

RESEÑA

Apoptosis: una muerte silenciosa

Isis Casadelvalle Pérez.

Departamento de Bioquímica, Facultad de Biología, Universidad de la Habana, Calle 25 No. 455 entre Calles J e I, El Vedado, Plaza de la Revolución, Ciudad de La Habana, Código Postal 10400, Cuba.

Recibido: 20 de julio de 2004. Aceptado: 17 de junio de 2005.

Palabras clave: apoptosis, necrosis, muerte apoptótica, mitocondria.

Key words: apoptosis, necrosis, apoptotic death, mitochondrion.

RESUMEN. La apoptosis o muerte celular programada es un tipo de muerte presente en todas las células eucarióticas. Es un proceso ordenado y esencial del desarrollo normal y de mantenimiento de la homeostasis de un organismo. En el presente trabajo se resumen las principales características fisiológicas, bioquímicas y moleculares de la muerte por apoptosis, evento que ocurre de forma apagada o silenciosa, o sea, sin daño celular aparente diferenciándose claramente del proceso de necrosis celular. En ese proceso se destaca la mitocondria, como organelo celular donde mediado por la activación de las caspasas se inicia el paso hacia la muerte celular programada. En el momento actual, la apoptosis ha cobrado un verdadero valor para la mejor comprensión de los procesos biológicos normales en los que este evento está involucrado y que con anterioridad no era tomado en cuenta. En este sentido, se comentan las principales técnicas de detección de muerte celular programada y se aclara que la elección de algunas de ellas depende del modelo de estudio. También se dan a conocer algunas de las patologías generales en las que este proceso representa un papel determinante y se discute acerca de cómo algunas alteraciones en los mecanismos de regulación de la apoptosis inducen la aparición de varias enfermedades, incluyendo aquellos desórdenes en los que ocurre acumulación celular (cáncer, alteración cardíaca, neurodegeneración y SIDA). El estudio y caracterización de este complejo mecanismo ha cambiado profundamente la comprensión de numerosas patologías en los organismos eucariotas.

ABSTRACT. The apoptosis or programmed cell death is a common phenomenon for all eukaryotic cells. This is a sequential process that plays an essential function for the normal development and homeostasis of an organism being at present of major interest to understand many biological processes, for which it was previously neglected. The present work summarizes the main aspects of the biochemistry, the physiology and the molecular mechanisms of the apoptotic cell death, a silent process that occurs without any apparent harm for the cell and it is clearly different from the process of necrosis. A special attention is dedicated to the role of mitochondrion as site of initiation of apoptosis mediated by caspases activation. The main techniques used to detect the apoptosis are shown, and various examples of pathologies where apoptosis is involved are mentioned. At present it is well known that certain defects in the regulation mechanisms of apoptotic cell death could contribute to the development of many diseases, such as neurodegeneration and AIDS and those including disorders where cell accumulation occurs (e.g. cancer and heart failure).

APOPTOSIS. ASPECTOS GENERALES

El nombre de apoptosis fue propuesto por Kerr y Searle, quienes utilizaron los términos griegos apo (απο), desde, y ptosis (πτωσις), caída o prolapso de un órgano o parte de él. La apoptosis o muerte celular programada (MCP) es una forma específica de muerte celular, proceso que ocurre en los tejidos en condiciones fisiológicas normales.¹ Es un fenómeno fundamental en el desarrollo embrionario²⁻⁴ la metamorfosis,^{5,1} atrofia tisular y regresión tumoral,^{6,7} tanto en organismos vertebrados como invertebrados. Este proceso representa un papel complementario, pero opuesto a la necrosis en la regulación de las poblaciones en células animales. La necrosis puede ocurrir debido a un ambiente con perturbaciones rigurosas y no de procesos intrínsecos de la célula; se refiere a la muerte accidental o patológica, la cual es considerada diferente a la apoptosis.⁸⁻¹⁰

