

## Mecanismos de muerte celular: apoptosis y necrosis

Dr. \*Gustavo Adolfo Elena

**RESUMEN:** El número de células en los diferentes tejidos está determinado por un balance homeostático entre la proliferación de células nuevas y la muerte de células agotadas o seniles. Existen dos tipos de muerte celular: la necrosis, un proceso agudo que se produce como consecuencia de una lesión celular masiva, y la apoptosis, un mecanismo más refinado, no inflamatorio. Diversos mecanismos genéticos y celulares participan en la apoptosis, proceso genéticamente programado y que responde a mecanismos homeostáticos. Sin embargo, existen fallas en la activación de la apoptosis, apoptosis excesiva y alteraciones que generan defectos en el desarrollo. Histológicamente, la necrosis genera desorganización y lisis del citoplasma, dilatación del retículo endoplásmico y mitocondrias, disolución de la cromatina y pérdida de la continuidad de la membrana citoplasmática. El contenido del citoplasma es volcado al espacio extracelular, células inmunes migran al área y generan inflamación hasta eliminar los restos celulares. En la apoptosis hay condensación de los componentes de citoplasma, con grandes brotes en la membrana celular y condensación de la cromatina que llevan a la formación de cuerpos apoptóticos. El proceso de apoptosis es desencadenado por condiciones fisiológicas o patológicas sin pérdida de niveles de ATP, ya que se requiere energía. Tras las consignas de muerte disparadas por señales intra o extracelulares se activan proteasas intracelulares que determinan la muerte celular. El cuerpo apoptótico o cadáver celular es fagocitado y degradado dentro de los lisosomas de las células fagocíticas. Durante los procedimientos anestésico-quirúrgicos se ha detectado inhibición de apoptosis de neutrófilos y apoptosis excesiva de linfocitos periféricos circulantes, por lo que la apoptosis desempeñaría un rol principal en los cambios postoperatorios identificados en el número y funciones de leucocitos.

### Palabras Clave

- ▶ Necrosis
- ▶ Apoptosis
- ▶ Mecanismos muerte celular
- ▶ Linfocitos
- ▶ Neutrófilos
- ▶ Caspasas

### *Mechanisms of cellular death: apoptosis and necrosis*

**SUMMARY:** The amount of cells in the different tissues is determined by a homeostatic balance between proliferation of new cells and death of exhausted or senile cells. There are two types of cellular death: necrosis, an acute process that occurs as a result of a massive cellular lesion, and apoptosis, a more refined, non-inflammatory process. Various genetic and cellular mechanisms participate in apoptosis, a genetically programmed process that responds to homeostatic mechanisms. However, there are faults in activation of apoptosis, excessive apoptosis and changes that generate defects in development. Histologically, necrosis generates disorganization and lysis of cytoplasm, dilation of the endoplasmic reticule and mitochondria, dissolution of chromatin and loss of continuity of the cytoplasmic membrane. The cytoplasm content pours into the extracellular space, immune cells migrate to the area and generate inflammation until cellular residues are eliminated. In apoptosis there is condensation of the cytoplasm components, with big sprouts in the cellular membrane and condensation of chromatin, causing formation of apoptotic bodies. The apoptosis process is unleashed by physiologic or pathologic

\*Profesor Adjunto Anestesiología. Facultad de Ciencias Médicas Universidad Nacional de Rosario.

conditions, without loss of ATP levels, since energy is needed. After the death order triggered by intra or extra-cell signals, intracellular proteases are activated and these determine cellular death. The apoptic body or cell corpse is phagocytosed and degraded in the lysosomes of the phagocytic cells. During anesthetic-surgical procedures, inhibition of the apoptosis of neutrophils and excessive apoptosis of circulating peripheral lymphocytes have been detected; therefore, apoptosis would appear to play a leading role in the postoperative changes identified by the quantity and functions of leukocytes.

### Mecanismos de morte celular: apoptose e necrose

**RESUMO:** O número de células dos diferentes tecidos está determinado por um equilíbrio homeostático entre proliferação de células novas e morte de células esgotadas ou senis. Existem dois tipos de morte celular: a necrose, processo agudo provocado por uma lesão celular generalizada, e a apoptose, mecanismo mais apurado, não inflamatório. Na apoptose participam diversos mecanismos genéticos e celulares, sendo um processo geneticamente programado que responde a mecanismos homeostáticos. Porém, existem falhas na ativação da apoptose, apoptose excessiva e alterações que geram defeitos no desenvolvimento. Histologicamente, a necrose produz desorganização e lise do citoplasma, dilatação do retículo endoplásmico e mitocôndrias, dissolução da cromatina e perda da continuidade da membrana citoplasmática. O conteúdo do citoplasma é vertido ao espaço extracelular, células imunológicas migram à área e geram inflamação até que os restos celulares são eliminados. Na apoptose ocorre condensação dos componentes do citoplasma, com grandes brotos na membrana celular e condensação da cromatina que levam à formação de corpos apoptóticos. O processo de apoptose é desencadeado por condições fisiológicas ou patológicas sem que os níveis de ATP diminuam, já esse processo requer energia. As proteases intracelulares que determinam a morte celular são ativadas após consignas de morte disparadas por sinais intra ou extracelulares. O corpo apoptótico ou cadáver celular é fagocitado e degradado dentro dos lisosomas das células fagocíticas. Durante os procedimentos anestésico-cirúrgicos foi detectada inibição da apoptose de neutrófilos e apoptose excessiva de linfócitos periféricos circulantes, razão pela qual a apoptose desempenharia um papel principal nas mudanças pós-operatórias identificadas no número e funções dos leucócitos.

### Introducción

La muerte de las células en los tejidos humanos y en otros organismos multicelulares es un hecho normal y no produce alteración de las funciones. Por el contrario, el número de células en los diferentes tejidos está determinado por un balance homeostático entre la proliferación de células nuevas y la muerte de células agotadas o seniles, existiendo una tasa o ritmo de relación proliferación/muerte que varía de un tejido a otro.

