de la especie del patógeno, y el beneficio que se obtiene de esta situación, es la fase a la que se ataca, logrando así disponer de recursos celulares para su replicación, manteniendo viable las células que utilizan para ciclo de vida, o para evadir el sistema inmune.

Manipulación de la muerte celular

La muerte celular, ocurre en condiciones normales del organismo con el objetivo de mantener la homeostasis de los tejidos frente a diversas situaciones. Esta vía es utilizada por diferentes patógenos que manipulan este importante mecanismo para persistir o diseminarse en su hospedero, la mayoría de ellos impiden que se produzca la apoptosis ya que esta es una forma de defensa natural del organismo contra las células infectadas. Diferentes parásitos intracelulares han evolucionado de manera evitar o retrasar este proceso para poder cumplir con sus ciclos de vida adecuadamente sin ser eliminados. Sin embargo, hay otros patógenos que estimulan la muerte celular, con el fin de acceder a otras poblaciones celulares blanco, o porque en esas poblaciones el mecanismo que evita la muerte celular no es del todo efectivo.

Un ejemplo de patógenos que utilizan la muerte celular para su beneficio, es el virus del herpes simple tipo 1 (VHS-1), este virus no solo es capaz de producir apoptosis en las células hospederas con el fin de diseminarse, sino que además por el contrario, es capaz de inhibir la apoptosis en las células hospedero en las que se va a mantener en forma latente, evitando así su propia destrucción. Este virus tiene la capacidad de producir encefalitis en humanos, una enfermedad que tiene una mortalidad del 20% , esto lo causa debido a que estimula la apoptosis de las células que forman la barrera hematoencefálica (BHE) (36). Se ha estudiado el mecanismo de inducción de apoptosis en células que forman la BHE, donde se demostró que las proteínas virales juegan un rol importante en la inducción de la desorganización del aparato de Golgi mediada por la disminución de la proteína GM130 presente en la membrana de este organelo. El estrés del Golgi causado por el virus desencadena la activación de la caspasa 3 y como consecuencia la muerte celular. La muerte masiva de células de la BHE provoca que el virus pueda atravesar esta defensa, que en casos de inmunodepresión puede generar encefalitis por inflamación y generar la mortalidad mencionada, sin embargo normalmente esta estrategia le permite alcanzar sus objetivos principales, las neuronas, en donde se comporta completamente distinto (36).

Por el contrario, en las neuronas el VHS-1 mantiene una infección latente en el ganglio sensitivo del trigémino y el ganglio olfatorio, ya que este tejido es uno de los pocos al que el sistema inmune no tiene fácil acceso, evitando así el daño producido por agresivas estrategias de defensa (37). En células neurales el VHS-1 inhibe la apoptosis por medio de sus múltiples proteínas virales, ICP4, ICP 27,

ICP 24, ICP 6 e ICP 10. Se ha demostrado que ICP27 se une directamente al ADN por sus extremos N- y C terminales, lo que induce la expresión de productos virales como US3 en el hospedero. Se demostró que US3 inhibe la apoptosis bloqueando la liberación de citocromo c desde la mitocondria y de esta manera impidiendo la activación de caspasa 3. Por otro lado, la glicoproteína D otro producto viral, requiere la activación de NF- κ B para inhibir la apoptosis por un mecanismo que no está del todo claro, pero que se sabe que involucra la activación de genes antiapoptóticos (38). De manera similar *T. gondii* regula la vía NF- κ B a través de la proteína ROP18 que es una serina/treonina quinasa que se encuentra en las roptrias (organelo parasitario secretor) y es secretada desde la vacuola parasitófora al citoplasma de la célula hospedero. A través de la fosforilación de distintos blancos, ROP18 puede modificar y/o controlar proteínas de la célula hospedero como I κ B, esta última se correlaciona con la activación de NF- κ B y la apoptosis (39).

Se demostró que varias proteínas virales del VHS, tienen efecto en otras vías de muerte celular como las proteínas ICP 6 e ICP10 tienen un dominio RHIM que bloquea la asociación del complejo inductor de la apoptosis Rip1-Tif, evitando la muerte celular. Por último, R1 otro producto viral se une directamente a la caspasa 8 y la bloquea impidiendo así la activación de la apoptosis extrínseca. Cuando la apoptosis es bloqueada podría activarse otra vía de muerte celular inflamatoria, la necroptosis por medio de las vías Rip1- Rip3, sin embargo ICP6 interactúa con esta vía y también evita este tipo de muerte celular (40). Gracias a todas estas estrategias, el virus logra mantenerse viable dentro de las células sin ser eliminado por el sistema inmune.

El Virus del Zika, de forma similar al VHS-1, presenta diferentes impactos en células humanas, induciendo muerte celular en algunas de las células hospederas y evitandola en otras. La microcefalia en neonatos es una de las manifestaciones más graves producidas por este patógeno, al llegar a células progenitoras neuronales (CPN), esto se produce porque el virus activa la vía de TLR3 produciendo la muerte celular de esta población, lo que da como resultado un déficit de CPN que no logran formar una masa encefálica suficiente lo que deriva en el fenotipo característico de la microcefalia por encefalitis del ZICAV. En adultos esto no sucede ya que el sistema inmune tiene una respuesta adecuada al virus, que en la mayoría de los casos logra erradicar la enfermedad. Sin embargo se han asociado algunos casos en los que esto no ocurre de forma adecuada y el virus logra colonizar células nerviosas adultas por lo que se asocia también a Síndrome de Guillain Barre (41). Encontramos una gran similitud con la cepa RH de *T. gondii* que induce la apoptosis de células madre neurales a través de la vía del retículo endoplásmico. Este proceso es mediado por la proteína ROP18 que fosforila proteínas asociadas al retículo endoplásmico (42).

Es interesante observar que el virus del Zika, induce otro tipo de muerte celular en las células epiteliales humanas, donde activa la vía PI3K- MAP quinasa lo cual requiere una vacuolización del RE por medio del estrés de este, esta estrategia permite al virus diseminarse luego de ser inoculado

por el vector, ya que la célula estalla y disipa las vacuolas del RE generando un estado proinflamatorio muy significativo. Las células reclutadas por este proceso son los objetivos del virus ya que en ellas pueden sobrevivir el tiempo suficiente para alcanzar sus poblaciones celulares definitivas en donde completar su replicación (41).