Si bien se conoce la ocurrencia y expresión de los procesos de muerte celular programada, los mecanismos moleculares a través de los cuales se produce no se conocen suficientemente y son estudiados a profundidad hasta el presente.¹¹⁻¹⁴ Importantes trabajos en los Estados Unidos demostraron que el cultivo *in vitro* de linfocitos T, en ausencia del factor de crecimiento IL-2, induce la apoptosis en dichas células. Otros grupos han evidenciado que las células en apoptosis segregan productos de activación del sistema inmunitario, en particular, la interleucina 2 (IL-2),

la cual favorece la evacuación de los restos celulares.^{15,10,16} También ha sido observado que en el desarrollo embrionario de primates hay una sobreproducción de neuronas, de las cuales deben ser eliminadas aproximadamente un 38 %.¹⁷ Aún se conoce poco de la señal que interviene en la inducción de la apoptosis y de cómo se transmite a las células que tienen que morir. En los vertebrados, existe una relación con la inducción de la apoptosis, las moléculas Fas/APO-1 y el receptor para el factor de necrosis tumoral (TNF-R).^{18, 19}

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

Las células normales y sanas presentan características morfológicas que revelan su buen estado, pero si son alteradas, bien sea por estímulos internos o externos, pueden entrar en un proceso de muerte programada o apoptosis.²⁰ Los cambios morfológicos más importantes que caracterizan el proceso apoptótico son: pérdida de la integridad de la membrana, formaciones vesiculares con disgregación y compactación de la cromatina, retracción y condensación celular y, por último, desintegración de los organelos disgregados en pequeñas porciones, conocidas como cuerpos apoptóticos, que son fagocitados sin producir fenómenos inflamatorios *in vivo*.^{15,21,22} Los cuerpos apoptóticos quedan como restos de células fragmentadas que luego se hinchan y finalmente se rompen.²³ Esta fase terminal en las células *in vitro* fue llamada necrosis secundaria²⁴ y más recientemente, aponecrosis.²⁵ Es importante destacar que este proceso asincrónico y algunos pasos son aún desconocidos.²⁶

CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS Y BASES GENÉTICAS

La apoptosis está dada por la activación de un programa genético letal, el cual sugiere la existencia de señales de sobrevivencia específicas.²⁰ La característica bioquímica más distintiva de este proceso es la alteración de la homeostasis celular, proceso muy regulado y el cual puede ser dependiente o no de energía.^{8,27,28} La degradación del ADN nuclear es un evento irreversible, siendo ésta una característica molecular del proceso apoptótico que lo diferencia del proceso de necrosis celular.^{12,16} Los fragmentos del ADN pueden ser observados bajo electroforesis en forma de múlti-

meros que comprenden segmentos desde 180 a 200 bp.^{29,30,31} Resulta difícil la identificación de los genes involucrados en la apoptosis en experimentos *in vivo*, ya que las células que los expresan están destinadas a morir rápidamente.²⁶ La proliferación celular está relacionada con la MCP, pero la supresión de la proliferación celular no es signo esencial para entrar a la vía de la apoptosis. La expresión de los protooncogenes *c-myc* y *p53*, conocidos por su relación con la proliferación celular, tienen un papel importante en la inducción de apoptosis.^{32,33} El gen *p-53*, supresor de tumores, también muestra la capacidad de producir apoptosis, especialmente cuando el ADN es dañado por agentes externos.³¹

MITOCONDRIAS Y APOPTOSIS

El papel de la mitocondria en la apoptosis fue descubierto cuando se supo que uno de los factores críticos de la activación de la caspasa 3 es el citocromo c.^{35,36} Liberado este de la mitocondria, se une a una proteína llamada Apaf-1 y la induce a asociarse con la pro-caspasa 9.^{37,38} Este evento dispara la activación de caspasa 9 e inicia la cascada apoptótica con el procesamiento de caspasa 3. Otras proteínas mitocondriales tales como SMAC/DIABLO o factor inductor de apoptosis (AIF) pueden también ser liberadas por la mitocondria para promover la apoptosis en una forma dependiente o independiente de caspasa, respectivamente.³⁹ Además de la liberación de activadores de caspasas, otras señales convergen en la mitocondria para inhibir o disparar el proceso de MCP, las cuales incluyen cambios en el transporte de electrones, pérdida de potenciales transmembranares mitocondriales, alteraciones en actividades de óxido-reducción celulares y la participación de genes antiapoptóticos como *bcl-2*.^{36,40} El daño directo a la mitocondria por virus, ceramidas, radiación ultravioleta y drogas puede inducir daño mitocondrial posiblemente a través de la ruptura de sus membranas o cambios en el pH interno y citosólico, lo cual, regula la activación de caspasas. En muchos casos, el potencial transmembrana mitocondrial más interno se colapsa, lo que facilita la liberación del citocromo c.³⁹ Un número de proteínas que residen en las membranas interna y externa de la mitocondria formarían canales iónicos para regular la salida del

