

GALECTINAS: UNA NUEVA FAMILIA DE PROTEÍNAS INVOLUCRADAS EN LA
REGULACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE
IMPLICANCIAS EN PROCESOS INMUNOPATOLÓGICOS*

GABRIEL ADRIAN RABINOVICH, NATALIA RUBINSTEIN

*Laboratorio de Inmunogenética, Hospital de Clínicas José de San Martín,
Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires*

Resumen Las galectinas constituyen una familia de proteínas extremadamente conservadas a través de la evolución. En función de su propiedad de descifrar glicocódigos específicos, estas proteínas han sido involucradas en un amplio espectro de eventos biológicos. Recientes avances han demostrado que estas proteínas juegan un rol fundamental en procesos relacionados a la regulación de la respuesta inmune, tales como adhesión linfocitaria, crecimiento celular, producción de citoquinas y regulación de la muerte celular programada. En el presente artículo se analizan las implicancias de esta familia de proteínas en desórdenes autoinmunes, inflamación aguda y crónica, trastornos alérgicos, infecciones y enfermedades neoplásicas. La utilización de estas proteínas endógenas y sus antagonistas en el diagnóstico y tratamiento de estas patologías abre un nuevo horizonte en el campo de la inmunopatología molecular.

Palabras clave: galectina, apoptosis, autoinmunidad, alergia, inflamación, infección, cáncer

Abstract *Galectins: a novel family of proteins involved in the regulation of the immune response. Implications in immunopathological processes.* Galectins have emerged as a new family of closely related carbohydrate-binding proteins, which exert their functions by virtue of their ability to decipher glyco-codes on complex glycoconjugates. They have been implicated in different immunological processes, such as lymphocyte adhesion, cytokine production, cell growth regulation, apoptosis and central and peripheral immune tolerance. In the present article we analyze the implications of this protein family in different immune pathologies with up- or down-regulated immune responses, such as autoimmune disorders, acute and chronic inflammation, allergic diseases, infection and metastases. The use of recombinant galectins or their antagonists will have future implications in the diagnosis, prognosis and treatment of these diseases, widening the horizons of molecular immunopathology.

Key words: galectins, apoptosis, autoimmunity, allergy, inflammation, infection, cancer

Galectinas: proteínas que dilucidan glicocódigos en azúcares específicos

Las galectinas constituyen una familia de proteínas extremadamente conservadas a través de la evolución; que participan en diversos eventos biológicos. Son capaces de descifrar glicocódigos específicos en macromoléculas complejas situadas en las membranas celulares o en la matriz extracelular (MEC)^{1,2,3} a través de un dominio de 135 aminoácidos filogenéticamente intacto desde inver-

tebrados inferiores a mamíferos, denominado dominio de reconocimiento de carbohidratos (DRC)^{1,2}, el cual interacciona con la estructura (Gal β 1 \rightarrow 4 GlcNAc)_n.

Hasta el presente, se han descrito 10 subfamilias de galectinas localizadas en un amplio espectro de tejidos y especies del reino animal que han sido clasificadas de acuerdo a su estructura bioquímica (Tabla 1; Fig. 1).

* Parte del trabajo experimental detallado en la sección *Galectinas y cáncer* ha sido distinguido con el Premio Cherny al mejor trabajo de la Sesión Interdisciplinaria durante la Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Investigación Clínica en Mar del Plata, noviembre 24, 2000. Dicho trabajo ha sido titulado: "Identificación de galectina-1 como uno de los principales factores Inmunosupresores producidos por células de melanoma: un nuevo mecanismo de evasión de la respuesta Inmune" por Natalia Rubinstein, Luciana Molinero, Marcela Barrio, Laura Bover, Inés Bravo, Norberto Zwirner, José Mordoh, Leonardo Fainbolm, Gabriel Rabinovich, y realizado en colaboración entre el Laboratorio de Inmunogenética del Hospital de Clínicas José de San Martín y el Instituto de Investigaciones Bioquímicas Federico Leloir.

Recibido: 9-VIII-2000

Aceptado: 20-IX-2000

Dirección postal: Dr. Gabriel A. Rabinovich, Laboratorio de Inmunogenética, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Córdoba 2351, 1120 Buenos Aires, Argentina.

Fax: (54-11) 4508-3780.

e-mail: gabyrabi@ciudad.com.ar

TABLA 1

- Galectinas *proto-type*: incluyen galectinas 1, 2, 5, 7 y 10. Estas proteínas se comportan como homodímeros compuestos por dos DRC idénticos que reconocen estructuras simples de carbohidratos disacarídicos, en el contexto de glicoconjugados complejos. La más estudiada es galectina-1 (14.5 kDa), la cual ha sido identificada a nivel de músculo cardíaco, neuronas motoras y sensoriales, riñón, placenta, córnea, timo, bazo y ganglios linfáticos¹⁻⁴.
- Galectinas *chimera-type*: desempeñan su función a través de una interacción dual. Contactan con carbohidratos a través de su DRC situado en el dominio carboxi-terminal y con otros ligandos, como polipéptidos y polinucleótidos, a través de su dominio amino-terminal rico en prolina, glicina y tirosina. El único miembro de esta familia, galectina-3 de 29 kDa (previamente conocida como antígeno Mac-2 o proteína de unión a Ig E), fue identificado en macrófagos activados, basófilos, mastocitos y ciertas células tumorales¹⁻⁴.
- Galectinas con secuencias repetitivas (*tandem repeat-type*): exhiben DRC estructuralmente distintos, que les confieren la propiedad de interactuar con carbohidratos disímiles. Este grupo incluye las galectinas-4, 6, 8 y 9.

En el presente artículo nos concentraremos básicamente en los efectos biológicos de galectinas-1 y -3 (Gal-1 y Gal-3).