Existen dos tipos de modos de muerte celular. Una es la que se produce como consecuencia de una lesión celular masiva conocida como necrosis, mientras que muchas células del organismo mueren a través de un mecanismo más refinado, no inflamatorio, dependiente de la energía celu-

lar, llamado apoptosis. La apoptosis es un proceso genéticamente programado que puede volverse dañino si no está controlado y no responde a los mecanismos homeostáticos. Esto ocurre cuando los mecanismos apoptóticos se presentan en cantidades inadecuadas o desfasados en el tiempo de aparición; más específicamente, la disregulación de la apoptosis está asociada a enfermedades como cáncer, neurodegeneración, autoinmunidad, miocardiopatías y otras alteraciones como las observadas en el proceso inflamatorio inmune<sup>1</sup>.

Es objetivo de esta actualización definir los principales tipos de muerte celular, necrosis y apoptosis, describiendo los mecanismos genéticos y celulares involucrados en este último proceso, y además describir cómo participan los procesos de apoptosis en los procedimientos anestésicos y de cirugía.

### Key Words

- ▶ Necrosis
- ▶ Apoptosis
- ▶ Cellular death mechanisms
- ▶ Lymphocytes
- ▶ Neutrophils
- ▶ Caspasas

### Palavras-chave

- ▶ Necrose
- ▶ Apoptose
- ▶ Mecanismos morte celular
- ▶ Linfócitos
- ▶ Neutrófilos
- ▶ Caspasas

## Necrosis

La necrosis ocurre de manera aguda, por una forma no fisiológica, mediante una agresión que causa lesión en una porción importante del tejido, por ejemplo en el centro de un tejido infartado, en un área de isquemia o en la zona de una lesión por toxinas.

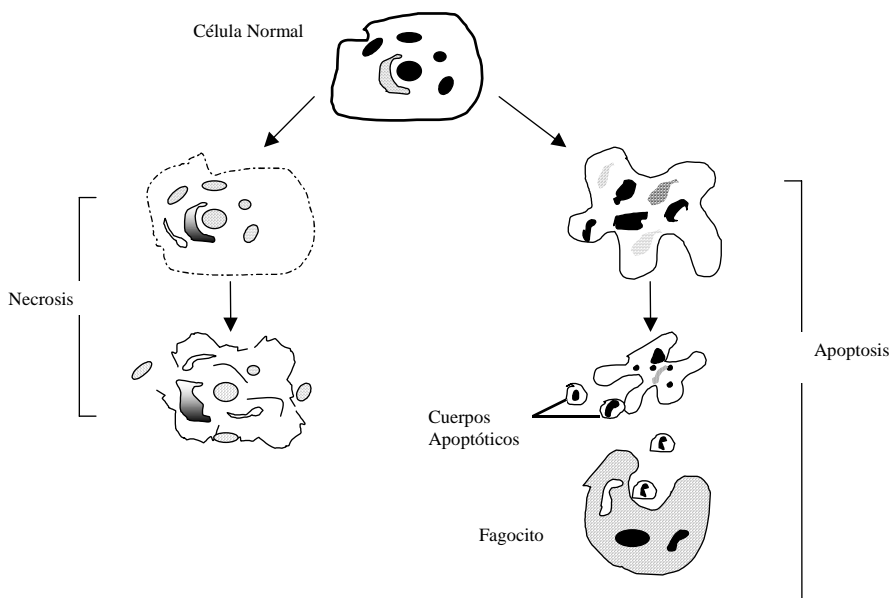
El proceso de necrosis es desencadenado por toxinas, hipoxia severa, agresión masiva y cualquier otra condición que genere caída de ATP. Esto crea cambios que, histológicamente, están representados por desorganización y lisis del citoplasma, con dilatación del retículo endoplásmico y las mitocondrias, disolución de la cromatina y pérdida de la continuidad de la membrana citoplasmática (proceso de oncosis). El ADN es partido en fragmentos irregulares al azar. Debido a la pérdida de la integridad de la membrana celular, el contenido del citoplasma es volcado al espacio extracelular, produciéndose la atracción de células inmunes en el área, lo que genera el proceso de inflamación, en el cual los restos celulares son eliminados por fagocitos inmigrantes,

## Apoptosis

En 1972 se descubrió el proceso fisiológico de apoptosis, que fue dominio de estudios histológicos hasta finales de los años 80. A principios de los 90 se caracterizaron los mecanismos genéticos y moleculares involucrados.

El proceso de apoptosis es desencadenado por condiciones fisiológicas o patológicas sin pérdida de niveles de ATP, debido a que el mismo requiere de energía para su realización. Existen dos vías principales que pueden llevar a la apoptosis: inducción positiva o externa por un ligando unido a los receptores específicos de la membrana plasmática y la inducción negativa o interna que ocurre por pérdida de la actividad supresora de mecanismos intracelulares. La inducción positiva involucra ligandos que por una porción intracelular del receptor transducen al interior una señal; esa porción intracelular es llamada dominio de muerte. La inducción negativa se produce por pérdida de la actividad supresora a cargo de una familia de proteínas específicas que se hallan relacionadas con la mitocondria, liberándose desde la misma citocromo C que dispara la actividad de las proteasas, enzimas encargadas de ejecutar la apoptosis.

Histológicamente la apoptosis se caracteriza por la condensación o encogimiento de los componentes del citoplasma, con grandes brotes en la membrana celular y condensación de la cromatina que llevan a la formación de cuerpos apoptóticos. Este fenómeno se produce en células aisladas dentro de un tejido. El ADN es fragmentado en trozos de 185 pares de bases o múltiples, mientras la membrana celular permanece intacta. Luego el cuerpo apoptótico es fagocitado por células vecinas sin generar proceso inflamatorio, ya que no se vuelca contenido intracelular al espacio extracelular. Las diferencias principales entre los procesos de necrosis y apoptosis están resumidas en la Tabla 1 y Figura 1.