citocromo c. Una de estas proteínas reguladoras es *bcl-2*, cuya presencia inhibe la salida del citocromo c desde el interior mitocondrial.^{29,41} Al menos 15 miembros de la familia *bcl-2* con propiedades pro o anti-apoptóticas han sido identificados.^{31,40} Significativamente, varias proteínas parecidas a *bcl-2* son codificadas por muchos virus, tales como el EBV (BHRF1) y el virus herpes humano 8 (KSbcl-2) para inhibir la muerte celular disparada por la mitocondria.^{42,43,44} Es interesante notar que los miembros pro-apoptóticos de la familia *bcl-2*, tales como *bax*, pueden también funcionar como factores de supervivencia, por ejemplo, en respuesta a la infección fatal con virus Sindbis. La decisión de vida o muerte, apoptosis o necrosis, parece estar relacionada con el estado de la membrana mitocondrial, lo que convierte a las mitocondrias en organelos fundamentales de la activación de los procesos de muerte celular.⁴⁵

INDUCTORES, REGULADORES Y EFECTORES DE LA APOPTOSIS

Actualmente existen varios elementos que pueden ser comunes en la muerte celular programada y suelen dividirse en tres grandes grupos: inductores, reguladores y efectores. Los inductores constituyen todo un conjunto de señales que inducen a la célula a entrar en el proceso de apoptosis. Estas pueden ser externas a la célula o producidas por ella; una misma señal puede inducir muerte celular o proliferación.⁴⁶⁻⁴⁸ Algunos inductores, como radiaciones ionizantes, virus, sustancias químicas, sustancias reactivas del oxígeno, algunas con actividad anti-tumoral, y algunos medicamentos, actúan al unirse a receptores de membrana^{49,50,51} y pueden activar directa o indirectamente alguno de los mecanismos efectores de la apoptosis. Los daños en el DNA, causados por radiaciones ionizantes o por sustancias químicas pueden actuar como potentes inductores de apoptosis.⁵²

Dentro de los reguladores de la apoptosis se encuentran los genes de la familia *bcl-2*, que constituyen el prototipo de una gran familia de genes que codifica para un grupo de proteínas que puede tanto inhibir la apoptosis (*bcl-2*, *bcl-xL*) como promoverla. Los efectores de la apoptosis son los responsables de los cambios estructurales que se observan en las células y que llevan a la muerte celular. Estos cambios son

muy parecidos en los distintos tipos de células, lo que sugiere que los mecanismos de muerte están bien conservados; fundamentalmente son enzimas que, una vez activadas, inician el programa de destrucción irremediablemente.⁵³

Estos son algunos de los elementos que intervienen en la apoptosis; existen otros de los cuales, en algunos casos, se conocen sus mecanismos de acción. Sin embargo, no está todavía totalmente clara la señal que permite a la célula distinguir cuándo debe morir, el mecanismo exacto de cómo se produce la muerte y si existe un punto clave en el que converjan todos los elementos.

PRINCIPALES METODOS PARA EL ESTUDIO DE LA APOPTOSIS

Existen varias técnicas para determinar y cuantificar el fenómeno apoptótico. Las que se elijan para estudiar este fenómeno dependen del modelo de estudio, del tipo de muestras y de la infraestructura disponible.¹⁹ A continuación, se presentan algunas de las más ampliamente utilizadas.