Función de las galectinas: un misterio a descubrir

Su amplia distribución en la naturaleza y sus secuencias aminoacídicas conservadas a través de la evolución, sugieren que estas proteínas podrían cumplir roles fisiológicos esenciales. Sin embargo, ratones *knock out* en

los cuales se ha eliminado por recombinación homóloga los genes de Gal-1 y Gal-3, no presentan fenotipos diferentes al de ratones normales; nacen, crecen y se reproducen en forma normal^{5,6}.

No obstante, estas proteínas han sido involucradas en fenómenos de inmunomodulación⁷⁻¹⁰, adhesión celular^{11, 12}, regulación del crecimiento^{13, 14}, inflamación¹⁵, embriogénesis¹⁶, reproducción^{17, 18}, metástasis¹⁹, proliferación^{20, 21} y splicing²². La mayoría de estas funciones, graficadas en la Fig. 2, han sido asignadas a Gal-1 y Gal-3, de manera tal que la fisiología del resto de estas proteínas es aún tierra virgen para explorar. Se ha observado que estas proteínas de unión a carbohidratos ejercen sus efectos biológicos a través del reconocimiento de azúcares específicos en ligandos intracelulares, receptores de membrana y glicoproteínas extracelulares. La ejecución de sus funciones varía en forma considerable de acuerdo a su localización subcelular, la regulación temporal y espacial de su expresión, y el estado de activación celular^{1, 2}. La concentración intracelular de galectinas en condiciones fisiológicas es equivalente a 0.01 mM⁴, mientras que en situaciones patológicas o de stress los niveles ascienden hasta valores del rango de 0.1 mM. Se ha evaluado que la expresión de galectinas se modifica drásticamente en respuesta a agentes diferenciadores²³, productos de genes oncosupresores y oncogenes²⁴, agentes inflamatorios²⁵, activadores^{25, 26} e infecciosos²⁷.

En este artículo, analizaremos la participación de estas nuevas proteínas en distintos mecanismos de iniciación, ejecución y terminación de la respuesta inmune. Además, discutiremos su contribución en enfermedades por alteración de la respuesta inmune normal, tales como autoinmunidad, fenómenos alérgicos, procesos infecciosos y neoplasias.

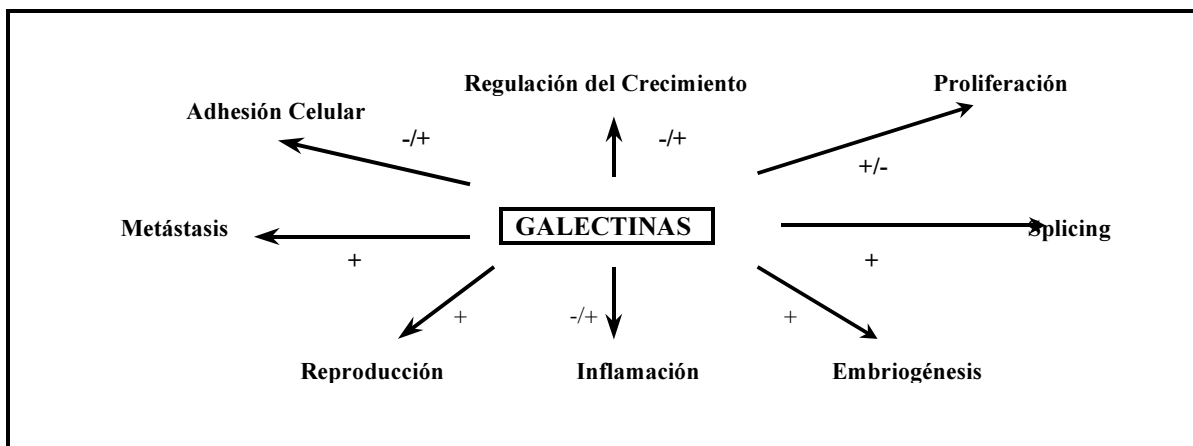


Figura 1.

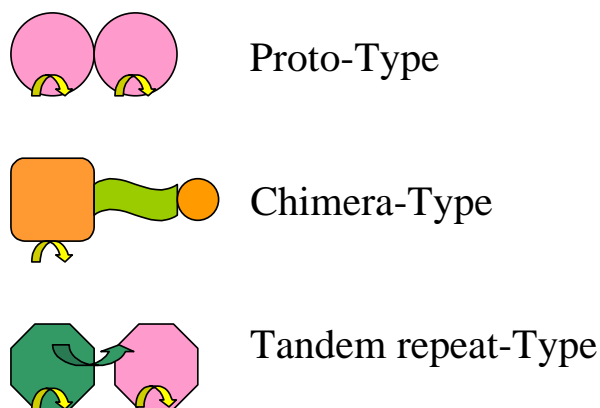


Figura 2.

Rol de las glectinas en la maduración intratímica

En las etapas tempranas de la vida, en los órganos linfoides primarios (timo y médula ósea), ocurren una serie de eventos e interacciones que determinan la producción de células inmunocompetentes aptas para poblar los órganos periféricos. Aquellas células con capacidad de reaccionar contra antígenos propios con alta afinidad son seleccionadas negativamente por un mecanismo apoptótico. Este proceso se conoce como tolerancia inmunológica central, y durante muchos años se ha intentado dilucidar cómo se establece y regula dicho estado.

