



## INFLAMACION Y MECANISMOS EFECTORES DE LA RESPUESTA INMUNE INNATA

### 1. INFLAMACION

La respuesta inflamatoria es fundamental para determinar cómo y dónde se debe concentrar la respuesta inmune para eliminar al patógeno. Hay 4 funciones determinantes que están asociadas con la respuesta inflamatoria: la primera de ellas es evitar la diseminación del patógeno. Esto se logra a través de la activación de las cascadas de coagulación y fibrinolíticas, así como la deposición plaquetaria. Esta es una función muy importante, porque ayuda a concentrar al patógeno únicamente en el tejido afectado. La segunda función es llevar a los elementos efectoros de la respuesta inmune al tejido afectado. Estos mecanismos efectoros viajan por la circulación sanguínea y salen de allí a través de la microvasculatura que irriga el tejido agredido. Esta función permite que los distintos componentes celulares y plasmáticos que circulan por el torrente sanguíneo puedan llegar a donde está el patógeno para buscar su destrucción o neutralización. La tercera función es muy importante, y es la regulación inmune. Por regulación inmune, hoy en día se conoce que son los mecanismos que evitan el daño ocasionado por la respuesta inflamatoria contrarrestando en parte los mecanismos efectoros del sistema inmune, por lo tanto, la regulación inmune apaga la respuesta inflamatoria. Debe haber un fino y apropiado balance entre la respuesta efectora y la regulación inmune. Una vez el patógeno empieza a ser eliminado por la apropiada respuesta efectora, la disminución o ausencia del antígeno empieza a ser acompañada por la aparición de mecanismos controlados por algunas subpoblaciones de LT o de macrófagos que a través de sus señales empiezan a apagar la respuesta inmune. La cuarta y última función asociada con la respuesta inflamatoria es la cicatrización. La respuesta inflamatoria usualmente se acompaña de daño tisular; cuando las inflamaciones son crónicas, el daño puede llevar a la pérdida de la función del tejido. En una respuesta inflamatoria aguda, una vez el patógeno es eliminado o neutralizado, algunos macrófagos como los M2 empiezan a generar un perfil de citocinas que por un lado ayudan a la regulación inmune, pero por otro lado promueven mecanismos como la proliferación de fibroblastos. Estos fibroblastos ayudan a la reconstrucción de la arquitectura tisular, por ejemplo a través de la producción de componentes de la matriz extracelular (Murphy, 2012).



Existen distintos inductores que pueden mediar el inicio de una respuesta inflamatoria. Uno de ellos es la presencia de agentes infecciosos. En ese sentido, los PRRs (Receptores de Reconocimiento de PAMPs) presentes en células del sistema inmune innato residente de tejidos como los macrófagos y las células dendríticas sirven de sensores de la presencia de patógenos. Estos PRRs ante la identificación de estas estructuras propias de los microorganismos producen algunas citocinas como la IL-1, TNF-alfa, e IL-8 entre otras. Estas citocinas tendrán un impacto importante en funciones pro-inflamatorias como el reclutamiento de células leucocitarias como los neutrófilos en el tejido afectado. Otros inductores son los que se producen cuando hay por ejemplo necrosis tisular. Se ha identificado que se pueden producir DAMPs como el ATP, HMGB1, HIF (factor inducible por hipoxia) entre otros, que al interactuar con ciertos receptores tienen también la capacidad de modular la respuesta inflamatoria. Adicionalmente, se ha descrito que la permanencia de inmunocomplejos no depurados se pueden constituir en estímulos proinflamatorios, asociándose a las respuestas que se conocen como de hipersensibilidad y las cuales pueden estar involucradas en procesos autoinmunitarios, alergias y respuestas a aloinjertos (Kumar et al, 2013).