Electroforesis de ADN

Se basa en la extracción y purificación del ADN de las células y su separación cromatográfica en geles de agarosa; es un método principalmente cualitativo. Su análisis en cultivo de células, de forma general, lo precede alguna evaluación de la actividad vital de la célula a través de la medición de la actividad mitocondrial, ejemplo, la técnica del MTT. La fragmentación genómica pone en evidencia el rompimiento de la cromatina y permite visualizar el patrón de escalera (*ladder*) típico del fenómeno apoptótico, dado por fragmentos de ADN de 180 a 200 pb y sus múltiplos,^{49,54} siendo posible además, la distinción entre apoptosis y necrosis, ya que en esta última se observa un barrido en los geles.

Microscopia

La determinación de apoptosis puede realizarse en cortes de tejido teñidos con hematoxilina-eosina (H-E), siempre y cuando la magnitud del fenómeno así lo permita. Esta tinción no es una técnica específica para apoptosis, por lo que deberá acompañarse de otras pruebas. La inmunohistoquímica es una herramienta muy útil, ya que permite la detección de proteínas que participan en el proceso apoptótico con anticuerpos específicos. La técnica TUNEL (*transferasa-mediated*

dUTP nick end labeling) es una de las más empleadas en la detección y cuantificación de la apoptosis. Se basa en el marcaje de los extremos 3'OH libres generados durante la fragmentación del ADN en la muerte apoptótica.⁵⁵

Citometría de flujo

Existen varias técnicas para determinar apoptosis con empleo de la citometría de flujo, las cuales se pueden dividir en tres grupos:

- **Detección de moléculas involucradas en la muerte apoptótica.** Muchas de ellas utilizan anticuerpos acoplados a algún fluorocromo, que están dirigidos contra alguna de las moléculas involucradas en la muerte apoptótica (Fas, FasL, bcl-2 y p53).
- **Análisis del ciclo celular.** Se basa en la detección del contenido de ADN en la célula. Las células en fase G₀ o G₁ presentan un contenido de ADN = 2N; cuando entran en división e inician la síntesis de material genético la cantidad es mayor (fase S), mientras que las células en mitosis tienen exactamente el doble de ADN justo antes de separarse en dos células hijas (fases G₂ y M), siendo entonces su contenido igual a 4N. Su limitante es que detecta una etapa tardía de la muerte celular, por lo que en sistemas *in vivo* es difícil captar las células apoptóticas, pues son rápidamente removidas por células fagocíticas.
- **Determinación de la actividad de caspasas.** Resulta útil cuando se quiere establecer la ruta de inducción de apoptosis. Se emplea el sustrato de la caspasa unido a una molécula fluorogénica. Esta se vuelve fluorescente y detectable en el citómetro de flujo.^{56,54}

APOPTOSIS Y PATOLOGIAS ASOCIADAS

Los primeros planteamientos de que la apoptosis podría ser usada como mecanismo de defensa del organismo hospedero fue propuesta en 1985 y esta autonomía de desarrollar la apoptosis como estrategia de defensa contra los virus fue aclarada en experimentos posteriores presentados por otros investigadores.⁵⁷ Es posible que muchas patologías humanas caracterizadas por muerte celular (enfermedades neurodegenerativas, infartos y daño cerebral traumático), puedan estar causadas por procesos que inactivan genes específicos de este proceso (ced-9). Otro importante grupo