En búsqueda de nuevas moléculas involucradas en el proceso de selección negativa, Baum y col.²⁸ identificaron la presencia de Gal-1 en células epiteliales tímicas. Esta proteína interaccionaría con un grupo particular de timocitos corticales inmaduros permitiendo su eliminación selectiva y formando parte de la compleja maquinaria de generación de tolerancia a nivel central²⁹. Se ha observado que la Gal-1 sintetizada por células epiteliales tímicas se une con mayor afinidad a terminales oligosacáridicos situados en timocitos corticales respecto a aquellos situados a nivel de timocitos medulares. Se han identificado dos subpoblaciones de timocitos particularmente susceptibles a la acción de Gal-1. El primero corresponde a células inmaduras que aún no han atravesado procesos de selección, y el segundo corresponde a una subpoblación seleccionada negativamente. De acuerdo con estos resultados, Gal-1 producida por células epiteliales tímicas podría constituir la segunda señal necesaria para la apoptosis mediada por la interacción del complejo péptido-complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) con el receptor T (TcR) específico en procesos de selección negativa. Efectivamente, Vespa y col.³⁰ en un estudio reciente demostraron que Gal-1 sinergizaría la apoptosis mediada por el TcR durante la selección del repertorio linfocitario.

Rol de las glectinas en fenómenos de inmunosupresión y apoptosis

La apoptosis es un mecanismo fisiológico cuyo objetivo final es lograr la homeostasis en los tejidos del organismo. Actualmente se ha descrito que diversos procesos patológicos surgen por una disfunción de los mecanismos de regulación de la maquinaria apoptótica de las células³¹. El primer indicio de que Gal-1 podría estar asociada a la apoptosis fue provista por Goldstone y Lavin en 1991, quienes demostraron un incremento en la transcripción del gen de Gal-1 durante la muerte celular inducida por glucocorticoides³².

La segunda evidencia del rol de estas proteínas en este proceso, fue su localización preferencial en sitios inmunológicamente privilegiados del organismo, tales como placenta¹⁷, retina³³ y testículo³⁴. En estos órganos, múltiples factores operan para asegurar una rápida eliminación de células inflamatorias. En este sentido, la apoptosis de células T inducida por Gal-1, constituiría un mecanismo natural a través del cual sería posible proteger del daño tisular a los sitios más vulnerables del organismo. Un ejemplo, sería su expresión aumentada en placenta de primer trimestre. De acuerdo a lo postulado, la presencia de esta proteína durante la etapa más sensible de la gestación protegería al feto del sistema inmune materno¹⁷. Además, la expresión de Gal-1 en retina y córnea protegería a este órgano sensorial del efecto deletéreo de una respuesta inflamatoria.

En el laboratorio de Inmunología de la Facultad de Ciencias Químicas de la UNC hemos identificado la presencia de Gal-1 a nivel de macrófagos peritoneales, células extremadamente versátiles, capaces de llevar a cabo funciones esenciales en la inmunidad innata y adaptativa²⁵. Agentes inflamatorios y activadores tales como citoquinas, ésteres de forbol (PMA) y péptidos quimiotácticos (fMLP) fueron capaces de modular su expresión en este tipo celular^{25, 26}, sugiriendo que esta proteína podría jugar un papel fundamental en la modulación de la respuesta inmune. Esta proteína cumplió con los criterios fundamentales de pertenencia a la familia de Gal tipo-1²⁶. El análisis de su funcionalidad, reveló que la Gal-1 producida por estas células, es capaz de inducir la apoptosis de células T activadas²⁶, a través de su interacción con el receptor CD45, particularmente con la isoforma CD45R0 presente en linfocitos T activados y de memoria³⁵. De esta manera, Gal-1 se agrupa junto al Fas ligando (CD95L) y al TNF- α en el conjunto de mediadores involucrados en la muerte celular inducida por activación o propicio. Este fenómeno es crucial para lograr la terminación de una respuesta y el mantenimiento de la tolerancia periférica hacia clones potencialmente autoagresivos presentes en el repertorio linfocitario³⁶.

Recientemente, se ha demostrado que la Gal-1 se halla también incrementada a nivel de células T activadas³⁷. Esta proteína actuaría como un factor autócrino negativo, inhibiendo la proliferación de linfocitos T efectores, mediante el bloqueo del ciclo celular de linfocitos T en las fases S y G2/M³⁸. Finalmente, la habilidad de esta proteína de interaccionar con la isoforma CD45RO, fue confirmada por el hallazgo reciente de que la apoptosis mediada por Gal-1 requiere una enzima específica en la célula blanco con características de glicosiltransferasa encargada de transferir *N*-glicanos presentes en la molécula CD45R0³⁹. Recientemente, exploramos las señales intracelulares gatilladas por Gal-1 al interaccionar con su receptor específico, demostrando que esta proteína tiene capacidad de activar el factor de transcripción AP-1 y de modular la expresión de Bcl-2⁴⁰.

Por lo tanto y a partir de estos datos experimentales, es posible concluir que galectina-1 posiblemente participe activamente en:

- la generación de tolerancia central a través de la inducción de apoptosis de timocitos corticales a nivel del compartimiento tímico.
- el mantenimiento de tolerancia periférica a nivel de órganos linfáticos secundarios y tejidos periféricos⁴¹.
- la preservación de sitios inmunológicamente privilegiados tales como placenta, córnea, testículo y tumores.

Gal-1 y -3: un nuevo paradigma

Gal-3 reveló propiedades completamente antagónicas a las descriptas para Gal-1, respecto a la regulación de los mecanismos de muerte celular programada⁴². La transfección del cDNA de Gal-3, en líneas de células T, logró rescatar a las células de la apoptosis inducida por Fas L. La vinculación de esta proteína a un efecto protector de la apoptosis abre el camino hacia un nuevo paradigma. Gal-1 y Gal-3 representarían una familia de proteínas parecida a la de Bcl-2, en la cual los miembros emparentados, no obstante la gran similitud en su estructura primaria, presentan efectos antagónicos sobre los programas de muerte celular (ej: Bcl-2, Bcl-xL vs Bax, Bak) Asimismo, la interacción entre Gal-1 y Gal-3 permitiría establecer un balance entre proliferación, diferenciación y muerte celular. La existencia de este paradigma ha sido también demostrada en placenta, un sistema biológico en el cual co-existen ambas galectinas. En este sistema, Gal-3; cuya expresión disminuye marcadamente al final de la gestación; revela propiedades mitogénicas y anti-apoptóticas, mientras que Gal-1; cuya expresión se incrementa a lo largo del período gestacional; muestra un efecto pro-apoptótico sobre células T activadas^{17, 18}. Estos efectos biológicos fueron contrarrestados mutuamente en una mezcla natural de am-

bas proteínas. En síntesis, el equilibrio entre Gal-1 y Gal-3 podría extrapolarse a múltiples situaciones fisiológicas y patológicas, tal como analizaremos a continuación.