Por medio de estos inductores se producen en las células diferentes tipos de mediadores inflamatorios los cuales van a desempeñar distintas funciones. Tenemos por ejemplo que a partir de los lípidos de membranas plasmáticas de células como macrófagos y neutrófilos se produce la síntesis de moléculas como las prostaglandinas y los tromboxanos, las cuales a su vez favorecen la vasodilatación, incremento de la permeabilidad vascular y la agregación plaquetaria entre otras. A través del daño endotelial se producen compuestos derivados de la activación del factor Hageman (factor XII de coagulación) como la bradicinina, fibrinopéptidos y plasmina que median respuestas como la vasodilatación, el incremento en la permeabilidad vascular y la activación del complemento. Existen otros compuestos como la histamina que pueden regular el calibre vascular actuando por medio de receptores de histamina sobre el músculo liso y el endotelio. Otros mediadores inflamatorios que se pueden producir a partir de las células que han interactuado con los PAMPs son las citocinas pro-inflamatorias y las quimiocinas. En conjunto estas moléculas controlan el tráfico celular hacia los tejidos inflamados. Citocinas como la IL-1 y el TNF- $\alpha$  pueden ser producidas por macrófagos o células dendríticas y tienen efectos locales como la inducción a nivel endotelial de moléculas de adherencia (selectinas E y P). Mientras que las quimiocinas como la IL-8 favorecen la activación leucocitaria y mediando de esta forma la adherencia firme al endotelio vascular previo a la



diapédesis así como la posterior movilización de estas células a los tejidos inflamados (Kumar et al, 2013).

Los mediadores inflamatorios inicialmente favorecen una vasoconstricción transitoria seguida de una vasodilatación en el lecho vascular circundante al tejido afectado, para favorecer un aumento en la irrigación sanguínea en el área comprometida. En seguida, el incremento en la permeabilidad vascular va a ser acompañado por una salida de fluido plasmático que ayuda a la conformación de un edema rico en proteínas plasmáticas. De esta forma, proteínas plasmáticas con función inmunológica efectora como las proteínas del complemento podrán llegar al sitio donde se encuentran los patógenos. Por otro lado, la salida de fluido plasmático junto con la vasodilatación favorece un enlentecimiento del fluido sanguíneo haciendo que las células sanguíneas entren en una estasis o detención celular. Debido a las cargas de las membranas celulares, los glóbulos rojos tienden a agregarse entre sí, forzando a los leucocitos a posicionarse hacia la periferia del paquete central de glóbulos rojos: este proceso se conoce como marginación leucocitaria. Durante la marginación leucocitaria los leucocitos eventualmente interactúan con el endotelio vascular. Este endotelio vascular producto de la activación ocasionado por citocinas como TNF- $\alpha$  e IL-1, expresa selectinas E y P, las cuales interactúan débilmente (pegajosamente) con ciertas glicoproteínas (adhesinas) leucocitarias. Esta interacción débil, hace que el leucocito se mueva muy lentamente sobre la superficie endotelial, en una fase conocida como el rodamiento leucocitario. Durante este rodamiento leucocitario los leucocitos interactúan con quimiocinas (producto del tejido agredido) inmovilizadas sobre moléculas como los proteoglicanos. A través de esta interacción quimiocina-receptor de quimiocina sobre el leucocito, se induce un proceso de activación leucocitaria; parte de esta activación, involucra cambios conformacionales en moléculas de adherencia leucocitaria de la familia de las integrinas. De esta forma, las integrinas de un leucocito activado tienen la capacidad de unirse fuertemente con miembros de la familia de las superinmunoglobulinas como las moléculas ICAM-1 e ICAM-2 expuestas sobre la superficie del endotelio activado. Los leucocitos firmemente adheridos a través de interacciones homotípicas entre moléculas CD31 expuestas en las superficies del leucocito y de la célula endotelial, hacen la extravasación o diapédesis leucocitaria. Una vez las células leucocitarias se encuentran en la matriz extracelular del tejido afectado, inician un movimiento ameboideo dirigido a través de las interacciones con las quimiocinas. Acá, las células siguiendo un rastro de mayor concentración de quimiocinas, y a través del reordenamientos del citoesqueleto se mueven en



busca del sitio donde se encuentran los agentes infecciosos (Kumar et al, 2013, Kindt et al, 2007).