concluyó que el mecanismo empleado por *Salmonella flexneri* (causante de la disentería celular) para matar a los macrófagos es la apoptosis y descubrieron que un gen de la bacteria producía una molécula que pone en marcha el mecanismo que conduce a la muerte celular. De este modo, existen algunas bacterias que pueden provocar la apoptosis en células humanas, por ejemplo: *Bordetella pertusis*, agente de la tos ferina, destruye los macrófagos produciendo una enzima la adelinato-ciclasa que estimula la formación de AMP cíclico a partir de ATP, desencadenando la apoptosis. El papel del AMP cíclico es aún desconocido, pero se piensa que podría actuar como un segundo mensajero en la producción de enzima nucleasa. Ciertos patógenos bacterianos causan lesiones mediante la secreción de toxinas que actúan a distancia, las cuales tienen una doble actividad: como inhibidoras de la biosíntesis de las proteínas y también como una enzima nucleasa capaz de fragmentar los ácidos nucleicos.⁵⁸ La inducción de la apoptosis mediante moléculas de activación se muestra como un importante medio que permite a algunas bacterias ser patógenas. Es también interesante señalar que la apoptosis parece intervenir en otras situaciones patológicas. En la década de los noventa se descubrió que las proteínas virales gp 120 del virus del SIDA (VIH) se unían a la superficie de la membrana plasmática de las neuronas, induciendo su muerte después de la entrada de Ca²⁺. De esta manera, se podría explicar también la muerte masiva de los linfocitos T CD4 en la infección de este virus desprende con facilidad la proteína gp 120 que se uniría al receptor CD4 y podría perturbar el trayecto de las señales moleculares de activación de los linfocitos T por lo tanto, la apoptosis pasa a ocupar un lugar entre los mecanismos susceptibles de explicar el desarrollo del SIDA.^{59, 60, 61}

El virus de la influenza es un potente inductor de apoptosis, pero las células diana se encuentran bien preparadas para frenar una muerte masiva. Para inhibir la apoptosis, los virus actúan fundamentalmente a tres niveles: el de la proteína Bcl-2, el de las caspasas o sobre la p53. Así, el adenovirus, el virus de la fiebre aftosa y el Epstein-Barr producen sustancias semejantes a la Bcl-2. Los poxvirus y baculovirus tratan de inhibir el ICE con la Cmr A y la p35, mientras que la proteína

E6 del virus del papiloma humano inactiva la p53. Por el contrario, el VIH produce un exceso de apoptosis en los linfocitos T CD4 al sobreexpresar el receptor Fas, aunque no ha podido demostrarse *in vitro* que la vía para la muerte sea la interacción Fas-Fas ligando. Por otra parte, en enfermos VIH positivos, la proteína Tat de estos pacientes tiene secuencias RGD semejantes a las existentes en la matriz extracelular, que podrían ser activadoras de las caspasas.⁶²

El reconocimiento de que la muerte celular fisiológica no se debe solo a causas intrínsecas de las células, ayudará a enfermedades tales como cáncer, las neurodegenerativas, el SIDA y las autoinmunes entre otras, con lo cual, se pueda llegar a nuevos enfoques en el tratamiento de estos padecimientos.