Galectinas en fenómenos de adhesión celular

La adhesión y migración de células inflamatorias a través de la membrana basal y la MEC es un proceso complejo, constituido por múltiples etapas y coordinado por un amplio espectro de glicoproteínas, enzimas, quimioquinas haptotácticas y citoquinas pro-inflamatorias⁴⁵. Las galectinas se secretan a este microambiente extracelular, en donde reconocen terminales oligosacáridos de poli-*N*-Acetil-lactosamina en componentes principales de la MEC, tales como laminina¹¹ y fibronectina⁴⁶. En función del reconocimiento específico de estas glicoproteínas extracelulares, las galectinas han sido postuladas como poderosos agentes moduladores de las interacciones entre células y la MEC¹¹.

Gal-1 reveló efectos antagónicos respecto a su capacidad de promover o inhibir la adhesión de células a la MEC, dependiendo de la estirpe celular involucrada, su estado de activación y su estadio de diferenciación. ¿Cuál será la clave para develar el enigma de estos efectos antagónicos? ¿Quizás la variabilidad de glicoconjugados específicos en diferentes tipos celulares; o el estado de activación celular? ¿O tal vez los procesos fisiopatológicos asociados a los fenómenos de adhesión y migración? Serán necesarias futuras investigaciones para responder a estos interrogantes.

A través de una colaboración con el laboratorio de Inmunología del Instituto Weizmann de Ciencias (Rehovot, Israel), hemos demostrado que Gal-1 recombinante (en concentraciones inferiores al umbral apoptótico crítico) ejerce un efecto inhibitorio específico sobre la adhesión de células T activadas a la MEC y a sus componentes individuales¹². Este efecto fue dependiente del DRC y selectivo de acuerdo al sustrato de adhesión (fibronectina > laminina > colágeno-IV). La investigación de los mecanismos involucrados en este efecto anti-adhesivo reveló una inhibición de la re-organización del citoesqueleto celular dependiente de actina y bloqueo de la secreción de citoquinas pro-inflamatorias en el contexto de la MEC. Esto nos permite postular un modelo hipotético de acción de Gal-1, en el cual se explica que ante una respuesta inmune exacerbada o episodios inflamatorios, la Gal-1 sería secretada por células T, macrófagos y células accesorias en concentraciones fisiológicas. Esta proteína se comportaría como un "puente" uniéndose con un extremo DRC glicoproteínas de la MEC (fibronectina y laminina) y con el otro su contrarreceptor en células T. Contribuiría a regular negativamente la adhesión de células T activadas a la MEC y membranas basales. Ahora bien, si este mecanismo no es suficiente para restituir la homeostasis inmunológica, las citoquinas

y otros agentes inflamatorios generarían un incremento en la producción de esta proteína, cuya persistencia en el medio extracelular desencadenaría inevitablemente la traducción de señales de muerte y apoptosis de células T activadas.

Participación de galectina-1 en procesos autoinmunes

La observación expuesta sobre el protagonismo de Gal-1 en la inducción de tolerancia central y en el mantenimiento de la tolerancia periférica⁴³, nos permitió postular la hipótesis de que la apoptosis inducida por Gal-1 podría ser de utilidad terapéutica en el tratamiento de enfermedades autoinmunes. Es decir, utilizar un mecanismo endógeno no inflamatorio para eliminar células T efectoras y prevenir la expansión de clones dominantes autoagresivos. En función de esta premisa decidimos investigar el potencial terapéutico e inmunosupresor de Gal-1 en la artritis inducida por colágeno-II (AIC), modelo experimental murino de artritis reumatoidea (AR), utilizando estrategias de terapia génica y proteica. Durante los últimos años se ha observado que en esta enfermedad autoinmune existe una desregulación de los mecanismos apoptóticos tanto de células sinoviales, como de células T y macrófagos⁴⁵. Como consecuencia de la interacción entre factores genéticos y ambientales, en estos individuos se genera una enfermedad inflamatoria caracterizada por hiperplasia de la membrana sinovial y activación de células T artritogénicas, que perpetúan la cascada de citoquinas pro-inflamatorias (TNF- α , IL-1 β e IL-6) y enzimas con características de metaloproteinasas, que concluyen finalmente en la destrucción de las articulaciones y erosión de cartilago y hueso⁴⁶. En base a las observaciones expuestas nuestra hipótesis de trabajo fue la siguiente: el restablecimiento del control de la apoptosis tanto en la sinovia artrítica como en células T efectoras, sería de suma utilidad para la intervención en esta patología autoinmune. Efectivamente, la Gal-1 reveló un claro efecto terapéutico sobre la patología artrítica al utilizar protocolos de terapia génica y proteica^{9,47}. Logró suprimir las manifestaciones clínicas, histopatológicas e inmunológicas de la artritis, utilizando durante 12 días, dosis diarias de Gal-1 recombinante. Además, se observó una reducción marcada de los niveles de anticuerpos anti-CII y una desviación hacia una respuesta del tipo Th2. Esta desviación se verificó a través del incremento en la producción de IL-5 y disminución de IFN- γ en sobrenadantes de cultivos de linfocitos T provenientes de ganglios linfáticos de ratones sometidos a terapia génica, del incremento en los niveles de IgG1 anti-colágeno II y la reducción en los niveles de IgG2a en suero de animales tratados. La investigación de los mecanismos moleculares involucrados en tal acción terapéutica reveló que