Los virus no son los únicos microorganismos capaces de regular la muerte celular según su necesidad, sino que también se vio la utilización de esta estrategia en protozoarios, como es el ejemplo de *T. gondii*. Este protozoario estrictamente intracelular, actúa de manera similar a los virus citados previamente, alterando la apoptosis tanto al alza como a la baja dependiendo de la etapa de la infección, la célula afectada y la virulencia de la cepa. *T. gondii* logra alterar la apoptosis celular a través de diferentes mecanismos. Uno de estos mecanismos se lleva a cabo por la proteína HSP70 (proteína de shock térmico) la cual contribuye a evitar la apoptosis de macrófagos infectados reduciendo la liberación de citocromo c de la mitocondria que a su vez reduce la escisión de caspasa-9 apoptótica y caspasa-3 (43). Además de la inhibición indirecta de las caspasas a través de HSP70, la cepa avirulenta de este parásito es capaz realizar inhibición directa de las mismas. Esto se vio en células de leucemia HL60, este segundo mecanismo se vio alterado también por el VHS-1.(a través de la ICP) (38). Por otro lado, en los linfoblastos B humanos la cepa RH induce una alteración de la apoptosis por la ruta extrínseca FAS/CD95 al degradar la procaspasa 8 (42).

Durante la infección por *T. gondii* la familia antiapoptótica Bcl-2, (la cual promueve la supervivencia celular inhibiendo los adaptadores necesarios para la activación de las caspasas), es regulada al alza mientras que la familia de proteínas proapoptóticas Bax (la cual induce la liberación del citocromo c, y la activación de las caspasas) es regulada a la baja (39). Esta modulación se describe como un mecanismo común para varios patógenos incluyendo *T. cruzi* donde se pudo demostrar la inducción del factor antiapoptótico Bcl-2 en tejido cardíaco de ratones infectados con *T. cruzi* pero no en tejido normal (44), *Leishmania infantum* y *Leishmania donovani* inhiben la apoptosis en macrófagos a través del aumento de Bcl-2 en macrófagos durante curso de la infección, permitiendo la supervivencia de la célula hospedero y la proliferación del parásito (45,46) y *T. gondii* que regula positivamente los factores antiapoptótico Mcl-1 y A1-a (familia Bcl-2) (43) Además la proteína ROP18 (antes mencionada) mantiene el potencial de membrana mitocondrial de la célula hospedero y el equilibrio de la expresión de Bcl-2/Bax, evitando la fuga del citocromo c desde la mitocondria, e inhibiendo así la apoptosis, contrariamente a lo que vimos en células neurales. Esto se logra gracias al contacto íntimo entre la vacuola parasitófora y la mitocondria de la célula hospedero (39).

T. gondii es capaz de evitar la apoptosis de la célula hospedero, inhibiendo la actividad de la granzima b (Grb), una familia de proteasas de serina presentes en gránulos de los linfocitos T citotóxicos y en células NK (natural killer), cuya función principal es inducir la muerte celular, con el objetivo de eliminar células infectadas a nivel intracelular e inhibiendo la actividad de las perforinas a nivel

extracelular, probablemente a través de la liberación de pseudo sustratos para esta enzima que ocupan el sitio catalítico de la misma, inhibiendo así su capacidad para llevar a cabo sus funciones correctamente. Esta vía perforina/ granzima de los linfocitos citotóxicos puede inducir la apoptosis por estimulación del receptor de muerte a través de la vía CD95-Fas (47).

Se observó una modulación opuesta en la infección por el protozoario *T. cruzi*, puesto que este parásito intracelular se beneficia de la regulación positiva de la apoptosis evadiendo al sistema inmune, dado que durante la fase aguda de la infección se desencadena la muerte celular inducida por activación (AICD) de los linfocitos T CD4⁺, mediante la producción y secreción de moléculas inmunomoduladoras que interfieren con la respuesta inmune dando como resultado la propagación de *T. cruzi* a los diferentes órganos del hospedero. Durante la infección por *T. cruzi*, la interacción Fas (CD95) / y su ligando FasL (CD95L) se ve favorecida lo que lleva a la inducción de la apoptosis durante la fase aguda de la enfermedad, lo cual tiene como consecuencia la eliminación temprana de células T efectoras del hospedero y el escape del parásito por un mecanismo desconocido (48). Otro mecanismo utilizado por este patógeno es la expresión en la superficie del parásito de un tipo de familia de moléculas de glicoinositolfosfolípidos (GIPL) presentes en todos los estadios evolutivos de *T. cruzi*. La porción de ceramida del GIPL, en presencia de la citocina IFN- γ produce una intensa apoptosis de macrófagos, independientemente de la producción de óxido nítrico. La apoptosis en los macrófagos tiene como consecuencia liberación de los parásitos, propagándose fácilmente a células vecinas. El proceso de captación de células apoptóticas por macrófagos infectados por *T. cruzi* desencadena la producción y liberación de citocinas antiinflamatorias como TGF- β IL-10 y prostaglandina PGE₂ por parte de los fagocitos, llevando a la desactivación de los macrófagos y al crecimiento de *T. cruzi* y de otros parásitos intracelulares (48).

Se ha evidenciado en diversos estudios la actividad desempeñada por las distintas especies de *Leishmania* y su papel en la modulación de la apoptosis tanto positiva como negativamente, demostrándose que las respuestas de los macrófagos del hospedero son dependientes de la especie parasitaria en cuestión. Se ha descrito que *Leishmania mexicana* inhibe la apoptosis en células dendríticas, mediante la disminución en la fosforilación de las MAP-quinasas p38 y JNK y la activación de la vía PI3K/AKT (49). No se observó lo mismo para *Leishmania Braziliensis*. Otros estudios in vitro muestran que *Leishmania amazoniensis* induce la apoptosis de macrófagos C57BL / 6 y BALB /c activando las caspasas 3, 8 y 9. No se observó el mismo resultado en macrófagos infectados por *Leishmania guyanensis*. La ingestión de macrófagos apoptóticos infectados por macrófagos sanos puede servir como medio de propagación del parásito (45).

Por otro lado, la señalización de ERK está involucrada en el proceso antiapoptótico de las células infectadas con *Leishmania infantum* mediante la inhibición del factor de transcripción STAT3 que promueve la supervivencia celular. En el tratamiento con Actinomicina D (inductor apoptótico) se

produce la inhibición de la vía relacionada a la fosforilación de ERK. Sólo alterando la vía ERK se redujo la concentración de Bcl-2 (antiapoptótico) significativamente, sugiriendo el rol que cumple el parásito en la inhibición apoptótica. Aún así se observaron altos niveles de PI3k fosforilado en células infectadas por *leishmania infantum*, pero no se asoció a la vía Bcl-2 (45). La regulación al alza de Bcl-2 (por la vía ERK) no explica por completo el efecto antiapoptótico que genera *Leishmania* en macrófagos, ya que también se observó un rol fundamental para inhibir la apoptosis de las proteínas cIAP. Estas proteínas también se vieron involucradas en la regulación de la apoptosis durante las infecciones víricas. De esta familia de proteínas, las más importantes en el proceso antiapoptótico son las cIAP1 y cIAP2, que actúan uniéndose e inhibiendo directamente a las caspasas 3, 7 y 9 a través de ubiquitinación (vía proteasoma)(45).