Inicialmente en la respuesta inflamatoria se forma un edema rico en proteínas hacia las primeras 12 horas de inducción; hacia las 24 horas ya hay un infiltrado importante de neutrófilos, el cual es seguido hacia las 48 horas de un incremento en macrófagos. De esta forma, se llevan los elementos efectores de la inmunidad innata: principalmente las proteínas del complemento del plasma sanguíneo y los neutrófilos. Con el paso de los días gradualmente empiezan llegar a células linfoides efectores, las cuales a través de una respuesta más consistente pueden lograr eliminar al patógeno y resolver el problema inmunológico (Kumar et al, 2013).

## 2. FAGOCITOSIS

En el sistema inmune contamos con distintas células que tienen actividades fagocíticas. Las neutrófilos son las células fagocíticas por excelencia, y son consideradas la primera línea de defensa. Los neutrófilos son fundamentales en la eliminación principalmente de microorganismos extracelulares como algunas bacterias y levaduras. Por otro lado, tenemos los macrófagos, los cuales también pueden ejercer su actividad fagocítica sobre estas formas libres de patógenos, pero cuya capacidad de dar muerte a los microorganismos fagocitados depende de su estado de activación; es por esto, que frente a algunas bacterias intracelulares facultativas puede servir de célula hospedera. Un aspecto sobresaliente de los macrófagos es que ellos son muy importantes en las fases de resolución de la respuesta inflamatoria mediando por un lado funciones como la depuración de células apoptóticas y de complejos inmunes, y por otro lado induciendo a través de sus citocinas mecanismos asociados con la reparación. La labor de los macrófagos de servir de “barrenderos” de células que han entrado en procesos de apoptosis, impide la generación de necrosis secundarias subsecuentes a la apoptosis, que podrían ayudar a potenciar las respuesta inflamatorias (Kumar et al, 2013). Por último tenemos las células dendríticas. Estas células al igual que los neutrófilos y los macrófagos, son consideradas fagocitos profesionales, pero a diferencia de ellos, han desarrollado procesos para “preservar” parte del material que han fagocitado, favoreciendo el mecanismo de procesamiento y presentación antigénica que se verá en el siguiente tema. Esto está relacionado con la función primordial de las células dendríticas que es la de servir de



células presentadoras de antígeno fundamentales para la activación de linfocitos T (Savina and Amigorena, 2007).

La fagocitosis inicia con el reconocimiento que hace la célula fagocítica del material infeccioso. Aquí participan receptores fagocíticos como las lectinas tipo C o las moléculas CD36 sobre los macrófagos, o receptores de opsoninas como los receptores del complemento o de la porción de las inmunoglobulinas IgG (CD16). A través de estos últimos receptores se pueden identificar microorganismos “opsonizados” (marcados) por fragmentos del complemento (C3b, C4b) o por subisotipos de anticuerpos IgG. Una vez se da el reconocimiento, se forman pseudópodos envolventes hasta lograr la internalización del microorganismo o partícula ingerida en un endosoma primario. Estos endosomas comienzan una ruta de maduración donde los endosomas van sufriendo un proceso de acidificación gradual. Inicialmente, el pH es neutro o ligeramente básico; un pH ideal para la acción de péptidos antimicrobianos catiónicos como las defensinas. Las defensinas se insertan sobre la superficie de los microorganismos debilitándola. Una vez los lisosomas se fusionan con endosomas tardíos donde el pH es ácido, gracias al bombeo de H<sup>+</sup> hacia el interior, las enzimas hidrolasas ácidas provenientes del lisosoma se activan, y empiezan a actuar sobre algunos blancos proteicos de los microorganismos fagocitados. Un mecanismo muy eficiente en lograr dar muerte intracelular a los microorganismos fagocitados es la explosión respiratoria: una serie de reacciones dependientes de oxígeno. Durante la activación de los neutrófilos por las quimiocinas (ej. IL-8), o algunos fragmentos derivados del complemento (C3a y C3b), se ensamblan en la membrana de los endosomas. La NADPH oxidasa o NADPH fagocítica es una enzima compuesta por 7 subunidades distintas; esta enzima oxida el NADPH a NADP<sup>+</sup> produciendo la formación de aniones superóxido a partir de una molécula de oxígeno. En seguida, el anión superóxido es convertido a peróxido de hidrogeno por la superóxido dismutasa, y finalmente el peróxido de hidrogeno en presencia de la mieloperoxidasa en presencia de compuestos halogenados permite la formación de ácido hipocloroso. Todos estos compuestos obtenidos conforman los radicales libres de oxígeno (ROS) altamente tóxicos para el microorganismo. De una forma similar se producen reactivos intermediarios del nitrógeno (Kindt et al 2007, Kumar et al, 2013).