**Fig. 1.-** Morfología de la necrosis y de la apoptosis. A la izquierda, el proceso de necrosis muestra el edema, la pérdida de integridad de la membrana celular y la salida de organelas intracelulares al espacio extracelular. A la derecha, el proceso de apoptosis muestra integridad de la membrana después de la muerte celular, condensación de la cromatina e integridad de la membrana y citoplasma en los cuerpos apoptóticos, que contienen las organelas. Los cuerpos apoptóticos luego son fagocitados.

TABLA I  
Diferencias en las características de los procesos de necrosis y apoptosis

| Característica                     | Necrosis  | Apoptosis   |
|------------------------------------|---|---|
| Estímulo                           | Agresión masiva, toxinas, anoxia, caída de ATP                | Condiciones fisiológicas y patológicas sin caída de ATP                   |
| Requerimientos de energía          | Ninguno   | Dependiente de ATP  |
| Histología                         | Lisis del citoplasma y organelas. Se da en sectores de tejido | Condensación de cromatina, cuerpos apoptóticos. Se da en células aisladas |
| Patente de ruptura de ADN          | En tamaños irregulares  | Fragmentos de 185 pares de bases o múltiplos                              |
| Membrana plasmática                | Lisis   | Intacta, con alteraciones moleculares                                     |
| Fagocitosis de las células muertas | Fagocitos inmigrantes   | Células vecinas   |
| Reacción tisular                   | Inflamación   | Sin inflamación   |

### Proceso de Apoptosis

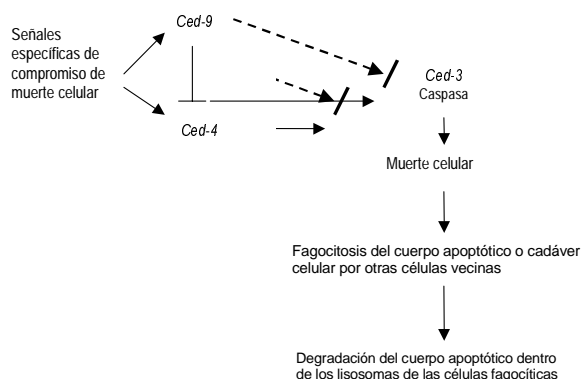
Estos procesos se estudiaron en forma muy precisa en un gusano, el nematode *Caenorhabditis elegans* (*C elegans*), que permitió determinar que la apoptosis consiste en cuatro pasos encadenados:

- consignas de muerte disparadas por señales intra o extra celulares
- ejecución de la célula por activación de proteasas intracelulares
- fagocitosis del cuerpo apoptótico o cadáver celular por otras células vecinas
- degradación del cuerpo apoptótico dentro de los lisosomas de las células fagocíticas.

El proceso de apoptosis en sus cuatro pasos y los mecanismos genéticos que gobiernan al mismo se han conservado inalterados a través de la evolución, razón por la cual primeramente se describirá el proceso de apoptosis en el *C elegans* a manera de modelo más simple y luego, en forma más precisa, el proceso de apoptosis en el hombre.

En el *C elegans* para la ejecución de la apoptosis se requiere la presencia de tres proteínas, que son producto de tres genes diferentes. Señales específicas del tejido activan la proteína derivada del gen *ced-4*, que tiene capacidad para activar a la proteína ejecutora, una proteasa llamada caspasa (cisteína asparato proteasa) derivada del gen *ced-3* y una proteína producto del gen *ced-9* que tiene por función prevenir la apoptosis inhibiendo la activación del gen *ced-3* derivado del *ced-4* (Figura 2).

Se trata de una relación entre cantidades disponibles de proteínas reguladoras y supresoras de la apoptosis. La proteína sintetizada por el gen *ced-4* actúa sobre el gen *ced-3* cuando recibe la señal de consigna de muerte y, uniéndose



**Fig. 2.-** Genes centrales en el desarrollo de la apoptosis del nematode *C elegans*. Señales específicas de activación de *Ced-4* activan la caspasa *Ced-3* conduciendo a la muerte celular. La proteína *Ced-9* puede inhibir la apoptosis por inhibición de la activación de *Ced-3* por *Ced-4* y posiblemente por inhibición directa de *Ced-3*. Líneas llenas: indican activación. Líneas discontinuas: indican inhibición.

al *ced-3*, activa la proteasa caspasa, que se halla en todas las células como un precursor inactivo. Por el contrario, el *ced-9*, que es una proteína multifuncional localizada en el exterior de la membrana de las mitocondrias y otras membranas intracelulares, al unirse a *ced-4* impide la activación del *ced-3*.

Cuando la proteasa caspasa es activada, actúa sobre las proteínas celulares inactivando algunas y activando otras. La activación causa la ruptura de barreras entre los compartimentos celulares y la destrucción de las estructuras vitales, pero se conserva la integridad de la membrana celular.

Este modelo del nematode *C elegans* se repite en las células de los mamíferos, centrándose las diferencias en el tipo

de señales con capacidad para regular el compromiso de muerte, principalmente porque en esas señales se involucran muchas más moléculas. Esta característica de que participen muchas señales en el compromiso de muerte tiene ventajas adaptativas, dado que si la señal con capacidad de determinar la muerte fuera una sola, todas las células expuestas a la misma morirían, mientras que un sistema con múltiples señales pueden determinar que se eliminen algunas células sin afectar a otras vecinas que responden a diferentes señales de muerte (Figura 3).

### Mecanismos moleculares involucrados en las apoptosis en los mamíferos

#### Receptores y ligandos extracelulares de muerte

La consigna de muerte puede ser disparada específicamente por una señal extracelular llamada Fas ligando (FasL) luego de la unión del ligando a un receptor denominado Fas. Este receptor presenta una cola intracitoplasmática en contacto con una proteína denominada FADD (fas-associated death domain proteins). Cuando FasL se une en la superficie al receptor Fas, la porción intracelular cambia su conformación y se une a FADD, el que luego se une a la proteasa caspasa-8 e inicia una cascada proteolítica letal, tras la cual la célula muere por apoptosis. La proteasa caspasa-8 humana es similar a la Ced-3 de *C. elegans*, pero a diferencia de lo que ocurría en el *C. elegans* en las células humanas han sido aisladas al menos 10 diferentes caspasas (Figura 4).