BIBLIOGRAFIA

- Kerr J.F.R., Wyllie C and Currie A.R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide ranking implications in tissue kinetic. **Br. J. Cancer**, **26**, 239-257, 1972.
- Bellairs R. Cell death in chick embryos as studies by electron microscopy. **J. Anat.**, **95**, 54-60, 1961.
- Saunders J.W. Death in embryonic systems. **Science**, **154**, 604-612, 1966.
- Weil I.M., Jacobson M.D., Coles H.S.R., Davies T.J., Gardener R.L Raff K.D. and Raff M.C. Constitutive expression of the machinery for programmed cell death. **J. Cell Biol.**, **133**, 1053-1059, 1996.
- Goldsmith M. The anatomy of cell death. **J. Cell Biol.**, **31**, 41-42, 1966.
- Kerr J.F.R. and Searle J. Deletion of cell by apoptosis during castration-induced involution of the rat prostate. **Virchows Arch. Abt. B Zellpath.**, **13**, 87-102, 1973.
- Wyllie A.H., Kerr J.F.R., and Currie A.R. Cell death: the significance of apoptosis. **Int. Rev. Cytol.**, **68**, 251-306, 1973.
- Searle J., Kerr J.F.R. and Bishop C.J. Necrosis and apoptosis: distinct modes of cell death with fundamentally different significance. **Pathol. Annu.**, **17**, 229-259, 1982.
- Vaux D.L. and Toward C. Understanding of the molecular mechanism of physiological cell death. **Proc. Natl. Acad. Sci., USA**, **90**, 786-789, 1993.
- Budd R.C. Death receptor couple to both cell proliferation and apoptosis. **J. Clin. Invest.**, **109**, 437-441, 2002.
- Buja M., Eingensbrodt M.L., Eingensbrodt M. Apoptosis and necrosis: basic tipe and mechanism of cell death. **Arch. Pathol. Lab. Med.**, **117**, 1208-1214, 1993.
- Ferri K., and Kroemer G. Organelle-specific initiation of the death pathways. **Nat. Cell Biol.**, **3**, 255-263, 2002.
- Hickman E.S., Moroni M.C. and Helin K. The role of p53 y pRB in apoptosis and cancer. **Curr. Opin. Genet. Dev.**, **12**, 60-66, 2002.
- Kroemer G. The 2002 Nobel Prize in Physiology/Medicine. **Coment. Biotech. Journal**, September-October, 1, 2003.
- Hettis S.W. To die or no to die. An overview of apoptosis and its role in disease. **JAMA**, **279**, 300-307, 1998.
- Rathmell J.C. and Thompson C.B. Pathways of apoptosis in lymphocyte development, homeostasis and disease. **Cell**, **109**, 97-107, 2002.
- Goyal L. Cell death inhibition: keeping caspases in check. **Cell**, **104**, 805-808, 2001.
- Aries S.P., Weirich B., Hansaen R., and Dennin R.H. Early T cell apoptosis and Fas expression during anti-retroviral therapy in individuals infected with HIV. **J. Immunol.**, **48**, 86-91, 2001.
- Sánchez-Torres L.E., Diosdado-Vargas F. Apoptosis: el fenómeno y su determinación. **Téc. Pecu. Méx.** **41**, 49-62, **J. Immunol. Meth.**, **184**, 39-51, 2003.
- Bratton S.B., and Cohen G.M. Apoptotic death sensor: an organelle's alter ego? **Trends Farmacol. Sci.**, **22**, 306-315, 2001.
- Robertson J.D., Orrenius S., Zhirovovskiy B. Nuclear events in apoptosis. **J. Struc. Biol.**, **129**, 346-358, 2000.
- Vaqueroa M. Apoptosis, To be or no to be, that is a question. **Med. Clin.**, **114**, 144-156, 2000.
- Fuji C., Saratutsuchi A., Manaka J., Yonehara S. and Nakanishi Y. Difference in the way of macrophage recognition of target cells depending on their apoptotic stages. **Cell Death Diferr.**, **8**, 1113-1122, 2001.
- Wyllie A.H. Cell death: a new classification separating apoptosis from necrosis in Bowen. Lockshin. Cell death in biology and pathology. Edt. Chapman and Hall, London, 9-34, 1981.
- Formigli L., Papucci L., Tani A., Schiavone N., Tempestini A., Orlandini G.E., Capaccioli S., Orlandini S.Z.. Aponecrosis: Morphological and biochemical exploration of a syncretic process of cell death sharing apoptosis and necrosis. **J. Cell Physiol.**, **182**, 41-49, 2000.
- O'Neill A.J. Apoptosis occurs independently of bcl-2 and p 53 over-expression in non-small cell lung carcinoma. **Histopathol.**, **29**, 49-50, 2001.
- Schulze-Osthoff K., Ferrari D., Los M., Wesselborg S., and Meter M.E. apoptosis signaling by death receptors. **Eur. J. Biochem.**, **254**, 439-459, 1998.
- Zhang, J. and Xu, M.. Apoptotic DNA fragmentation and tissue homeostasis. **Trend Cell Biol.**, **12**, 84-89, 2002.
- Collins J.A., Schandadl C.A., Young K.K., Vesely and Willingham M.C. Major DNA fragmentation is a late event in apoptosis. **J. Histochem. Cytochem.**, **45**, 923-934, 1997.
- McCarthy N.J. and Evan G.I. Methods of detecting and quantifying apoptosis. **Curr Top Dev. Biol.**, **36**, 259-278, 1998.
- Zhang J. and Xu M. Apoptotic DNA fragmentation and tissue homeostasis. **Trend Cell Biol.**, **12**, 84-89, 2002.
- Chao D.T. and Korsmayer S.J. Bcl-2 family: regulators of cell death. **Annu. Rev. Immunol.**, **16**, 395-416, 1998.
- Blagosklonny M.V. Paradox of Bcl-2 and p53: why may apoptosis regulating proteins be irrelevant to cell death? **Bioessays**, **23**, 947-953, 2001.
- Hickma, E.S., Moroni M.C. and Helin K. The role of p53 y pRB in apoptosis and cancer. **Curr. Opin. Genet. Dev.**, **12**, 60-66, 2002.
- Cohen M.G. Caspases: The executioner of apoptosis. **Biochem. J.**, **326**, 1-16, 1997.
- Martinou J.C. Key to the mitochondrial gate. **Nature**, **399**, 411-412, 1999.
- Li P., Nijhawan D., Budihardjo I., Srinivasula S.M., Ahmad M., Alnemri E.S. and Wang X.. Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. **Cell**, **91**, 479-481, 1997.
- Green D., Reed J.C. Mitochondria and apoptosis. **Science**, **281**, 1309-1312, 1998.
- Susin S.A., Lorenzo H.K., Zamzami N., Marzol I., Snow B.E., Brothers G.M., Mangion J., Jacotot E., Costantini P., Loeffler M., Larochette N., Goodlett D.R., Aebersold R., Siderovski D.P., Penninger J.M., Kroemer G. Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor. **Nature**, **397**, 441-446, 1999.
- Zamzami N. and Kroemer G. The mitochondrion in apoptosis: How Pandora's Box opens. **Nat. Rev.**, **2**, 67-71, 2001.
- Enari M.A. A caspase-active that degrades DNA during apoptosis, and its inhibitor ICAD. **Nature**, **391**, 43-50, 1998.
- Henderson S., Huen D., Rowe M., Dawson C., Jonhson G., Rickinson A. Epstein-Barr virus-coded BHFR1 protein, a viral homologue of Bcl-2, protects human B cells from programmed cell death. **Proc. Natl. Acad. Sci., USA**, **90**, 8479-8483, 1993.
- Cheng E.H., Nicholas J., Bellows D.S., Hayward G.S., Guo H.G., Reitz M.Z., Hardwick J.M. A Bcl-2 homolog encoded by Kaposi sarcoma-associated virus, human herpesvirus 8, inhibits apoptosis but does not notheterodimerize with Bax or Bak. **Proc. Natl. Acad. Sci., USA**, **94**, 690-694, 1997.
- Roulston A., Marcellus R.C. and P.E. Branton. Viruses and apoptosis. **Annu. Rev. Microbiol.**, **53**, 577-628, 1999.
- Susuki S., Higushi M., Proske R.J., Oridate N., Hong W., and Lotam R. Implication of mitochondrial-derived reactive oxygen species, cytochrome c and caspase-3 retinamide- induce apoptosis in cervical carcinoma. **Oncogene**, **18**, 6380-6387, 1999.