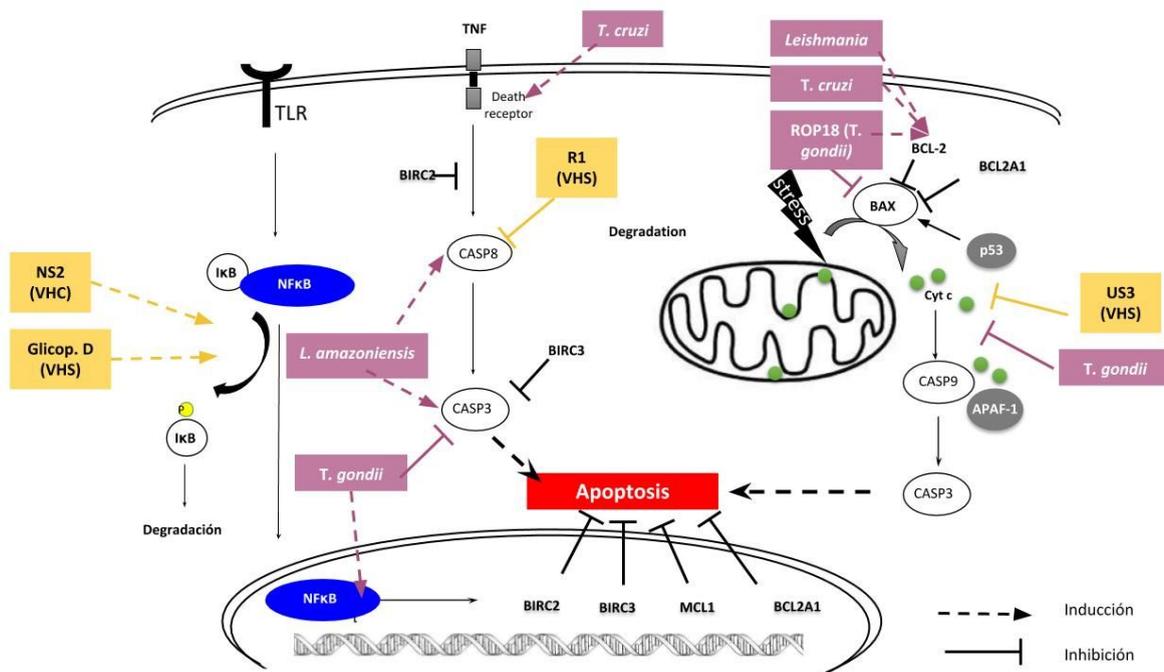


Figura 8: Principales estrategias usadas por diferentes patógenos intracelulares para modular la apoptosis. En la figura se muestran puntos en los cuales los patógenos (virus en amarillo y protozoarios en violeta) inducen o inhiben la vía apoptótica.

Como conclusión podemos decir que queda demostrado el rol esencial que cumplen IAPS y Bcl-2 en la supervivencia de algunas familias de *Leishmania* previniendo la apoptosis de macrófagos humanos U937, así como también el rol de Bcl-2 en la supervivencia de *T. gondii* y *T. cruzi*.

Estrategias para evadir el sistema inmune innato

Como ya se explico, el sistema inmune innato es la primer defensa con la que el organismo cuenta para evitar los constantes ataques a los que está expuesto el organismo, en un mundo lleno de posibles amenazas de todo tipo, fue necesario en la evolución desarrollar una estrategia para defenderse de todo tipo de parásitos oportunistas que de otra manera terminarían por destruir el funcionamiento correcto de cada sistema de vida complejo. También es de esperar que en conjunto estos parásitos hayan logrado evolucionar a la par encontrando maneras de burlar o manipular este sistema de defensa para poder colonizar diferentes organismos y así utilizar sus recursos a su favor para poder continuar sus ciclos de vida y evitar la desaparición de su especie.

Dependiendo del tipo de patógeno al que se enfrente el organismo es el tipo de estrategia que utiliza para defenderse, en este trabajo nos centraremos en observar cómo un determinado grupo de patógenos ha desarrollado formas de escabullirse al ataque del sistema inmune innato que posee el complejo organismo humano, lo que analizaremos a continuación:

El virus del zika (ZIKAV) tiene varias formas de evadir el sistema inmune, sin embargo es sensible a la respuesta de la polarización M1 de los macrófagos cuando estos están activados por $INF\gamma$, por esta razón es que en un adulto inmunocompetente las consecuencias de esta infección son reducidas. Sin embargo, el virus puede generar patologías en condiciones específicas en las que existe un ambiente adecuado para su replicación (50). Existen células permisivas para este virus como por ejemplo las células del epitelio genital masculino, por lo que este virus se transmite por vía sexual, a diferencia del epitelio genital femenino el cual tiene una inmunidad robusta, el epitelio masculino debe mantener un ambiente adecuado para producir los gametos, ya que estos son células que el sistema inmune puede reconocer como no propias y eliminarlas, por este motivo estas condiciones son óptimas para que el virus se aloje e incluso sea transmitido por vía sexual (51).

Otra línea celular permisiva para el ZICAV son los progenitores neuronales humanos, quienes son infectados por el virus que aprovecha el estado de polarización de los macrófagos del sistema inmune en el primer trimestre del embarazo al fenotipo M2, el cual es permisivo para este patógeno que atraviesa la barrera hematoplacentaria hasta alcanzar sus células objetivos y como ya se mencionó inducir la apoptosis de ellas lo que causa microcefalia como ya fue mencionado (52). Si la infección ocurre en los siguientes trimestres, la invasión no es tan efectiva debido a que los macrófagos comienzan a polarizarse hacia el fenotipo M1 que colabora con la actividad del parto (40). Por último se ha relacionado la infección del ZICAV con casos de encefalitis y síndrome de Guillain-Barre, debido a que cuando el sistema inmune no es lo suficientemente fuerte como para eliminar el virus, este podría llegar a las células gliales, que derivan de monocitos, los cuales serían capaces de

responder de forma adecuada, pero al encontrarse en el sistema nervioso, un tejido donde el sistema inmune está altamente controlado, no pueden realizar su respuesta inflamatoria de manera adecuada para poder erradicar al virus y este termina por generar daño a nivel del sistema nervioso (8).