los linfocitos T de animales tratados con Gal-1 presentaron mayor susceptibilidad a la apoptosis inducida por activación^{9,47}. El efecto supresor de Gal-1 y la ausencia de toxicidad observada en el modelo de AIC, plantea la posibilidad de la aplicación terapéutica de la Gal-1 recombinante o su transferencia génica en el tratamiento de la AR⁴⁸; teniendo en cuenta los procedimientos clínicos y las pautas bioéticas de las prácticas de la medicina. Si nuestra hipótesis de trabajo se verifica, la expresión disminuida de esta proteína en la sinovia artrítica, tendría como consecuencia directa modificar el nivel de apoptosis, disminuyendo la sobrevida de células T artritogénicas. Este efecto terapéutico e inmuno-supresor sobre una enfermedad autoinmune ha sido recientemente confirmado por Santucci y col.¹⁰, quienes revelaron que Gal-1 ejerce un efecto inmunosupresor sobre la hepatitis autoinmune. Este efecto se llevó a cabo por depleción selectiva de linfocitos T autorreactivos por un mecanismo Fas-independiente.

Rol de Gal-1 en procesos inflamatorios

La posibilidad de que las galectinas puedan ser relevantes en el contexto de procesos inflamatorios fue sugerida por primera vez para Gal-3, la cual fue descrita como un antígeno de diferenciación (Mac-2) sobre la superficie de macrófagos peritoneales estimulados con tioglicolato, un potente agente inflamatorio⁴⁹. Esta observación es concordante con nuestros hallazgos respecto a la regulación diferencial de la expresión de Gal-1 en macrófagos residentes, inflamatorios y activados²⁵. En episodios agudos, se ha observado que la Gal-3 posee la capacidad de activar la enzima NADPH oxidasa y de esta manera estimular la generación de radicales superóxido e inducir el estallido respiratorio en neutrófilos⁵⁰. Recientemente, Karlsson y col.⁵¹ extendieron estos resultados concluyendo que la Gal-3 posee la capacidad de activar el estallido respiratorio sólo en neutrófilos provenientes de exudados inflamatorios que ya han experimentado procesos de extravasación y diapedesis. El rol de estas proteínas en la inflamación ha sido recientemente evaluado en ratones knock out para la Gal-3 frente a un desafío inflamatorio en un modelo de peritonitis aguda⁵². Después de cuatro días de la inyección de tioglicolato, los ratones que tenían anulada por recombinación homóloga, la expresión del gen de Gal-3 presentaron una marcada reducción en el número de leucocitos infiltrantes.

Recientemente hemos proporcionado las primeras evidencias acerca del rol de la Gal-1 en la inmunidad innata y en la respuesta inflamatoria aguda¹⁵. Esta proteína fue capaz de inhibir específicamente el edema generado por metabolitos del ácido araquidónico luego de la administración de la enzima fosfolipasa A₂ (PLA₂) *in vivo* (test de edema de la pata). Este efecto se repro-

dujo utilizando esquemas de pre-inyección y co-inyección de Gal-1 con el agente inflamatorio. Sin embargo, la inyección de esta proteína no generó cambios respecto al edema inducido por histamina, demostrando la selectividad de este efecto. El análisis histopatológico reveló una reducción significativa del infiltrado inflamatorio cuando la Gal-1 fue administrada previo a la inyección de PLA₂. Este fenómeno fue evidenciado por reducción en la extravasación de neutrófilos y disminución marcada de la degranulación de mastocitos. Este efecto anti-inflamatorio de Gal-1 fue confirmado a través de ensayos *in vitro*. En este sentido, esta proteína fue capaz de inhibir la movilización de ácido araquidónico y la producción de prostaglandina E₂ de macrófagos activados. Estos resultados sugieren que el efecto de Gal-1 se verifica a nivel de elementos solubles y celulares de la cascada inflamatoria.

Galectinas en fenómenos alérgicos

La Gal-3 fue descrita por primera vez como una proteína de unión a Ig E (εBP)². Esta observación sugirió que podría cumplir un rol importante en fenómenos alérgicos. Recientemente, Cortegano y col.⁵³ demostraron la capacidad de Gal-3 de inhibir en forma específica la transcripción del gen de IL-5 en eosinófilos y en líneas de células T específicas para alérgenos, promoviendo una desviación hacia una respuesta Th1. Se ha demostrado que la interacción de Gal-3 con el receptor para Ig G tipo II (FcγRII ó CD32) permite silenciar la actividad del promotor de IL-5, citoquina clave en el cambio de isotipo hacia Ig E⁵⁴. Este efecto sería atractivo en el tratamiento de procesos alérgicos que presentan un perfil Th2 predominante. Como comentamos en la sección anterior, Gal-1 reveló un efecto opuesto promoviendo una desviación de la respuesta inmunológica hacia un perfil Th2, aumentando los niveles de IL-5 y disminuyendo la concentración de IFN-γ e IL-2. Bajo estas circunstancias y en función de estas respuestas antagónicas, podríamos extender el paradigma existente entre Gal-1 y Gal-3 al balance Th1/ Th2.