46. Chang L., Chen C. Urlacher V and Lee T.Z. Differential apoptosis effects primate lentiviral Vpr and VPX in mammalian cell. **Journal of Biomedical Science**, **7**, 322-333, 2000.
47. Budd R.C. Death receptor couple to both cell proliferation and apoptosis. **J. Clin. Invest.**, **109**, 437-441, 2002.
48. Columbié F. and Galdeta P. Mecanismos involucrados en la apoptosis inducida por el VSV. **Botanic Rev.**, **86**, 162-169, 2002.
49. Marchetti C., Di marco B., Cifone G., Migliorati G. and Riccardi C. Dexamethasone-induced apoptosis in tymocytes: Role of glucocorticoid receptor associated Src kinase and caspase 8 activation. **Blood**, **101**, 585-593, 2003.
50. Vick U., Cavalli F., Isaacson P.G., Gascoyne R.D., and Zucca E. MALT Lymphomas. **Hematology**, **1**, 241-258, 2003.
51. Uchide N., Ohyama K., Besso T., Yuan B., and Yamakawa T. Apoptosis in cultured Human fetal membrane cell. Infected with influenza virus. **Biol. and Pharma.**, **25**, 109-110, 2002.
52. Mitsiades N., Mitsiades C.S., Poulaki V., Anderson K. and Treon S.P. Intracellular regulation of tumor necrosis factors-related apoptosis inducing ligand-induced apoptosis in multiple human myeloma cells. **Blood**, **99**, 2162-2171, 2002.
53. Kroemer G. and Reed J. mitochondrial control of cell death. **Nature**, **6**, 513-519, 2000.
54. Alfaro E., García C., Dueñas A. Métodos de detección de la apoptosis, aplicaciones y limitaciones. **Rev. Inst. Nal. Cancerología (Méx.)** **6**, 275-280, 2000.
55. Negoescu A., Lorimier P., Labat-Moleur F., Azoti L., Robert C., Guillermet C., Brambilla C. and Brambilla E. TUNEL: improvement and evaluation of the method for *in situ* apoptotic cell identification. **Biochemica**, **2**, 12-17, 1997.
56. Benjamin C.W., Hiebsch R.R., Jones D.A. Caspase activation in MCF7 cells responding to etoposide treatment. **Mol. Pharmacol.**, **53**, 446-450, 1998.
57. Razvi E.S. and Wels R.M.. Apoptosis in viral infections. **Adv. Virus. Res.**, **45**, 1-60, 1995.
58. Koonin E.V., and Aravind L. Origin and evolution of eukaryotic apoptosis: The bacterial connection, **Cell Death Differ.**, **9**, 394-404, 2002.
59. Lockshin R.A., and Zakeri Z., Programmed cell death and apoptosis: Origins of the theory, **Nat. Rev. Mol. Cell Biol.**, **2**, 545-550, 2001.
60. Noraz N., Gozlan J., Corbeil J., Brunnu T. and Spector S.A. HIV induced apoptosis of activity primary CD4+ T lymphocyte is not mediated apoptosis in HIV infections. **J. Clin. Invest.**, **101**, 195-201, 2000.
61. Roshal M., Zhu Y., and Planelles V. Apoptosis in AIDS. **Apoptosis**, **6**, 103-116, 2001.
62. Roulston A., Marcellus R.C., and Branton P.E. Viruses and apoptosis. **Annu Rev. Microbiol.**, **53**, 577-628, 1999.