Por otro lado, el virus del VIH que tiene la capacidad de evitar la apoptosis de los macrófagos por medio de la proteína Nef, una pequeña proteína producida por el virus, la cual interactúa con la vía de la apoptosis regulada por la quinasa 1, de esta forma los macrófagos permanecen viables más tiempo a favor de las necesidades del virus (50). Esta proteína también genera que los macrófagos adopten el fenotipo M1 por medio de la estimulación con $INF\gamma$ y de esta forma atraen a los linfocitos TCD4+ pertenecientes a la inmunidad adaptativa, quienes son su objetivo. De esta forma el virus puede replicarse y diseminarse por los tejidos (53). Luego de la polarización hacia M1, en la etapa inicial de la enfermedad, los macrófagos adoptan un fenotipo M2, lo cual agrava aún más la inmunodeficiencia, llegando así al estadio de Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).

De todas maneras, los macrófagos son resistentes al efecto citopático del VIH, y debido a que en presencia de este virus evitan la apoptosis, podría utilizarse esta situación a favor de desarrollar estrategias útiles contra la enfermedad causada por el virus (50)

El VHS (virus del herpes simple) es un virus altamente extendido en la sociedad, que además de las patologías ya mencionadas, también puede causar dismotilidad intestinal, este virus tiene la capacidad de reclutar macrófagos, al infectar neuronas del plexo mientérico, y estas liberan CCR2, que es un factor atrayente de monocitos, de esta manera los macrófagos peritoneales reclutados liberan especies reactivas de oxígeno (ROS) que dañan las células nerviosas intestinales (54). La forma en la que el VHS escapa al sistema inmune innato es mediante la proteína ICP0, esta proteína viral tiene varias funciones, inhibe la producción de genes de inducción a interferón (ISG). Los ISG son un grupo muy numeroso de factores transcripcionales, que estimulan una gran cantidad de vías celulares en respuesta a INF. Cuando ocurre una infección viral, no está catalogado aún que hace cada factor ni el mecanismo que lleva a cabo esta respuesta, pero estudios transcriptómicos revelaron que son muy importantes en la respuesta a infecciones virales, constituyendo una importante defensa (55).

La proteína ICP0 secuestra el complejo proteico IRF3, que es un factor regulador de la respuesta a interferón, este complejo se une a la proteína y no a su cotransportador CBP, por lo que no puede ir al núcleo unirse a la cromatina y liberar los ISG, de esta manera no se produce una respuesta antiviral adecuada (56). El parásito intracelular *T. gondii* también limita la actividad inmunitaria mediada por $IFN-\gamma$. Se estudió a través de técnicas de microarrays que *T.gondii* bloquea la regulación positiva de 127 genes inducidos por el tratamiento con $IFN-\gamma$. Las cepas I, II y III de *T.gondii* inhiben la actividad de STAT1 a través de las proteínas ROP16 y GRA15, y en particular se ha visto que este parásito inhibe la expresión de genes activados por $IFN-\gamma$, al evitar la disociación de STAT1 del ADN,

alterando el reciclaje y por lo tanto futura utilización de este factor transcripcional en otros procesos celulares. La expresión ectópica del inhibidor de la transcripción dependiente de STAT1 reprime la actividad promotora dependiente de STAT1 (43).

Como hemos analizado previamente *T. gondii* manipula la señalización celular desde la vacuola parasitófora donde se encuentra, en el interior de las células hospederas. Las roptrias o orgánulos densos son liberados desde la vacuola e interfieren con las respuestas transcripcionales de estas células. Cada una de las cepas de *T. gondii* altera la maquinaria celular de forma diferente. Por ejemplo, las cepas I y III activan STAT3 y STAT6 inhibiendo así la producción de IL-12 (M1) y estimulando la expresión de genes asociados al fenotipo M2. La quinasa ROP16 es la responsable de estos efectos al fosforilar y activar estos factores de transcripción (43).

Además la cepa I de *T.gondii* reduce la fosforilación de p65/RelA y su translocación al núcleo, limitando la activación de NF- κ B, con una actividad desreguladora de la misma. A su vez, esta cepa inhibe la producción de IL-1 β en neutrófilos inducida por LPS, lo cual se lleva a cabo a través de la inhibición de la vía NF- κ B (43). *L. mexicana* y *L. major* también inhiben la producción de IL-1 β , esto es llevado a cabo a través de GP63, pero lo hacen en células THP-1 humanas (macrófagos), en lo que puede estar implicado la liberación de ROS y la escisión de componentes del inflamasoma (57).

Por otro lado *T. gondii* en neutrófilos infectados reduce la degradación de I κ B α , la fosforilación de p65/RelA, la transcripción de IL-1 β y el sensor del inflamasoma NLRP3 (43) La alteración de la formación del inflamasoma también es un mecanismo de evasión del sistema inmune innato que utiliza *L. donovani*. Esto lo consigue inhibiendo la transcripción de NLRP3 a través de la manipulación de A20 que es un inhibidor negativo de la vía NF- κ B y a través de UCP2 que es una proteína de desacoplamiento mitocondrial (producción de ROS). Esta regulación al alza de A20 también se hizo evidente en experimentos con *L. guyanensis* (57). Asimismo *T.gondii* tiene la capacidad de inhibir también la escisión y activación de la caspasa-1 en neutrófilos, pero no en monocitos (43)

La IL-6, es producida por los cardiomiocitos y células vecinas, en respuesta a diferentes lesiones cardiacas. Esta citoquina es la encargada del control de la liberación excesiva de óxido nítrico a través de la inhibición de IL-1 β y de determinar la polarización del perfil de macrófagos M2 dentro del tejido cardiaco infectado por *T. cruzi*. Durante la fase aguda de la infección, el corazón se encuentra drásticamente parasitado, por lo que las células mieloides se movilizan desde la circulación hacia el miocardio con el objetivo de controlar la parasitemia. Una vez allí, los monocitos se diferencian en macrófagos, que se encargan de inhibir la replicación del parásito. Se observó que la infección de cardiomiocitos por *T. cruzi* llevó a una producción selectiva de IL-6 (no así de otras citocinas proinflamatorias como IL-1 β , TNF, IL-12 e IL-17), siendo la IL-6, la que dirige en forma crítica la respuesta inmune innata, ya que es clave en impulsar el reclutamiento de monocitos y en

determinar el establecimiento del perfil de macrófagos cardíacos M2 durante la infección. Por lo que la actividad de la IL-6 favorece la supervivencia de los cardiomiocitos infectados por el parásito cardiotrópico al actuar como un freno rápido en las funciones efectoras de los macrófagos proinflamatorios, fundamental para controlar el estrés oxidativo local y sistémico, llevando a la supervivencia celular y protegiendo al hospedero contra la muerte, lo que le permite al parásito sobrevivir a la inmunidad y generar cronicidad (58).