Efecto de las galectinas frente a procesos infecciosos

En virtud de la capacidad de la Gal-1 para regular la respuesta inmune ante estímulos inflamatorios decidimos explorar su rol en infecciones. Seleccionamos para ello la enfermedad de Chagas, enfermedad endémica en Latinoamérica, que surge de la infección por el protozoo *Trypanosoma cruzi*. Luego de la infección experimental con este parásito, se observó un incremento en los niveles de Gal-1 en macrófagos y en células B infectadas. La expresión de esta proteína endógena en células B de animales infectados alcanzó sus niveles máxi-

mos cuando estas células fueron expuestas a la acción de estímulos específicos a través del receptor específico (BCR) y CD40. Por otro lado, diferentes parámetros correspondientes a la inmunopatogenia de la enfermedad se vieron modificados tras la exposición *in vitro* de estas células a la acción de Gal-1. Finalmente, encontramos un incremento de los niveles de autoanticuerpos tipo Ig E anti-Gal-1 en sueros de pacientes correspondientes al período agudo de la enfermedad de Chagas, mientras que los niveles de Ig G anti-Gal-1 aumentaron en el período crónico en forma directamente proporcional a la severidad del daño cardíaco durante la patología. La presencia de estos autoanticuerpos se correlacionó en forma directa con los niveles de expresión de esta proteína en músculo cardíaco de individuos infectados por este protozoo⁵⁵.

Influencia de las galectinas en la generación de metástasis

Observaciones realizadas durante estos últimos años sugieren que la expresión incrementada de galectinas 1, 2, 3, 4 y 7 a nivel de células tumorales tiene una relación directa con el grado de invasividad y metástasis de ciertos tumores, tales como astrocitoma, tiroides, carcinoma de cabeza y cuello y tumores de colon^{19, 56-59}. En este sentido es posible especular que la expresión de estas proteínas (particularmente Gal-1 y -3) a nivel de células tumorales podría controlar el umbral apoptótico de estas células, al igual que lo hacen los genes de la familia *bcl-2*. Por otro lado, recientes evidencias definen a un tumor como un sitio inmunoprivilegiado capaz de evadir la respuesta inmune⁶⁰. De este modo la expresión regulada de Gal-1 a nivel de células tumorales de acuerdo a su potencial metastásico, podría estar asociada a un mecanismo de evasión de la respuesta inmune. Finalmente, la hipótesis de Gal-3 como factor de crecimiento y proliferación fue sustentada por los estudios de Gaudin y col.²⁴, quienes demostraron un incremento significativo en la expresión de esta proteína, luego de la transfección de oncogenes y una marcada disminución cuando el gen introducido fue el correspondiente a la proteína oncosupresora p53. Actualmente, parte de nuestro proyecto de investigación se halla focalizado a dilucidar el rol de galectinas en procesos tumorales y de metástasis en diversos sistemas experimentales.

Perspectivas Futuras: aplicaciones diagnósticas y terapéuticas

La identificación de galectinas en vertebrados inferiores data su existencia a más de 800 millones de años, sugiriendo que estas proteínas podrían cumplir roles esenciales para la vida^{2, 61}. El esclarecimiento de las funciones que cumplen estas proteínas nos permitirá aplicar

estos conocimientos al diagnóstico, pronóstico y tratamiento de desórdenes autoinmunes, infecciones, reacciones alérgicas, procesos inflamatorios y fenómenos de diseminación tumoral, mediante la utilización de galectinas recombinantes, transferencia de genes con fines terapéuticos, utilización de antagonistas y anticuerpos neutralizantes.

Agradecimientos: La publicación del presente trabajo ha sido financiada por la FUNDACION SALES. Agradecemos a todos los investigadores que colaboraron y colaboran en forma permanente con nuestro proyecto y que nos permitieron compartir sus resultados en esta revisión. En especial a los doctores C M. Riera, Y. Chernajovsky, O. Lider, C. Sotomayor, S. Gea, A. Gruppi, C. Maldonado, C. Landa y S. Correa. Agradecemos el apoyo permanente de los doctores L Fainboim, J. Geffner y J. Mordoh a nuestro proyecto.