Recientemente, se ha descrito un mecanismo asociado con la muerte de los neutrófilos que se llaman los NETs (Trampas extracelulares de neutrófilos). En algunos modelos se ha encontrado que durante la activación de los neutrófilos se puede inducir en estas células una muerte celular conocida como netosis. Durante esta muerte celular, los neutrófilos desensamblan la cromatina liberándola al exterior asociada con distintos componentes celulares con actividades



potencialmente antimicrobianas. Esta cromatina desenrollada sirve para capturar a los microorganismos y ponerlos en contacto con las distintas actividades antimicrobianas y de esta forma mediar su muerte, en este caso extracelular (Brinkmann et al, 2004).

### 3. PROTEINAS DEL COMPLEMENTO

Las proteínas del complemento son una serie de unas 30 proteínas plasmáticas que hacen parte del principal mecanismo efector de la rama humoral. Estas proteínas fueron denominadas así, porque se encontró hacia 1890 por Jules Bordet que ellas “complementaban” la función lítica de los anticuerpos. Hoy en día se sabe que existen 3 vías distintas de activación del complemento: la vía alterna, la vía de las lectinas de unión a manosa, que hacen parte de la inmunidad innata, y la vía de activación clásica que hace parte de la inmunidad adquirida. Para la vía clásica de activación del complemento se requiere que existan anticuerpos dirigidos contra algún antígeno de la superficie de los microorganismos. Los isotipos y subisotipos de anticuerpos que pueden favorecer la fijación del complemento son la IgM, y las IgG1, IgG2 e IgG3. La iniciación de la activación del complemento comienza con un componente del complemento que se denomina C1; C1 está conformado por la proteína más grande del complemento C1q (unas 18 cadenas polipeptídicas entrelazadas entre sí) asociadas con las serina proteasas C1s y C1r. Existen 2 cadenas de C1s y 2 cadenas de C1r por cada C1q. Para que la C1q se fije sobre los anticuerpos requiere unirse de forma simultánea a dos dominios constantes. Cuando uno de estos anticuerpos se une al antígeno, el cambio conformacional generado en el anticuerpo expone un sitio de fijación de C1q. Por lo tanto, para que C1q se fije sobre moléculas IgG, requiere que por lo menos dos monómeros de IgG estén lo suficientemente cerca para que el componente C1q se pueda fijar a través de sus cabezas globulares. La IgM es un pentámero que libre y en circulación tiene una estructura planar, cuando se une al antígeno adquiere una forma de grapa (o como una “tarántula”) exponiendo varios sitios de fijación de C1q; esto hace que las moléculas de IgM sean mucho más eficientes que las de IgG en la fijación del complemento. O sea, se requieren mucho menos moléculas de IgM que de IgG para fijar el complemento. Una vez el complejo C1q-C1r<sub>2</sub>-C1s<sub>2</sub> se une al anticuerpo, moléculas de la proteína del complemento C4 son atraídas para que sean clivadas por las serina proteasas C1r/C1s produciendo 2 fragmentos distintos; un fragmento pequeño denominado C4a que es liberado y un fragmento grande que se deposita sobre la superficie microbiana denominado C4b. C4a por un lado actúa como una molécula que promueve la