CONCLUSIONES

En esta revisión resaltamos algunas de las estrategias con las que cuentan los diferentes patógenos intracelulares para asegurar su supervivencia en las células hospederas y contraponerse a sus sistemas de defensa. Los principales resultados de este trabajo están resumidos en la tabla del anexo I.

La detención del ciclo celular es una estrategia común a casi todos los parásitos intracelulares que tomamos en cuenta en este trabajo, donde los virus demostraron detener el ciclo en fases más tempranas, seguramente porque atacan directamente el ADN, lo que genera una respuesta de los factores que responden a estos estímulos, a diferencia de los protozoarios intracelulares que deben interactuar con factores citoplasmáticos que regulan los distintos mecanismos encargados de esta actividad vital de la célula. Algunos virus utilizan estas estrategias para tomar elementos de la célula que no son capaces de sintetizar, como los nucleótidos disponibles en fase S celular, que permiten replicar el ARN viral, o en el caso de *T. gondii* y *T. cruzi* inducir la entrada en fase S del ciclo para diseminarse efectivamente. Además los protozoarios y el virus del VIH utilizan la detención del ciclo como una forma de impedir ciertas actividades inmunes del organismo hospedero.

Las enfermedades infecciosas se han mantenido durante toda la historia desde que se desarrollaron organismos capaces de albergar patógenos. Es de esperar que ambos organismos han evolucionado para no quedar atrasados en la carrera por la supervivencia, por lo tanto los hospederos desarrollaron sistemas inmunes capaces de combatir patógenos, y los patógenos estrategias que les permitan evadir estos sistemas. Con este trabajo nos centramos en demostrar cómo estos microorganismos evaden la inmunidad innata, ya sea interviniendo en la liberación de citoquinas típicas de las células encargadas de la defensa, para evitar la comunicación con otros elementos de la inmunidad, si no también manipulando los estímulos que polarizan las células inmunes a fenotipos más permisivos con estos tipos de patógenos.

Una correcta comprensión de estos mecanismos infecciosos podrían ser la clave en la estrategias de nuevos tratamientos.

La muerte celular le permite al organismo mantener una población celular adecuada para su correcto funcionamiento, y es, además una estrategia inmune radical por la que se eliminan muchos patógenos invasores intracelulares, por lo tanto es esperable que los parásitos hayan desarrollado estrategias a prueba de esta forma de defensa, los virus y protozoarios considerados en este trabajo necesitan mantener viables las células que colonizan para completar sus ciclos de vida. Sin embargo, demostramos que la muerte celular puede ser inducida para beneficio de los propios patógenos, permitiendo eliminar otras células que impiden llegar directamente a sus objetivos tal como hace el VHS, o con el fin de lograr una diseminación en el organismo como es el caso de *T. cruzi*, y otros que van más lejos como el Zika quien aprovecha la inflamación y la reacción inmune que producen algunos tipos de muerte celular.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hudson DS. The economic, social and environmental impacts of COVID 19 [Internet]. COVID-19 and Travel. 2020. Available from: <http://dx.doi.org/10.23912/9781911635703-4429>
2. Fauci AS, Morens DM. The perpetual challenge of infectious diseases. *N Engl J Med*. 2012 Feb 2;366(5):454–61.
3. Satragno D, Faral-Tello P, Canneva B, Verger L, Lozano A, Vitale E, et al. Autochthonous Outbreak and Expansion of Canine Visceral Leishmaniasis, Uruguay. *Emerg Infect Dis*. 2017 Mar;23(3):536–8.
4. Li Y, Shah-Simpson S, Okrah K, Belew AT, Choi J, Caradonna KL, et al. Transcriptome Remodeling in *Trypanosoma cruzi* and Human Cells during Intracellular Infection. *PLoS Pathog*. 2016 Apr;12(4):e1005511.
5. Costales JA, Daily JP, Burleigh BA. Cytokine-dependent and–independent gene expression changes and cell cycle block revealed in *Trypanosoma cruzi*-infected host cells by comparative *BMC Genomics* [Internet]. 2009; Available from: <https://link.springer.com/article/10.1186/1471-2164-10-252>
6. Chiribao ML, Libisch G, Parodi-Talice A, Robello C. Early *Trypanosoma cruzi* infection reprograms human epithelial cells. *Biomed Res Int*. 2014 Apr 9;2014:439501.
7. Fernandes MC, Dillon LAL, Belew AT, Bravo HC, Mosser DM, El-Sayed NM. Dual Transcriptome Profiling of *Leishmania*-Infected Human Macrophages Reveals Distinct Reprogramming Signatures. *MBio* [Internet]. 2016 May 10;7(3). Available from: <http://dx.doi.org/10.1128/mBio.00027-16>
8. Tiwari SK, Dang J, Qin Y, Lichinchi G, Bansal V, Rana TM. Zika virus infection reprograms global transcription of host cells to allow sustained infection. *Emerg Microbes Infect*. 2017 Apr;6(4):e24.
9. Rolfe AJ, Bosco DB, Wang J, Nowakowski RS, Fan J, Ren Y. Bioinformatic analysis reveals the expression of unique transcriptomic signatures in Zika virus infected human neural stem cells. *Cell Biosci*. 2016 Jun 10;6:42.
10. Ragno S, Romano M, Howell S, Pappin DJ, Jenner PJ, Colston MJ. Changes in gene expression in macrophages infected with *Mycobacterium tuberculosis*: a combined transcriptomic and proteomic approach. *Immunology*. 2001 Sep;104(1):99–108.
11. Wikipedia contributors. Cell cycle checkpoint [Internet]. Wikipedia, The Free Encyclopedia. 2020 [cited 2020 Oct 22]. Available from: https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Cell_cycle_checkpoint&oldid=984345620
12. Edgar L. *Molecular Biology of the Cell*. Bruce Alberts , Dennis Bray , Julian Lewis , Martin Raff , Keith Roberts , James D. Watson [Internet]. Vol. 60, *The Quarterly Review of Biology*. 1985. p. 339–339. Available from: <http://dx.doi.org/10.1086/414449>
13. Gao S-W, Liu F. Novel insights into cell cycle regulation of cell fate determination. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2019 Jun;20(6):467–75.
14. CDK | Cursos de Ciencias de Scitable [Internet]. 2012 [cited 2020 Oct 27]. Available from: <https://cajalesygaleos.wordpress.com/2012/11/30/cdk-cursos-de-ciencias-de-scitable/>
15. Yang X-J, Liu J, Ye L, Liao Q-J, Wu J-G, Gao J-R, et al. HCV NS2 protein inhibits cell