Bibliografía

- Rabinovich GA. Galectins: an evolutionarily conserved family of animal lectins with multifunctional properties; a trip from the gene to clinical therapy. *Cell Death Differ* 1999; 6: 711-22.
- Kasai K, Hirabayashi J. Galectins: a family of animal lectins that decipher glyco-codes. *J Biochem* 1996; 119: 1-8.
- Rabinovich GA, Riera CM, Landa CA, Sotomayor CE. Galectins; a key intersection between glycobiology and immunology. *Braz J Med Biol Res* 1999; 32: 383-93.
- Leffler H. Introduction to galectins. *Trends Glycosci Glycotechnol* 1997; 45: 9-19.
- Poirier F, Robertson EJ. Normal development of mice carrying a null mutation in the gene encoding the L-14 S-type lectin. *Development* 1993; 119: 1229-36.
- Colnot C, Fowles D, Ripoche MA, Bouchaert I, Poirier F. Embryonic implantation in galectin-1/ galectin-3 double mutant mice. *Dev Dyn* 1998; 211: 306-13.
- Levy G, Tarrab-Hazdai R, Teichberg VI. Prevention and therapy with electrolectin of experimental autoimmune myasthenia gravis in rabbits. *Eur J Immunol* 1983; 13: 500-7.
- Offner H, Celnik B, Bringman T, Casentini-Borocz D, Nedwin GE, Vandebark A. Recombinant human β -galactoside-binding lectin suppresses clinical and histological signs of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroimmunol* 1990; 28: 177-84.
- Rabinovich GA, Daly G, Dreja H, Tailor H, Riera CM, Hirabayashi J, Chernajovsky Y. Protein and gene delivery of galectin-1 suppress collagen-induced arthritis via T-cell apoptosis. *J Exp Med* 1999; 190: 385-98.
- Santucci EL, Fiorucci S, Cammilleri F, Servillo G, Federici B, Morelli A. Galectin-1 exerts immunomodulatory and protective effects on concanavalin-A-induced hepatitis in mice. *Hepatology* 2000; 31: 399-406.
- Cooper DNW. Galectin-1: secretion and modulation of cell interactions with laminin. *Trends Glycosci Glycotechnol* 1997; 9: 57-67.
- Rabinovich GA, Ariel A, Hershkovitz R, Hirabayashi J, Kasai K, Lider O. Specific inhibition of T-cell adhesion to extracellular matrix and pro-inflammatory cytokine secretion by human recombinant galectin-1. *Immunology* 1999; 91: 100-6.
- Adams L, Kenneth Scott G, Weinberg C. Biphasic modulation of cell growth by recombinant human galectin-1. *Biochem Biophys Acta* 1996; 1312: 137-44.
- Rabinovich GA, Modesti NM, Castagna LF, Landa CA, Riera CM, Sotomayor CE. Specific inhibition of lymphocyte proliferation and induction of apoptosis by CLL-I, a β -galactoside-binding lectin. *J Biochem* 1997; 122: 365-73.
- Rabinovich GA, Sotomayor CE, Riera CM, Bianco ID; Correa SG. Evidence of a role for galectin-1 in acute inflammation. *Eur J Immunol* 2000; 30: 1331-9.
- Poirier F, Timmons PM, Chan C-T, Guenet J-L, Rigby P. Expression of the L14 lectin during mouse embryogenesis suggests multiple roles during pre- and post-implantation development. *Development* 1992; 115: 143-55.
- Iglesias MM, Rabinovich GA, Ivanovic V, Sotomayor CE and Wolfenstein-Todel C. Galectin-1 from ovine placenta: amino acid sequence, physicochemical properties and implications in T-cell death. *Eur J Biochem* 1998; 252: 400-7.
- Iglesias MM, Rabinovich GA, Ambrosio AL, Castagna LF, Sotomayor CE and Wolfenstein-Todel CW. Purification of galectin-3 from ovine placenta: developmentally regulated expression and immunological relevance. *Glycobiology* 1998; 8: 59-65.
- Bresalier RS, Mazurek N, Sternberg LR, Byrd JC, Yunker CK, Makker PN, Raz A. Metastasis of human colon cancer is altered by modifying expression of the β -galactoside binding protein galectin-3. *Gastroenterology* 1998; 115: 287-96.
- Moisseva EP. Galectin-1 is involved in vascular smooth muscle cell proliferation. *Card Res* 2000; 45: 493-502.
- Yoshimasa I. Oxidized galectin-1 promotes axonal regeneration in peripheral nerves but does not possess lectin properties. *Eur J Biochem* 2000; 267: 2955-64.
- Dagher SF, Wang JL and Patterson RJ. Identification of galectin-3 as a factor in pre-mRNA splicing. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 1213-7.
- Gillenwater A, Xu XC, Estrov Y, Sacks PG, Lotan D, Lotan R. Modulation of galectin-1 content in human head and neck squamous carcinoma cells by sodium butyrate. *Int J Cancer* 1998; 75: 217-24.
- Gaudin JC, Arar C, Monsigny M, Legrand A. Modulation of the expression of the rabbit galectin-3 gene by p53 and c-Ha-ras proteins and PMA. *Glycobiology* 1997; 7: 1089-98.
- Rabinovich GA, Castagna LF, Landa CA, Riera CM; Sotomayor CE. Regulated expression of a 16-kd galectin-like protein in activated rat macrophages. *J Leuk Biol* 1996; 59: 363-70.
- Rabinovich GA, Iglesias MM, Modesti NM, Castagna LF, Wolfenstein-Todel C, Riera CM, Sotomayor CE. Activated rat macrophages produce a galectin-1-like protein that induces apoptosis of T cells: biochemical and functional characterization. *J Immunol* 1998; 160: 4831-40.
- Hsu DK, Hammes SR, Kuwabara I, Greene WC, Liu FT. Human T lymphotropic virus-I infection of human T lymphocytes induces expression of the beta-galactoside binding lectin, galectin-3. *J Biol Chem* 1996; 271: 16661-70.
- Baum LG, Pang M, Perillo NL, Wu T, Delegaene A, Uittenbogaart CH, Fukuda M, Seilhamer JJ. Human thymic epithelial cells express an endogenous lectin, galectin-1, which binds to core 2 O-glycans on thymocytes and T lymphoblastoid cells. *J Exp Med* 1995; 181: 877-87.
- Perillo NL, Uittenbogaart CH, Nguyen JT and Baum LG. Galectin-1, an endogenous lectin produced by thymic epithelial cells, induces apoptosis of human thymocytes. *J. Exp. Med.* 1997; 97: 1851-8.
- Vespa GN, Lewis LA, Kozak KR, Moran M, Nguyen JT, Baum LG, Miceli MC. Galectin-1 specifically modulates TCR signals to enhance TCR apoptosis but inhibits IL-2 production and proliferation. *J Immunol* 1999; 162: 799-806.
- Rabinovich GA, Sotomayor CE. Apoptosis y enfermedad.