RESULTADOS CIENTIFICOS DESTACADOS MINISTERIO DE EDUCACION SUPERIOR DE CUBA

HACES GAUSSIANOS POLICROMATICOS: PROPAGACION A TRAVES DE SISTEMAS OPTICOS SIMPLES

Laboratorio de Tecnología Láser,
Universidad de la Habana.

Los haces de luz emitidos por los láseres no siempre tienen una elevada monocromaticidad. Sin embargo, la aproximación cuasi monocromática, según la cual la longitud de onda media de la radiación láser se supone mucho mayor que su ancho de banda espectral, se emplea usualmente en el estudio de la propagación y caracterización de haces láser. En particular, se supone válida en el modelo físico de Haces Gaussianos Monocromáticos (HGM), ampliamente utilizado en el cálculo de parámetros de haces láser y en el diseño de sistemas ópticos para guiarlos o transformarlos.

Se realizó una generalización del modelo de HGM al caso de haces láser con anchos espectrales grandes (no satisfacen la aproximación, cuasi monocromática). Estos haces son denominados Haces Gaussianos Policromáticos (HGP). El modelo propuesto supone que un HGP está formado por componentes monocromáticos que satisfacen la ecuación de onda paraxial. Se parte de la norma ISO/DIS 11146 para definir el radio cuadrado de una componente monocromática, teniendo en cuenta la densidad espectral de potencia del HGP.

El trabajo aporta un modelo físico de haces láser policromáticos que permite estudiar: sumas incoherentes de HGP TEM₀₀ coaxiales y de diferentes modos de oscilación transversal, no coaxiales; expresiones analíticas para la corrección de aberraciones cromáticas en haces láser policromáticos y además, parámetros para caracterizar las ondulaciones y la uniformidad de perfiles de irradiación láser.

Los resultados respectivos se aplican en el diseño de sistemas ópticos con láseres para aplicaciones industriales y médico-quirúrgicas, así como en la metrología y las modelaciones teóricas de los haces láser.