- proliferation and induces cell cycle arrest in the S-phase in mammalian cells through down-regulation of cyclin A expression. *Virus Res.* 2006 Nov;121(2):134–43.
16. Weitzman MD, Weitzman JB. What's the Damage? The Impact of Pathogens on Pathways that Maintain Host Genome Integrity [Internet]. Vol. 15, *Cell Host & Microbe*. 2014. p. 283–94. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2014.02.010>
 17. Darzynkiewicz Z, Zhao H, Halicka HD, Rybak P, Dobrucki J, Wlodkowic D. DNA damage signaling assessed in individual cells in relation to the cell cycle phase and induction of apoptosis. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2012 Sep;49(5-6):199–217.
 18. D'Arcy MS. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell Biol Int.* 2019 Jun;43(6):582–92.
 19. Editors BD. Apoptosis [Internet]. 2017 [cited 2020 Nov 12]. Available from: <https://biologydictionary.net/apoptosis/>
 20. Man SM, Karki R, Kanneganti T-D. Molecular mechanisms and functions of pyroptosis, inflammatory caspases and inflammasomes in infectious diseases. *Immunol Rev.* 2017 May;277(1):61–75.
 21. Atri C, Guerfali FZ, Laouini D. Role of Human Macrophage Polarization in Inflammation during Infectious Diseases. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2018 Jun 19;19(6). Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms19061801>
 22. Meltzer MS, Nakamura M, Hansen BD, Turpin JA, Chester Kalter D, Gendelman HE. Macrophages as Susceptible Targets for HIV Infection, Persistent Viral Reservoirs in Tissue, and Key Immunoregulatory Cells that Control Levels of Virus Replication and Extent of Disease [Internet]. Vol. 6, *AIDS Research and Human Retroviruses*. 1990. p. 967–71. Available from: <http://dx.doi.org/10.1089/aid.1990.6.967>
 23. Liu T, Zhang L, Joo D, Sun SC. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal transduction and targeted* [Internet]. 2017; Available from: <https://www.nature.com/articles/sigtrans201723>
 24. Gilmore TD. Introduction to NF-kappaB: players, pathways, perspectives. *Oncogene.* 2006 Oct 30;25(51):6680–4.
 25. You L-R, Chen C-M, Lee Y-HW. Hepatitis C Virus Core Protein Enhances NF- κ B Signal Pathway Triggering by Lymphotoxin- β Receptor Ligand and Tumor Necrosis Factor Alpha [Internet]. Vol. 73, *Journal of Virology*. 1999. p. 1672–81. Available from: <http://dx.doi.org/10.1128/jvi.73.2.1672-1681.1999>
 26. Sarfraz S, Hamid S, Siddiqui A, Hussain S, Pervez S, Alexander G. Altered expression of cell cycle and apoptotic proteins in chronic hepatitis C virus infection [Internet]. Vol. 8, *BMC Microbiology*. 2008. p. 133. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2180-8-133>
 27. Li H-H, Cai X, Shouse GP, Piluso LG, Liu X. A specific PP2A regulatory subunit, B56 γ , mediates DNA damage-induced dephosphorylation of p53 at Thr55. *EMBO J.* 2007;26(2):402–11.
 28. He C, Qiu Y, Han P, Chen Y, Zhang L, Yuan Q, et al. ER stress regulating protein phosphatase 2A-B56 γ , targeted by hepatitis B virus X protein, induces cell cycle arrest and apoptosis of hepatocytes. *Cell Death Dis.* 2018 Jul 9;9(7):762.
 29. Kurapati KRV, Samikkannu T, Atluri VSR, Nair MPN. Cell cycle checkpoints and pathogenesis of HIV-1 infection: a brief overview. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 2015 Jan;26(1):1–11.

30. Lavine MD, Arrizabalaga G. Induction of mitotic S-phase of host and neighboring cells by *Toxoplasma gondii* enhances parasite invasion. *Mol Biochem Parasitol*. 2009 Mar;164(1):95–9.
31. Wang J, Reuschel EL, Shackelford JM, Jeang L, Shivers DK, Diehl JA, et al. HIV-1 Vif promotes the G₁- to S-phase cell-cycle transition. *Blood*. 2011 Jan 27;117(4):1260–9.
32. Sabou M, Doderer-Lang C, Leyer C, Konjic A, Kubina S, Lennon S, et al. *Toxoplasma gondii* ROP16 kinase silences the cyclin B1 gene promoter by hijacking host cell UHRF1-dependent epigenetic pathways. *Cell Mol Life Sci*. 2020 Jun;77(11):2141–56.
33. Velásquez ZD, Conejeros I, Larrazabal C, Kerner K, Hermosilla C, Taubert A. *Toxoplasma gondii*-induced host cellular cell cycle dysregulation is linked to chromosome missegregation and cytokinesis failure in primary endothelial host cells. *Sci Rep*. 2019 Aug 29;9(1):12496.
34. Hanson KK, March S, Ng S, Bhatia SN, Mota MM. In vitro alterations do not reflect a requirement for host cell cycle progression during *Plasmodium* liver stage infection. *Eukaryot Cell*. 2015 Jan;14(1):96–103.
35. Lopez HM, Tanner MK, Kierszenbaum F, Sztein MB. Alterations induced by *Trypanosoma cruzi* in activated mouse lymphocytes. *Parasite Immunol*. 1993 May;15(5):273–80.
36. He Q, Liu H, Huang C, Wang R, Luo M, Lu W. Herpes Simplex Virus 1-Induced Blood-Brain Barrier Damage Involves Apoptosis Associated With GM130-Mediated Golgi Stress. *Front Mol Neurosci*. 2020 Jan 24;13:2.
37. Jones C. Bovine Herpes Virus 1 (BHV-1) and Herpes Simplex Virus Type 1 (HSV-1) Promote Survival of Latently Infected Sensory Neurons, in Part by Inhibiting Apoptosis. *J Cell Death*. 2013 Apr 9;6:1–16.
38. Rice SA, Davido DJ. HSV-1 ICP22: hijacking host nuclear functions to enhance viral infection. *Future Microbiol*. 2013 Mar;8(3):311–21.
39. Wu L, Wang X, Li Y, Liu Y, Su D, Fu T, et al. *Toxoplasma gondii* ROP18: potential to manipulate host cell mitochondrial apoptosis. *Parasitol Res*. 2016 Jun;115(6):2415–22.
40. Dang J, Tiwari SK, Lichinchi G, Qin Y, Patil VS, Eroshkin AM, et al. Zika Virus Depletes Neural Progenitors in Human Cerebral Organoids through Activation of the Innate Immune Receptor TLR3. *Cell Stem Cell*. 2016 Aug 4;19(2):258–65.
41. Monel B, Compton AA, Bruel T, Amraoui S, Burlaud-Gaillard J, Roy N, et al. Zika virus induces massive cytoplasmic vacuolization and paraptosis-like death in infected cells. *EMBO J*. 2017 Jun 14;36(12):1653–68.
42. Mammari N, Halabi MA, Yaacoub S, Chlala H, Dardé M-L, Courtioux B. *Toxoplasma gondii* Modulates the Host Cell Responses: An Overview of Apoptosis Pathways [Internet]. Vol. 2019, *BioMed Research International*. 2019. p. 1–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2019/6152489>
43. Lima TS, Lodoen MB. Mechanisms of Human Innate Immune Evasion by *Toxoplasma gondii* [Internet]. Vol. 9, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2019. Available from: <http://dx.doi.org/10.3389/fcimb.2019.00103>
44. Ponce NE, Cano RC, Carrera-Silva EA, Lima AP, Gea S, Aoki MP. Toll-like receptor-2 and interleukin-6 mediate cardiomyocyte protection from apoptosis during *Trypanosoma cruzi* murine infection. *Med Microbiol Immunol*. 2012 May;201(2):145–55.