#### Proteínas homólogas a ced-4

Existe una proteína homóloga a ced-4 del *C. elegans* que tiene capacidad para inducir apoptosis denominada factor activador de proteasas Apaf-1 (apoptotic protease activating

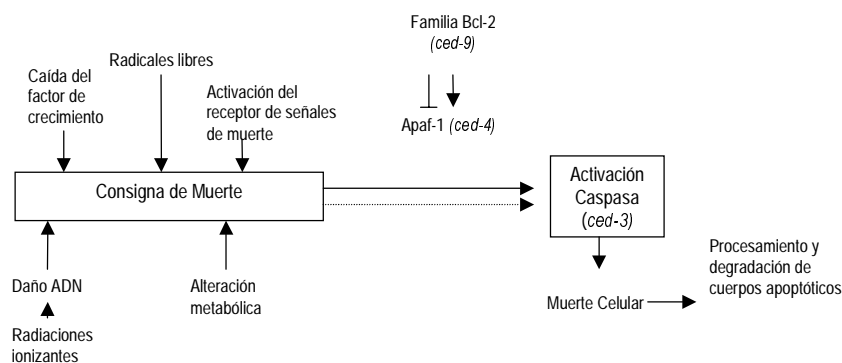
factor). Cuando la proteína Apaf-1 se une al citocromo C mitocondrial, adquiere capacidad para activar las caspasas semejante a ced-3. Es interesante este fenómeno pues es el que determina que la apoptosis sea dependiente de energía (ATP). Además, el nivel de energía juega un papel crítico en decidir el tipo de muerte celular que ocurrirá. Si la energía es suficiente ocurrirá apoptosis, pero si la energía es escasa o nula la célula padecerá un proceso de necrosis (Figura 5).

Finalmente, la proteína Apaf-1 podrá unirse a miembros de una familia de proteínas semejantes a ced-9 llamadas Bcl-2. Estas proteínas pueden secuestrar a la Apaf-1 de la unión con la caspasa y suprimir el proceso de apoptosis.

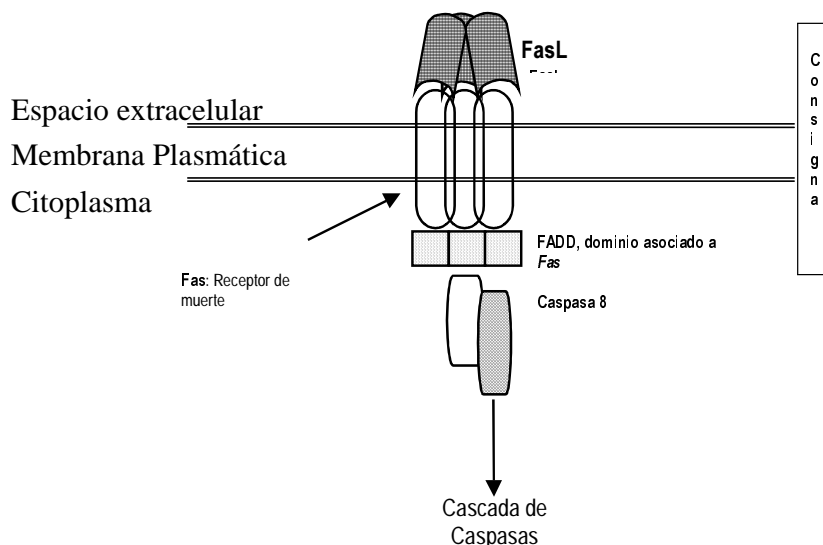
#### Proteínas homólogas a ced-9, familia de proteínas Bcl-2

Esta familia de proteínas recibe su nombre por haber sido aislada de un linfoma de células B. La misma incluye genes con propiedades de activar e inhibir la apoptosis. El por qué estas proteínas promueven o inhiben la apoptosis es incierto. Se sabe que las proteínas Bcl-2 que inhiben la apoptosis podrían estar involucradas en la formación de poros iónicos y de esa manera mantener la homeostasis electroquímica de las células. Contrariamente, las proteínas proapoptóticas Bcl-2 interferirían en la formación de canales iónicos, en la alteración del equilibrio electroquímico y modificarían el potencial de la membrana mitocondrial. La salida del contenido mitocondrial al citoplasma (citocromo C) comenzaría la activación de las caspasas, y constituye el primer paso de la apoptosis.

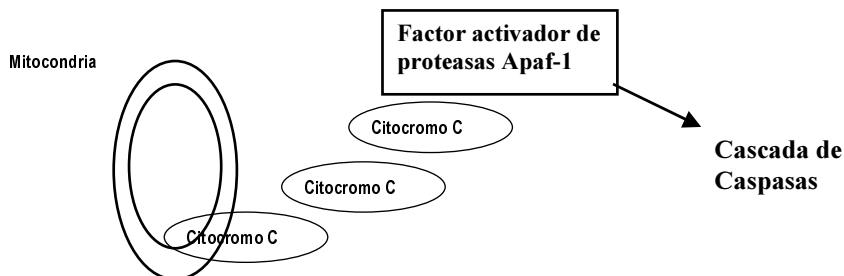
Muchos de los componentes de la familia de Bcl-2 se hallan presentes en las células en cantidad suficiente para producir apoptosis. Sin embargo, estos miembros no inducen la apoptosis debido a que su actividad está latente. La inducción interna de la apoptosis por la desfosforilación de las proteínas de regulación de Bcl-2 se produce por la unión



**Fig. 3.-** Proceso de la apoptosis en los mamíferos. En el diagrama de apoptosis en mamíferos se observa mayor diversidad en el tipo de señales con capacidad para regular el compromiso de muerte, pero el esquema general de la maquinaria apoptótica se conserva. Los genes con funciones semejantes en el nematode *C. elegans* se hallan entre paréntesis. Líneas llenas: indican activación. Líneas discontinuas: indican inhibición.