- Alerg Immunol Clin* 1999; 16: 23-9.
32. Goldstone SD, Lavin MF. Isolation of a cDNA clone, encoding a human β -galactoside-binding protein overexpressed during glucocorticoid-induced cell death. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 178: 746-50.
 33. Maldonado CA, Castagna LF, Rabinovich GA, Landa CA Immunocytochemical study of the distribution of a 16-kDa galectin in the chicken retina. *Inv Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40: 2971-7.
 34. Wollina U, Schreiber G, Gornig M, Feldrappe S, Burchert M; Gabius HJ. Sertoli cell expression of galectin-1 and -3 and accessible binding sites in normal human testis and Sertoli cell only-syndrome. *Histol Histopathol* 1999; 14: 779-84.
 35. Perillo NL, Pace KE, Seilhamer JJ; Baum LG. Apoptosis of T-cells mediated by galectin-1. *Nature*, 1995; 378: 736-9.
 36. Lenardo MJ The molecular regulation of lymphocyte apoptosis. *Sem Immunol* 1997; 9: 1-5.
 37. Blaser C, Kaufmann M, Muller C, Zimmerman C, Wells V, Mallucci L, Pircher H. β -galactoside-binding protein secreted by activated T cells inhibits antigen-induced proliferation of T cells. *Eur J Immunol* 1998; 28: 2311-9.
 38. Allione A, Wells V, Forni G., Mallucci L, Novelli F. β -galactoside-binding protein (β -GBP) alters the cell cycle, up-regulates expression of the α - and β -chains of the IFN- γ receptor, and triggers IFN- γ -mediated apoptosis of activated human T lymphocytes. *J Immunol* 1998; 161: 2114-9.
 39. Galvan M, Tsuboi S, Fukuda M, Baum LG. Expression of a specific glycosyltransferase enzyme regulates death mediated by galectin-1. *J Biol Chem* 2000; 275: 16730-7.
 40. Rabinovich GA, Alonso CR, Sotomayor CE, Durand S, Bocco JL, Riera CM Molecular mechanisms implicated in galectin-1-induced apoptosis: activation of the AP-1 transcription factor and down-regulation of Bcl-2. *Cell Death Diff* 2000; 7: 747-53.
 41. Sotomayor CE, Rabinovich GA Galectin-1 induces central and peripheral cell death: implications in T cell physiopathology. *Dev Immunol* 2000; 7: 117-29.
 42. Yang RY, Hsu DK, Liu FT. Expression of galectin-3 modulates T cell growth and apoptosis. *Proc Natl Acad Sci. USA.* 1996; 93: 6737-42.
 43. Gilat D, Cahalon L, HersHKoviz R, Lider O. Interplay of T cells and cytokines in the context of enzymatically modified extracellular matrix. *Immunol Today* 1996; 17: 16-20.
 44. Ozeki Y, Matsui T, Yamamoto Y, Funahashi M, Hamako J, Titani K. Tissue fibronectin is an endogenous ligand for galectin-1. *Glycobiology* 1995; 5: 255-61.
 45. Vaishnav AK, McNally JD, Elkon KB. Apoptosis in the rheumatic diseases. *Arthr. and Rheum.* 1997; 40: 1917-27.
 46. Feldmann M, Brennan FM, Maini RV. Rheumatoid Arthritis. *Cell*, 1996; 85:307-310.
 47. Rabinovich GA, Dreja H, Daly G, Hirabayashi J, Riera CM, Chernajovsky Y, " Use of galectin-1 to treat inflammatory and autoimmune diseases" 1999; *Patente del Reino Unido* No. 9906396.8.
 48. Rabinovich GA, Pesoa SA .Terapia génica: una promesa próxima a volverse realidad. *Aler Immunol Clin* 1999; 16: 186-196.
 49. Sato S; Hughes RC. Regulation of secretion and surface expression of Mac-2, a galactoside-binding protein of macrophages. *J Biol Chem* 1994; 269: 4424-30.
 50. Yamaoka A, Kuwabara I, Frigeri LG, Liu FT. A human lectin, galectin-3 (epsilon-BP/Mac-2) stimulates superoxide production by neutrophils. *J Immunol* 1995; 154: 3479-87.
 51. Karlsson A, Follin P, Leffler H, Dahlgren C. Galectin-3 activates the NADPH oxidase in exudated but not peripheral blood neutrophils. *Blood* 1998; 91: 3430-8.
 52. Colnot C, Ripoche MA, Milon G, Montagutelli X, Crocker PR, Poirier F. Maintenance of granulocyte numbers during acute peritonitis is defective in galectin-3-null mutant mice. *Immunology* 1998; 94: 290-6.
 53. Cortegano I, del Pozo V, Cárdbaba B, de Andres B, Gallardo S, del Amo A, Arrieta I, Jurado A, Palomino P, Liu F-T, Lahoz C. Galectin-3 down-regulates IL-5 gene expression on different cell types. *J Immunol* 1998; 161: 385-9.
 54. Cortegano I, Pozo V, Cardaba B, Arrieta I, Gallardo S, Rojo M, Takai T, Verbeek S, Palomino P, Liu FT, Lahoz C. Interaction between galectin-3 and Fc γ RIII induces down-regulation of IL-5 gene: implication of the promoter sequence 5REIII. *Glycobiology* 2000; 10: 237-42.
 55. Giordanengo L, Gea S, Barbieri G, Rabinovich GA Anti-galectin-1 autoantibodies in human infection: Differential expression of this β -galactoside-binding protein in cardiac Chagas' disease. *Clin Exp Immunol* 2000; (en prensa).
 56. Raz A, Lotan R Endogenous galactoside-binding lectins: a new class of functional tumor cell surface molecules related to metastasis. *Cancer Metast Rev* 1987; 6: 433-52.
 57. Bresalier RS, Yan P-S, Byrd JC, Lotan R, Lotan R. Expression of the endogenous galactose-binding protein galectin-3 correlates with malignant potential of tumors in the central nervous system. *Cancer* 1997; 80: 776-87.
 58. Xu XC, el-Naggar AK, Lotan R. Differential expression of galectin-1 and galectin-3 in thyroid tumors. Potential diagnostic implications. *Am J Pathol* 1995; 147: 815-22.
 59. Magnaldo T, Fowles D, Darmon M. Galectin-7: a marker of all stratified epithelia. *Differentiation* 1998; 63: 159-68.
 60. O'Connell J, Bennett MW, O'Sullivan GC, Collins JK, Shanahan F. The Fas counterattack: cancer as a site of immune privilege. *Immunol Today* 1999; 20: 46-52.
 61. Hughes RC. Mac-2: a versatile galactose-binding protein of mammalian tissues. *Glycobiology* 1994; 4: 5-12.

La vie n'est de soi ni bien ni mal: c'est la place du bien et du mal selon que vous la leur faites.

La vida en sí no es ni bien ni mal: será lugar del bien o del mal según como lo haga.

Montaigne (1533-1592)

Essais III (1580)