45. Cianciulli A, Porro C, Calvello R, Trotta T, Panaro MA. Resistance to apoptosis in *Leishmania infantum*-infected human macrophages: a critical role for anti-apoptotic Bcl-2 protein and cellular IAP1/2 [Internet]. Vol. 18, *Clinical and Experimental Medicine*. 2018. p. 251–61. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10238-017-0482-1>
46. Pandey RK, Mehrotra S, Sharma S, Gudde RS, Sundar S, Shaha C. *Leishmania donovani*-Induced Increase in Macrophage Bcl-2 Favors Parasite Survival. *Front Immunol*. 2016 Oct 25;7:456.
47. Yamada T, Tomita T, Weiss LM, Orlofsky A. *Toxoplasma gondii* inhibits granzyme B-mediated apoptosis by the inhibition of granzyme B function in host cells. *Int J Parasitol*. 2011 May;41(6):595–607.
48. Decote-Ricardo D, Nunes MP, Morrot A, Freire-de-Lima CG. Implication of Apoptosis for the Pathogenesis of *Trypanosoma cruzi* Infection [Internet]. Vol. 8, *Frontiers in Immunology*. 2017. Available from: <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2017.00518>
49. Vázquez-López R, Argueta-Donohué J, Wilkins-Rodríguez A, Escalona-Montaña A, Aguirre-García M, Gutiérrez-Kobeh L. *Leishmania mexicana* amastigotes inhibit p38 and JNK and activate PI3K/AKT: role in the inhibition of apoptosis of dendritic cells. *Parasite Immunol*. 2015 Nov;37(11):579–89.
50. Nikitina E, Larionova I, Choinzonov E, Kzhyshkowska J. Monocytes and Macrophages as Viral Targets and Reservoirs. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2018 Sep 18;19(9). Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms19092821>
51. Romero HA, Vargas Pavía TA, Velázquez Cervantes MA, Pliego AF, Helguera Repetto AC, Juárez ML. The Dual Role of the Immune Response in Reproductive Organs During Zika Virus Infection. *Front Immunol* [Internet]. 2019 [cited 2020 Oct 27];10. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6637308/>
52. Foo S-S, Chen W, Chan Y, Bowman JW, Chang L-C, Choi Y, et al. Asian Zika virus strains target CD14+ blood monocytes and induce M2-skewed immunosuppression during pregnancy. *Nature microbiology*. 2017 Nov;2(11):1558.
53. Herbein G, Varin A. The macrophage in HIV-1 infection: from activation to deactivation? *Retrovirology*. 2010 Apr 9;7:33.
54. Brun P, Qesari M, Marconi PC, Kotsafti A, Porzionato A, Macchi V, et al. Virus Type 1 Infects Enteric Neurons and Triggers Gut Dysfunction via Macrophage Recruitment. *Front Cell Infect Microbiol*. 2018 Mar 15;8:74.
55. Poynter SJ, DeWitte-Orr SJ. Fish interferon-stimulated genes: The antiviral effectors. *Dev Comp Immunol*. 2016 Dec;65:218–25.
56. Alandijany T. Host Intrinsic and Innate Intracellular Immunity During Herpes Simplex Virus Type 1 (HSV-1) Infection. *Front Microbiol*. 2019 Nov 8;10:2611.
57. Zamboni DS, Sacks DL. Inflammasomes and *Leishmania*: in good times or bad, in sickness or in health [Internet]. Vol. 52, *Current Opinion in Microbiology*. 2019. p. 70–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2019.05.005>
58. Sanmarco LM, Ponce NE, Visconti LM, Eberhardt N, Theumer MG, Minguez ÁR, et al. IL-6 promotes M2 macrophage polarization by modulating purinergic signaling and regulates the lethal release of nitric oxide during *Trypanosoma cruzi* infection. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2017 Apr;1863(4):857–69.

ANEXOS

Tabla 1: Resumen de las interacciones entre patógenos y vías celulares hospederas

PATOGENO	FACTOR	ACCION	VIA AFECTADA	CONSECUENCIA	CELULA AFECTADA	REFERENCIA
VHC	Proteina NS2	Se une al promotor de ciclina A, en el nucleo de los hepatocitos disminuyendo su ARNm y por lo tanto la cantidad de ciclina A disponible	Ciclo celular	Detencion del ciclo celular en fase S/G2	Hepatocitos	You, Chen, and Lee 1999
		Fosforila los inhibidores de NF- κ B, lo que genera su degradacion en el proteasoma aumentando asi la cantidad de este factor en la celula	Muerte celular	NF- κ B impide la muerte celular	Hepatocitos	
VHB	Proteina X	Induce el estres del RE, el cual aumenta la expresion de PP2A, su subunidad B56 γ desfosforila p53 quien se separa de su regulador activando a p21	Ciclo celular	Detencion del ciclo celular en fase G2	Hepatocitos	Cheng Yong He 2018
VIH	ARN	Se integra al genoma de la celula y causa daño en el ADN	Ciclo celular	Detencion del ciclo celular en fase G2	Linfocitos T CD4+	Kurapati, K. R. 2015).