**Fig. 4.-** Vías de apoptosis: inducción positiva o externa por un ligando unido a los receptores específicos de la membrana plasmática. La consigna de apoptosis la provee el ligando FasL, que se une al receptor de muerte Fas iniciando la señal intracelular, que se trasmite por FADD (Fas associated death domain protein) a la caspasa 8, dando inicio a la activación de apoptosis.



**Fig. 5.-** Vías de apoptosis: inducción negativa o interna que ocurre por pérdida de la actividad supresora de los mecanismos intracelulares. La proteína Apaf-1 se une a la proteína mitocondrial citocromo C adquiriendo capacidad para activar las proteínas caspasas semejantes a ced-3.

Bcl-x o Bcl-2, con pérdida de la fisiología normal de la mitocondria y liberación de citocromo C. Así se activa la cascada de caspasas dando comienzo a la ejecución. Las caspasas activan el factor activador de fragmentación de ADN y proteínas con capacidad de fragmentación de otras proteínas. La familia Bcl-2 puede activar o suprimir la apoptosis regulando la permeabilidad de la membrana mitocondrial (Figura 6).

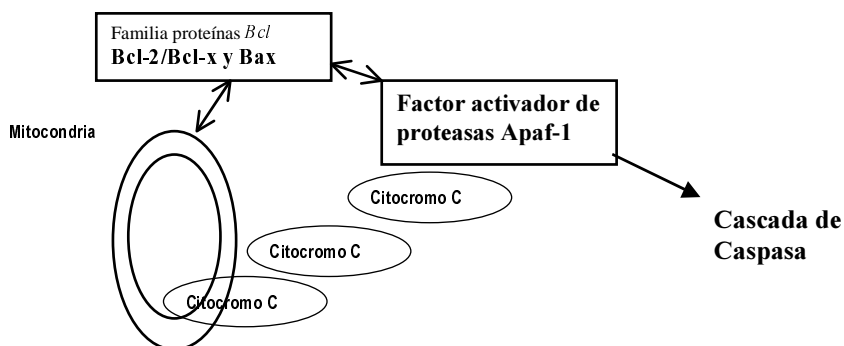
#### *Cascada de caspasas, su actividad proteolítica*

Cuando en una célula ocurre apoptosis, las caspasas tienen dos grupos de proteínas como sustrato de su actividad: las proteínas reguladoras y las proteínas estructurales.

El clivaje de proteínas reguladoras refuerza la actividad apoptótica, mientras que la ruptura de las proteínas estructurales da por resultado la desintegración celular. Entre las proteínas activadas se destaca el factor de fragmentación de ADN<sup>2-3</sup>.

#### *Supresión de la apoptosis*

La viabilidad de muchas células depende del constante o intermitente abastecimiento de citocinas o factores de crecimiento. En ausencia de una citoquina supresora de apoptosis la célula puede entrar en apoptosis. Un ejemplo de ello es el comportamiento de la proteína Bad, que es proapoptótica de la familia Bcl-2. La misma está secuestrada



**Fig. 6.-** Vías de activación de apoptosis: regulación por Bcl de la inducción negativa o interna. La proteína Apaf-1 podrá unirse a la familia de proteínas semejantes a ced-9, llamadas Bcl-2, las que pueden secuestrar a la Apaf-1 de la unión con caspasa y suprimir el proceso de apoptosis. Alternativamente se puede activar la apoptosis por la desfosforilación de las proteínas de regulación de Bcl-2, que producen la unión Bcl-x o Bcl-2 con pérdida de la fisiología normal de la mitocondria y liberación de citocromo C.

da permanentemente en el citoplasma por un mecanismo de fosforilación donde están presentes las citoquinas. En presencia de citocinasquinas, la proteína sufre una desfosforilación y causa la liberación de citocromo C desde la mitocondria.

Tanto la inducción de la apoptosis o como la progresión de la misma pueden ser inhibidas por un grupo de proteínas llamadas proteínas inhibidoras de la apoptosis. Estas se caracterizan por poseer en su estructura un dominio con capacidad de unirse a las caspasas, bloqueando la activación de las proteasas inducidas por citocromo C y previniendo de esta manera la cascada de las caspasas.

#### *Pasos finales del proceso de apoptosis*

La fagocitosis y la degradación de los cuerpos apoptóticos completan el proceso de muerte programada. Los mecanismos y circunstancias de este último proceso son menos conocidos que los de activación y ejecución ya descriptos (Figura 7). Están en estudio las señales que deben recono-

cerse para realizar fagocitosis de los cuerpos apoptóticos que se hallan recubiertos de membrana celular, así como el mecanismo por el cual se realiza la degradación final. Se postula que los defectos en este paso de degradación son los responsables de la aparición de anticuerpos antinucleares en las afecciones de autoinmunidad.

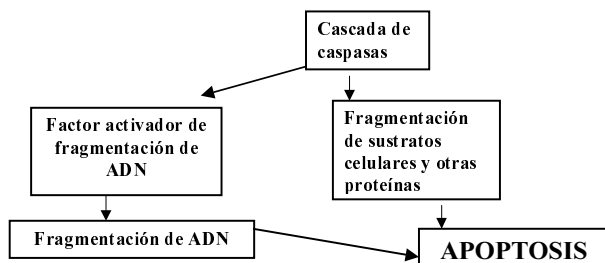
### Apoptosis y enfermedad

En un organismo en estado normal o de buena salud existe un equilibrio entre la tasa de proliferación y la muerte celular. Las alteraciones en la apoptosis con alteraciones en el requerimiento normal de apoptosis o un incremento en la misma puede resultar en un estado de enfermedad (Tabla II).