activación leucocitaria y la inflamación (denominada anafilotoxina). Por su parte, C4b puede actuar como opsonina favoreciendo la fagocitosis por neutrófilos o macrófagos a través de receptores de proteínas del complemento. Por otro lado parte del C4b generado, sirve de punto de anclaje del C2 del complemento para que sea escendido por las serina proteasas C1r/C1s produciendo dos fragmentos: el fragmento pequeño C2b es liberado y se desconoce su función, mientras que el fragmento grande C2a se une a parte del C4b depositado sobre la superficie microbiana. El complejo formado por C4aC2a tiene funciones proteolíticas asociadas, y tienen como blanco de acción al componente C3 del complemento (convertasa de C3). La proteína C3 del complemento es el componente más abundante en circulación plasmática y además se incrementa su síntesis durante un proceso infeccioso agudo. Debido a su abundancia, en este punto de la activación del complemento, se da un punto de amplificación de la cascada de activación del complemento. La proteína C3 al ser clivada por el complejo enzimático C4aC2a forma dos componentes distintos: un fragmento pequeño C3a que será liberado y tendrá funciones de anafilotoxina, y un componente grande C3b que se deposita sobre la superficie del microorganismo favoreciendo su fagocitosis al igual que con el C4b, y por otra parte se asocia con C4aC2a conformando el complejo C4aC2aC3b. Este nuevo complejo formado tiene actividad proteolítica sobre C5 (convertasa de C5) favoreciendo la formación de un fragmento pequeño liberado C5a (anafilotoxina) y un fragmento grande C5b que se deposita sobre la superficie del patógeno. El fragmento C5b depositado sobre la superficie del microorganismo favorece la asociación con los componentes C6 y C7 formando el complejo C5bC6C7. Hasta este punto las reacciones son muy hidrofílicas y se favorecen en superficies acuosas. A partir de acá comienzan una serie de reacciones anfílicas, donde participan los componentes C8 y C9. Inicialmente C8 a través de una porción hidrofóbica comienza a insertarse en la superficie del microorganismo, y favorece también la inserción varios monómeros de C9. Estos distintos monómeros de C9 que se insertan (entre 13 y 18) favorecen la conformación de unos poros denominados complejos de ataque a la membrana (CAM, C5bC6C7C8C9). Estos CAM desestabilizan la superficie del microorganismo permitiendo la entrada de una gran cantidad de moléculas de agua, hasta que la célula explota. Este mecanismo de muerte es denominado lisis osmótica por fijación del complemento. Los complejos C5bC6C7C8 pueden ser suficientes para producir la lisis de los glóbulos rojos. Por otro lado, los complejos C5bC6C7 se pueden formar una vez la activación de las proteínas del complemento se activan sobre un complejo inmune (anticuerpos asociados con antígenos libres). Esta activación sobre complejos inmunes puede ser importante como parte de la depuración de estos complejos inmunes que se forman durante las reacciones inflamatorias.



Para la depuración, los glóbulos rojos que expresan el receptor del complemento CR1 interactúan con el fragmento C3b del complemento, capturando el inmunocomplejo hacia su sitio de depuración final por los macrófagos residentes en hígado y bazo (Kindt et al, 2007; Kumar et al, 2013).

#### BIBLIOGRAFIA

Brinkmann V, Reichard U, Gossmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, Weinrauch Y, Zychilinsky A. 2004. Neutrophil extracellular traps kills bacteria. *Science* 303: 1532-5.

Kindt TJ, Goldsby RA, Osborne BA. 2007. *Inmunología de Kuby*. McGraw Hill. Capítulo 3 y 7.

Kumar, Abbas, Fausto, Aster. 2013. *Patología estructural y funcional: Robins y Contra*. 8 edición. Elsevier. Capítulo 2.

Murphy K. 2012. *Janeway's immunobiology 8 edition*. Garland Science. Capítulo 2 y 3.

Savina A, Amigorena S. 2007. Phagocytosis and antigen presentation in dendritic cells. *Immunol Rev* 219:143-56.