

## CAPÍTULO 2

# Inflamación, Proteínas de Fase aguda, Endocitosis

*Magdalena Rambeaud y Andrea Dellarupe*

Cuando un animal sufre una lesión en alguna de las barreras anatómicas, se ponen en marcha todos los mecanismos de la inmunidad Innata para tratar de frenar ese daño y contener esa posible infección.

Como ya hemos mencionado, la inmunidad innata es de acción rápida, por lo que ya en las primeras horas de haberse producido la injuria o lesión se ponen en marcha sus distintos mecanismos efectores para intentar frenar ese proceso infeccioso. En este período, los microorganismos serán reconocidos por las células de la inmunidad innata a través de los RRP, que contactarán con PAMPs presentes en los microorganismos. A través de la interacción de los RRP con los PAMP se pondrán en marcha diferentes mecanismos de la inmunidad innata, entre ellos la inflamación, con el reclutamiento y activación de células efectoras de la que intentarán frenar esa infección.

## Inflamación

La inflamación es un proceso complejo y dinámico que ocurre en el tejido conjuntivo vascularizado; involucra a factores humorales, celulares y tisulares y tiene como finalidad el acúmulo de fluidos y células en el área injuriada, que intentarán por distintos mecanismos frenar dicho daño. Puede clasificarse en aguda o crónica; desarrollaremos en este capítulo la inflamación aguda.

La inflamación tiene tres roles esenciales: 1.- dirigir moléculas y células efectoras hacia el sitio de la infección; 2.- proveer de una barrera física en forma de coagulación microvascular para prevenir la diseminación difusión del agente infeccioso; 3.- reparar el tejido injuriado favoreciendo el crecimiento de los fibroblastos y síntesis de colágeno, entre otros.

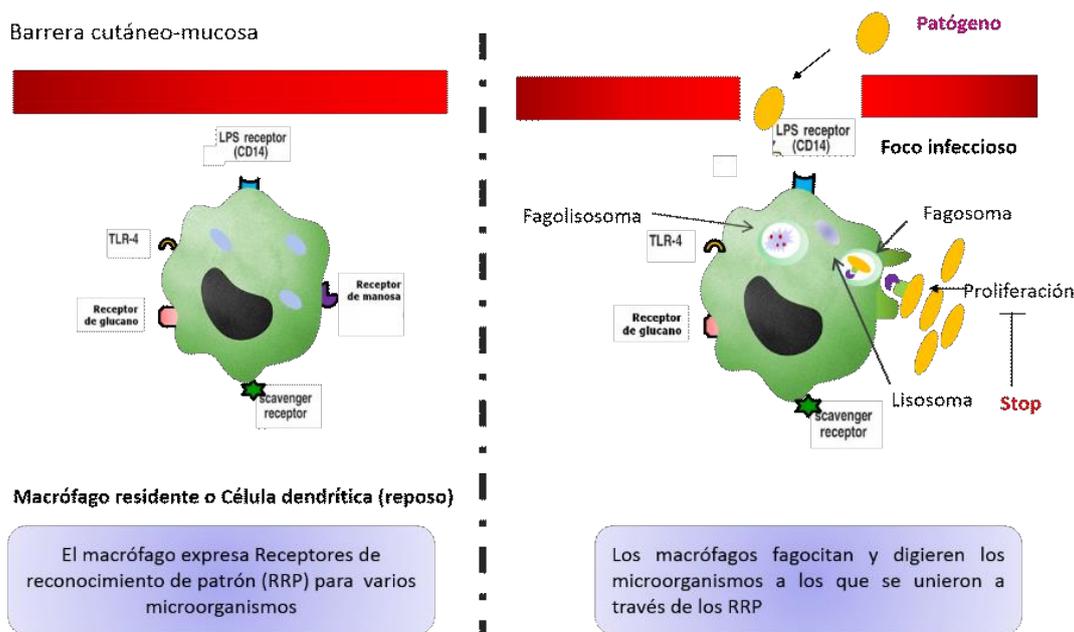
La dinámica de la inflamación aguda se inicia por la presencia de un daño tisular que puede tener diferentes orígenes (lesiones, infecciones, etc.), el cual inducirá a que se secreten moléculas que tendrán acción directa sobre los vasos sanguíneos. Algunas de ellas tienen efecto vasodilatador, aumentando el calibre de los vasos, y otras aumentaran la permeabilidad de los mismos, es decir que permitirán el pasaje de células y otras moléculas hacia el espacio

extravascular, lo cual dará como resultado los signos cardinales de la inflamación: calor, rubor, tumor, dolor y pérdida de la función.