#### *Fallas en la activación de la apoptosis*

Autoinmunidad:

En este tipo de afecciones ocurre una agresión a los tejidos sanos por el sistema inmune de un mismo individuo. Si se produjese una deficiencia en la apoptosis no se eliminarían del organismo los linfocitos con capacidad de reaccionar contra las células del propio organismo, lo que podría jugar un papel muy importante en los desórdenes de autoinmunidad. La eliminación de esos linfocitos depende de los procesos de apoptosis. Ciertos sitios y tejidos del organismo, como por ejemplo la córnea y los testículos, están protegidos de reacciones inflamatorias y otros daños colaterales asociados a respuesta inmune. A esta situación se la denomina privilegio inmune. Dado que estas células expresan las moléculas de mayor complejo de histocompatibilidad, podrían ser blanco de la agresión de linfocitos autoreactivos. Sin embargo esto no sucede. Uno de los



**Fig. 7.-** Ejecución de la célula por activación de proteasas intracelulares. La activación de las caspasas a su vez activa el clivaje de proteínas reguladoras y estructurales, llevando a la formación de cuerpos apoptóticos.

TABLA II  
Enfermedades generadas por desregulación de la apoptosis

| Excesiva apoptosis  | Deficiente apoptosis                   |
|---|--|
| Enfermedades degenerativas nerviosas (Parkinson, Alzheimer, Huntington) | Síndrome linfoproliferativo autoinmune |
| Anemia aplásica   | Enfermedad de Graves                   |
| Tiroiditis de Hashimoto   | Linfoma                                |
| Lupus eritematoso   | Leucemia                               |
| Esclerosis múltiple   | Tumores sólidos                        |
| Diabetes tipo I   | Osteoporosis                           |
| Colitis ulcerosa  | Defectos de desarrollo                 |
| Defectos de desarrollo  |  |

mecanismos que otorgan este inmunoprivilegio es simple. En los tejidos con inmunoprivilegio los linfocitos T (LT) pueden ser inducidos a expresar FasL, que al unirse al receptor Fas que normalmente también expresan, permite que las células T autorreactivas se eliminen unas a otras, inhibiendo así la agresividad de las mismas y evitando la autoinmunidad.

La falla de este mecanismo genera desórdenes de autoinmunidad; por ejemplo, la falla en la eliminación por apoptosis de los linfocitos T autoreactivos da por resultado la destrucción de los Islotes de Langerhans en el páncreas, lo que juega un rol importante en la patogenia de la diabetes mellitus tipo I.

#### Tolerancia y rechazo de injertos:

Algunos aspectos de la aceptación o rechazo de injertos involucran disturbios en la apoptosis con fallas o inducción inadecuada de la misma. Los autoinjertos no son rechazados debido a que el sistema inmune los reconoce como del mismo organismo. En contraste, si el injerto es extraño se genera una respuesta de rechazo y es eliminado. Este rechazo incluye mecanismos de apoptosis en los que se hallan involucrados los linfocitos T. Se puede producir una respuesta exagerada de apoptosis por una falla en la eliminación de las células autorreactivas que hacen que el injerto sea destruido.

#### Enfermedades linfoproliferativas:

Las enfermedades linfoproliferativas que comienzan a edad temprana ocurren en personas que tienen una mutación en el gen de la proteína Fas, resultando en una proteína mutante que falla en trasducir las señales de apoptosis. Así, no se destruyen los linfocitos autorreactivos. Esta falla genera adenopatías crónicas y esplenomegalia, producción

de auto anticuerpos, hipergamma globulinemia policlonal y neutropenia.

#### Carcinogénesis:

Los tumores malignos se caracterizan por una aberrante acumulación de células causada por una excesiva proliferación de las mismas, por deficiente apoptosis, o por ambos mecanismos simultáneamente. En el pasado se consideraba que únicamente estaban involucrados mecanismos relacionados con la excesiva proliferación, pero en la actualidad se conoce que la mutación o la delección de genes relacionados con la apoptosis están asociados con la carcinogénesis, el crecimiento tumoral y la regresión de los tumores.

Los tumores contienen un número variable de células apoptóticas, en relación inversa a la agresividad del tumor. Como ellos están compuestos por células transformadas o anormales, es necesario tener en cuenta que dichas células posiblemente evadan la apoptosis como proceso de eliminación. Se conoce que en las células de diferentes tipos de cáncer existen alteraciones en la expresión y en la estructura de las proteínas vinculadas a la apoptosis.

#### Inhibición de la apoptosis en la infección viral:

Los virus necesitan de una célula viva para su autoreplicación y el mantenimiento de la infección viral latente. Los virus que colonizan ciertas células interactúan con las vías de apoptosis celular en diferentes puntos, alterando la capacidad para expresar inhibidores de las caspasas, modificando la interacción con la proteína adaptadora de la señal del Fas y la unión a ciertas proteínas de los procesos de apoptosis, por lo que adquieren la capacidad de prevenir la muerte celular impidiendo la apoptosis.



Disminución de la apoptosis de los osteoclastos en la osteoporosis:

Los osteoclastos, reabsorbedores de hueso, son normalmente removidos por apoptosis inducida por estrógenos. La caída de los tenores plasmáticos de estrógenos en mujeres menopáusicas genera una falla en la apoptosis de los osteoclastos, lo que resulta en un incremento del número y actividad de los osteoclastos que contribuye a la osteoporosis endémica.

#### *Apoptosis excesiva*

La apoptosis también participa en la remoción de tejidos dañados e infectados, pero un exceso de apoptosis desarrollado sin fines fisiológicos puede causar enfermedad. Un grupo muy importante de enfermedades nerviosas relacionadas con la edad se caracteriza por la pérdida de células mediante procesos de apoptosis; entre ellas, afecciones neurodegenerativas como enfermedad de Alzheimer, Corea de Huntington, Parkinson y esclerosis lateral amiotrófica. En el caso de la enfermedad de Alzheimer, la formación de placas de amiloide beta en el cerebro altera el umbral de apoptosis de las neuronas, desregula las proteínas antiapoptóticas y hace que las células nerviosas sean más susceptibles a la muerte por estrés oxidativo.

La desregulación del balance en la expresión Fas y FasL luego de procesos infecciosos causa inducción de la apoptosis en las células vecinas de los tejidos afectados por la infección, lo que genera un proceso de autoinmunidad local. Este proceso se observa en los tejidos afectados por infecciones virales, donde al daño generado por el virus se suma la muerte ocasionada por linfocitos T activados, cuya expresión de FasL desencadena apoptosis de las células que expresan Fas.