	Proteínas Vif y Vp0	Manipula las señales de daño del ADN	Ciclo celular	Detención del ciclo celular en fase G2	Linfocitos T CD4+	
	Proteína Nef	Interactúa con la proteína quinasa 1	Muerte celular	Inhibe la muerte celular	Macrófagos	(Nikitina et al. 2018)
		Estimula la liberación de INF γ	Sistema Inmune Innato	Polariza a los macrófagos a fenotipo M1	Macrófagos	
VHS	Proteínas ICP4, ICP27, ICP24, ICP 6 e ICP 10. ICP27	Se unen al ADN de la célula expresando productos virales	Muerte celular	Inhibe la muerte celular	Células del tejido nervioso	(Rice S. 2013).
	Factor US3	Bloquea la liberación de citocromo C desde la mitocondria	Muerte celular	Inhibe la muerte celular	Células del tejido nervioso	
	Glicoproteína D	Activa genes antiapoptóticos por mecanismo aun desconocido dependiendo de NF- κ B	Muerte celular	Inhibe la muerte celular	Células del tejido nervioso	
	Proteínas ICP 6 e ICP10	Posee un dominio RHIM que bloquea la unión Rip1-Tif	Muerte celular	Inhibe la muerte celular	Células del tejido nervioso	
	Factor R1	Se une a Caspasa 8, bloqueándola	Muerte celular	Inhibe la muerte celular por vía extrínseca	Células del tejido nervioso	Dang et al. 2016
	Proteína IPO	Inhibe la expresión de I κ S uniéndose a IRF3, factor necesario para esta actividad	Sistema Inmune Innato	Evita la actividad antiviral	Macrófagos	Alandijany 2019)
	Degrada los complejos PML que neutralizan el material genético viral	Sistema Inmune Innato	Evita la actividad antiviral	Macrófagos		

ZIKA	ARN viral	Activa la via de TLR3 lo que desata la via de las caspasas	Muerte celular	Produce la muerte celular	Celulas progenitoras neuronales	(Monel et al. 2017)
		Activa la via RIP-MAPK que produce estrés en el Reticulo Endoplasmatico generando una vacuolizacion citoplasmatica	Muerte celular	Produce la muerte celular por piroptosis	Celulas del epitelio de la dermis	
		Induce la Polarizacion M1	Sistema Inmune Innato	Respuesta antiviral	Macrofagos	Nikitina et al. 2018
		induce la polarizacion M2	Sistema Inmune Innato	respuesta antiviral ineficiente	Microglia/ Macrofagos del epitelio genital masculino/ macrofagos de la barrera hematopla centaria	Romero et al. 2019
<i>T. cruzi</i>	Molécula secretada?	Aumenta la incorporación de BrdU	Ciclo celular	Aumento de células en fase S	Línea celular HFF	Costales 2009
	Desconocido	Bloqueo de la citocinesis	Ciclo celular	Aumento de la proporción de células multinucleadas	Celulas humanas	
	Desconocida	interaccion molecula Fas(CD95) y FasL(CD95L)	Muerte celular	Induce muerte celular	Linfocitos T CD4+	(Fonseca et al. 2019)
	Glicoinositolfosfolipido (GIPL)	GIPL en presencia de INF γ produce apoptosis	Muerte celular	Induce muerte celular	Macrofagos	
	Infección e IL6 en sangre	induce la polarizacion M2	Sistema Inmune Innato	Evita la actividad proinflamatori	Macrofagos cardiacos	(Sanmarco et al. 2017)

				a		
<i>Toxoplasma gondii</i>	Proteína HSP-70	Mecanismo desconocido	Muerte celular	Reduce la liberación del citocromo c y la activación de la caspasa 3.	Celulas humanas	(Lima and Lodoen 2019)
	Posible factor soluble?	Induce la fase S	Ciclo celular	Inducción fase S ciclo celular	HFF	(Wang et al. 2011)
	ROP16 - UHRF-1	Silencia gen CCNB1	Ciclo celular	Detención en fase G2	Celulas humanas	(Velásquez et al. 2019)
	Proteína desconocida.	Activación de p53	Ciclo celular	Detención del ciclo	Celulas humanas	
		Alteración de tubulinas	Ciclo celular	Alteración de la segregación cromosómica	BUVEC	
		Inhibición de caspasas 3 y 9	Muerte celular	Inhibición de muerte celular	HL-60	(Mammari et al. 2019)
		Degrada procaspasa-8	Muerte celular	Inhibición de la apoptosis (ruta FAS/CD95)	Linfoblastos B	
		Regulación al alza de Bcl-2	Muerte celular	Antiapoptosis	Desconocida	
		Regulación a la baja de Bax	Muerte celular	Antiapoptosis	Desconocida	
	ROP18	fosforilación de proteínas del retículo endoplásmico	Muerte celular	Inducción de la apoptosis	Células madre neurales	
	ROP18	Fosforilación IκB activación NfκB	Muerte celular	Antiapoptosis	Desconocida	(Wu et al. 2016)
	Pseudosustratos?	Inhibición de granzima b y perforinas	Muerte celular	Antiapoptosis	Desconocida	(Yamada et al. 2011)
	ROP16	activación STAT3 y STAT6	Sistema inmune innato	inhibe la producción de IL-12	Macrófagos	(Lima and Lodoen 2019)
ROP16 y GRA15	Inhibición STAT1 activación de NF-κB	Sistema inmune innato	Bloquea acción del INF gamma	Macrófagos		

<i>L. mexicana</i>	Proteína desconocida.	Disminución en la fosforilación de MAP-kinase p38 y JNK	Muerte celular	Antiapoptosis	Células dendríticas	(Zeng et al. 2016)
<i>L. amazoniensis</i>	Proteína desconocida.	Activación caspasas 3, 8 y 9	Muerte celular	Proapoptótico	Macrófagos C57BL / 6 y BALB / c	
<i>L. Infantum</i>	proteínas cIAP	Fosforilación de ERK, inhibición STAT3, disminución Bcl-2	Muerte celular	Antiapoptosis	U937 (macrófagos)	(Cianciulli et al. 2018)
		Inhibición caspasas 3, 7 y 9	Muerte celular	Antiapoptosis	U937 (macrófagos)	
<i>L. mexicana</i> y <i>L. major</i>	GP63	inhibición de la liberación de ROS	Sistema inmune innato	inhibición de producción de IL-1b	THP-1 (macrófagos)	
<i>L. donovani</i>	A20	Inhibe la expresión de NLRP3 inhibición NF-kB	Sistema inmune innato	Alteración del inflamasoma	Macrófagos	(Zamboni and Sacks 2019)
	UCP2	Inhibe la expresión de NLRP3, producción de ROS	Sistema inmune innato	Alteración del inflamasoma	Macrófagos	