#### *Defectos en el desarrollo*

La muerte programada y regulada de varias poblaciones celulares, junto a una armónica proliferación y diferenciación celular, son necesarias para un desarrollo normal. Esa muerte celular programada tiene por función "esculpir" los tejidos durante la morfogénesis, pero un apoptosis sin control puede resultar en la aparición de defectos estructurales como sindactilia, espina bífida, hipospadias, paladar hendido y anomalías cardíacas.

Se ha postulado que infecciones virales, drogas y otros factores teratogénicos como hipoxia, radiaciones y anomalías metabólicas pueden causar defectos de desarrollo a través de la expresión de un proceso anormal de apoptosis.

### **Apoptosis y trauma quirúrgico**

Con respecto a la extensión y magnitud del trauma quirúrgico, al estrés consecuente y a los métodos de anestesia

aplicados, se ha observado que tienen capacidad para inducir alteraciones en el sistema inmunitario de defensa, con consecuencias como aumento en la susceptibilidad a las infecciones bacterianas, micóticas y virales, aumento en la respuesta inflamatoria y también en la tasa de metástasis de tumores. Tales disfunciones del sistema inmune son influenciadas por los profundos cambios endocrinos metabólicos, presumiblemente por la afección directa del sistema inmune o en forma indirecta por la activación del eje hipotálamo hipofisario y del sistema nervioso simpático. Esta disfunción tiene variada expresión en las poblaciones celulares y sus funciones, destacándose la neutrofilia y linfopenia desarrolladas en el postoperatorio.

Una caída en el número de linfocitos circulantes es usualmente observada durante el periodo postoperatorio. Varios mecanismos han sido propuestos para explicar este cuadro. La discusión está centrada en atribuir este fenómeno a la redistribución de linfocitos o a una inapropiada muerte por apoptosis de los mismos o a ambos mecanismos en forma conjunta. Si bien no se puede descartar la redistribución de linfocitos entre los órganos linfoides y la herida quirúrgica como causa de linfopenia, varios estudios muestran que existe un proceso de apoptosis acelerado de los linfocitos en el postoperatorio inmediato que podría tener importantes implicancias en las defensas de los pacientes. Estudios *in vitro* exponiendo linfocitos periféricos a isoflurano y sevoflurano demostraron que esos anestésicos inducen apoptosis de manera dosis y tiempo dependiente, por lo que la linfopenia postoperatoria sería en parte causada por apoptosis<sup>4</sup> (ver artículo "Influencias de estrés anestésico quirúrgico sobre la distribución y acción de los leucocitos" pág. 389). Este fenómeno se ha observado principalmente en procedimientos con trauma quirúrgico extenso bajo anestesia general y se atribuye a una desregulación del sistema Fas y FasL, así como a la alteración de la función de otros factores apoptóticos y antiapoptóticos<sup>5-6</sup>. Al estudiar la influencia de la modificación de los procesos de apoptosis en la linfopenia que ocurre en el postoperatorio inmediato, se comprobó que en cirugías electivas del abdomen en pacientes a los que se les administraba isoflurano se generaron perturbaciones intracelulares que resultaron en una tasa mayor de apoptosis de los linfocitos asociada a la desregulación del sistema Fas FasL<sup>5-6</sup>. Se ha hallado relación entre el aumento de la apoptosis con tenores sanguíneos elevados de IL10<sup>7</sup>. También se ha descrito la asociación entre la producción de especies reactivas al oxígeno y la disrupción del potencial transmembrana de la mitocondria, con alteración del metabolismo energético de la misma, que podría estar relacionado con aumento de la pérdida de linfocitos por elevada tasa de apoptosis<sup>8</sup>.

Con respecto a la neutrofilia, es considerada una respuesta adecuada en el período inicial del postoperatorio, debido a que los neutrófilos juegan un papel crucial en las defensas del huésped. Pero una función exagerada o prolongada de los neutrófilos con infiltración inapropiada de la herida y

activación de sus funciones, puede causar daño en los tejidos afectados y modificar la respuesta inflamatoria sistémica. En este daño estarían involucrados la liberación de metabolitos reactivos de oxígeno, metaloproteínas y citoquinas proinflamatorias. La apoptosis modularía la respuesta inflamatoria de los neutrófilos, y una demora o insuficiente respuesta de apoptosis ha sido asociada a enfermedades proinflamatorias tal como el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica<sup>9</sup>. Inicialmente la neutrofilia es atribuida a una liberación aumentada de neutrófilos inmaduros dentro de la circulación, pero a las 24 horas del postoperatorio la apoptosis espontánea está marcadamente reducida aún luego de procedimientos de cirugía electiva. Se sabe que la interleucina IL6 contribuye en forma significativa a la sobrevivencia de los neutrófilos<sup>10</sup>. Este fenómeno de la inhibición de la apoptosis de los neutrófilos en el postoperatorio tiene relación con la extensión de la lesión quirúrgica y con el tipo de anestesia administrada. Con respecto a la extensión de la cirugía se ha observado que en la cirugía electiva de reemplazo total de cadera ocurre una inhibición significativa de la tasa de apoptosis de los neutrófilos, que comienza a la hora de la incisión quirúrgica y se mantiene al menos hasta 24 horas después de la cirugía<sup>11</sup>, mientras que en las cirugías que implican poca lesión de tejidos, como la cirugía de cataratas, no se observan cambios en la tasa de apoptosis de los neutrófilos<sup>9</sup>. La administración de anestesia peridural en cirugías de cadera y rodilla también mostró capacidad para inhibir la apoptosis de neutrófilos en el período postoperatorio<sup>11</sup>.

Al estudiar la influencia de los anestésicos volátiles sobre los procesos de apoptosis en tejidos no vinculados al sistema inmunitario, se observó *in vitro* que drogas como el halotano y el isoflurano producen una disminución importante de la apoptosis inducida por beta adrenérgicos de los cardiomiocitos ventriculares. Esta disminución de la tasa de apoptosis es principalmente mediada por la modulación de homeostasis del calcio intracelular y la inhibición de la caspasa-9<sup>9</sup>.

En resumen, la cirugía y anestesia general interactúan induciendo apoptosis excesiva en los linfocitos periféricos circulantes, contribuyendo a la linfopenia del período postoperatorio. Asimismo, las evidencias sugieren que la inhibición de la apoptosis juega un rol principal en los cambios postoperatorios detectados en el número y las funciones de los neutrófilos. Sin embargo, el papel que juegan los agentes anestésicos debe ser más profundamente investigado a fin de determinar su influencia en la apoptosis y la respuesta inmunitaria e inflamatoria.

### Exposición ocupacional crónica a anestésicos inhalatorios y apoptosis

Una pregunta que surge respecto de la influencia de los anestésicos volátiles sobre la apoptosis es si éstos afectarán

la apoptosis de los trabajadores de quirófanos debido a la exposición crónica. A fin de investigar este punto se realizaron estudios en la apoptosis de los neutrófilos. Luego de 24 horas de cultivo, la tasa de apoptosis de los neutrófilos de trabajadores expuestos fue de 50,6% mientras que en los voluntarios no expuestos fue 56%. Esta diferencia es considerada pequeña. Además no se encontró diferencia entre el personal auxiliar de quirófano y los anestesiólogos, lo que permitió concluir que la exposición a dosis bajas en forma crónica a anestésicos volátiles no inhibe en forma significativa la tasa de apoptosis de los neutrófilos en personas que trabajan en quirófanos. Otros autores hallaron resultados similares luego de una hora de cultivo<sup>12-15</sup>.

### Comentario final

Existen muchas publicaciones que asocian la respuesta inmune con anestesia, cirugía y estrés, dado que la inmunocompetencia en los pacientes quirúrgicos es de vital importancia por su influencia sobre la susceptibilidad individual a infecciones virales, bacterianas y por hongos, como así mismo en la diseminación de células tumorales. Entre los mecanismos que afectan la inmunocompetencia se halla el proceso de apoptosis, un proceso de muerte celular programada que puede ser inducido por estímulos fisiológicos y patológicos, y a la vez influenciado por drogas anestésicas. Por lo tanto, se deberá establecer con claridad cuándo los procedimientos de anestesia influyen para deteriorar la inmunocompetencia a través de la alteración de la apoptosis. Esto se logrará con investigaciones que profundicen la interacción entre los mecanismos de la apoptosis y las actividades farmacodinámicas de las drogas anestésicas.

### Bibliografía

1. Hetts S. To die or not to die: An overview of apoptosis and its role in disease. *JAMA* 1998, 279, 4:300-307.
2. Cohen G. Caspases. The executioners of apoptosis. *Biochem J* 1997, 326:1-16.
3. Saikumar P; Dong Z; Mikhailov V; Denton M; Weinberg J; Venkatachalam M. Apoptosis: Definition, mechanisms and relevance to disease. *Am J Med* 1999, 107:489-506.
4. Matskuoka H; Krosawa S; Horinouchi T; Kato M; Hashimoto Y. Inhalation anesthetics induce apoptosis in normal peripheral lymphocytes *in vitro*. *Anesthesiology* 2001, 95:1467-1472.
5. Masaaki O; Katsutoshi H; Kotharo Yet al. Induction of Fas-Mediated Apoptosis on circulating Lymphocytes by Surgical Stress. *Annals of Surgery* 1996, 223:434-440.
6. Delogu G; Moretti S.; Antonucci A et al. Apoptosis in Surgical Trauma. *Arch Surg* 2000, 135:1141-1147.
7. Delogu G; Famularo G; Moretti S; De Luca A; Tellam G; Antonucci A; Marandola M; Signore L. Interleukin-10 and apoptotic death of circulating lymphocytes in surgical/anesthesia trauma. *Journal of Trauma* 2001; 51:92-97
8. Delogu G; Moretti S; Fumalano G et al. Mitochondrial

- perturbations and oxidant stress in lymphocytes from patients undergoing surgery and general anesthesia. *Arch Surg* 2001, 136:1190-1196.
9. Fanning N; Porter J; Sorteen G et al. Inhibition of neutrophil apoptosis after elective surgery. *Surgery* 1999, 126, 3:527-534.
  10. Kobayashy E; Yamauchi H. Interleukin-6 and delay of neutrophil apoptosis after major surgery. *Arch Surg* 1997, 132:209-210.
  11. Goto Y; Hot S; Fanning N; Wang J; Redmond H; and Sorten G General versus regional anaesthesia for cataract surgery: effects on neutrophil apoptosis and the postoperative pro-inflammatory state *European Journal of Anaesthesiology* 2000, 17, 474-480.
  12. Zaugg M; Jamali N; Lucchinetti E; Shafiq S; Siddiqui M. Norepinefrine-induced Apoptosis Is Inhibited in Adult Rat Ventricular Myocytes Exposed to Volatile Anesthetics. *Anesthesiology* 2000, 93:209-218.
  13. Goto Y; Gallaguer D; Wang J; Redmond H; Sorteen G. Does chronic exposure to volatile anaesthetic agent influence rate of neutrophil apoptosis? *Br. J. Anaesth.* 1999, 82:34.
  14. Goto Y; Gallaguer D; Fanning N; Wang J; McCusker S; Redmond H; Sorteen G. Does chronic exposure to volatile anaesthetic agent influence rate of neutrophil apoptosis? *Can J Anaesth* 2000, 47,4:350-353.
  15. Tyther R; Halligan M; Wang J; Redmond HP; Shorten G. Effects of chronic occupational exposure to anaesthetic gases on the rate of neutrophil apoptosis among anaesthetists. *Eur J Anaesthesiol* 2002, 19, 8:604-608.

**Dirección Postal:** Gustavo Adolfo Elena. Pellegrini 947  
(2144) TOTORAS. Santa Fe Argentina  
**Email:** gapelena@cpsarg.com.ar