En el tejido conectivo de la barrera cutáneo mucosa, se encuentran *macrófagos residentes* y *células dendríticas inmaduras*, también llamadas células de Langerhans. Cuando ocurre una solución de continuidad en dicha barrera, e ingresa algún microorganismo, éste contactará a través de sus PAMP con los RRP presentes en estas células, las cuales por un lado intentarán fagocitar a los mismos a través de los RRP fagocíticos, y por otro lado, como consecuencia del contacto de los PAMP con los RRP de señal, se activará el FNκB y se comenzarán a secretar citocinas proinflamatorias y quimiocinas (Figura 2.1). Muchas veces, estas células residentes, por sí solas pueden detener la proliferación de los microorganismos, sin que haya manifestaciones visibles de enfermedad. Sin embargo, otras veces las citocinas proinflamatorias serán las encargadas de poner en marcha varios mecanismos de la inmunidad innata, entre ellos la inflamación.

**Figura 2.1**

*Interacción de los RRP de señal con los PAMP*



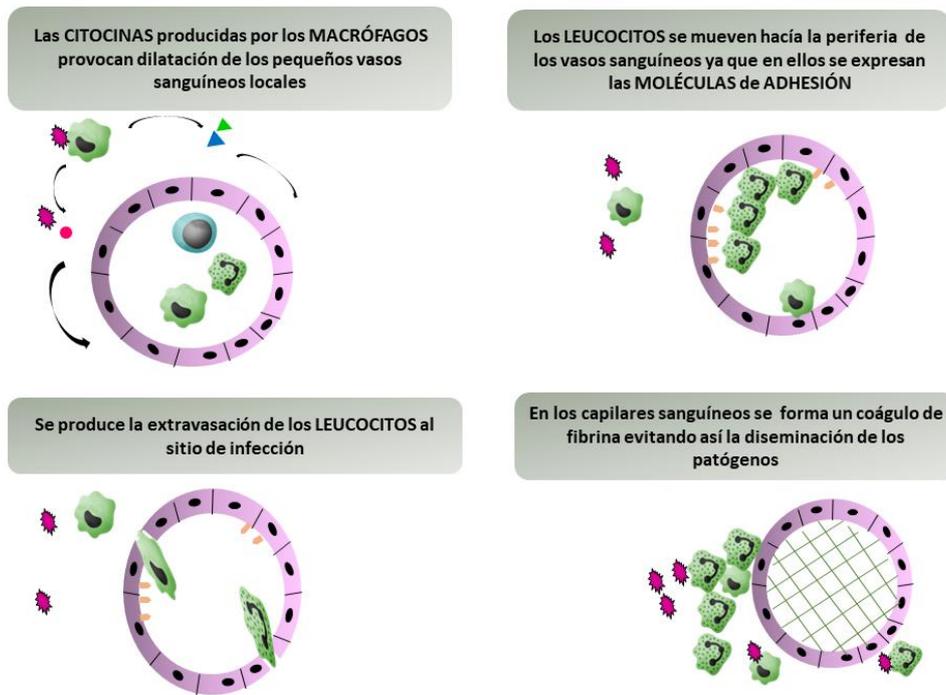
*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

Las citocinas secretadas por los macrófagos y células dendríticas, junto con sustancias vasoactivas como la histamina secretada por los mastocitos producen dos grandes cambios a nivel de los vasos sanguíneos locales. Por un lado, la *dilatación* de los mismos, lo que generará un cambio en el flujo sanguíneo, pasando de ser axial a turbulento y por lo tanto más lento, y por otro lado, la *activación del endotelio*, que se refiere a la expresión de *moléculas de adhesión* en el mismo. Estos dos cambios les permitirán a los leucocitos desplazarse hacia la periferia del vaso sanguíneo, y adherirse a las células endoteliales a través de las moléculas de adhesión, para que finalmente, con el aumento de permeabilidad, se produzca la su extravasación hacia el

sitio de infección. Los neutrófilos serán los primeros en migrar, seguidos por los monocitos y linfocitos. En los capilares sanguíneos, además, se formará un coágulo de fibrina que evitará la diseminación de los patógenos (Figura 2.2).

### Figura 2.2

*Cambios vasculares causados por las citocinas pro-inflamatorias*



*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

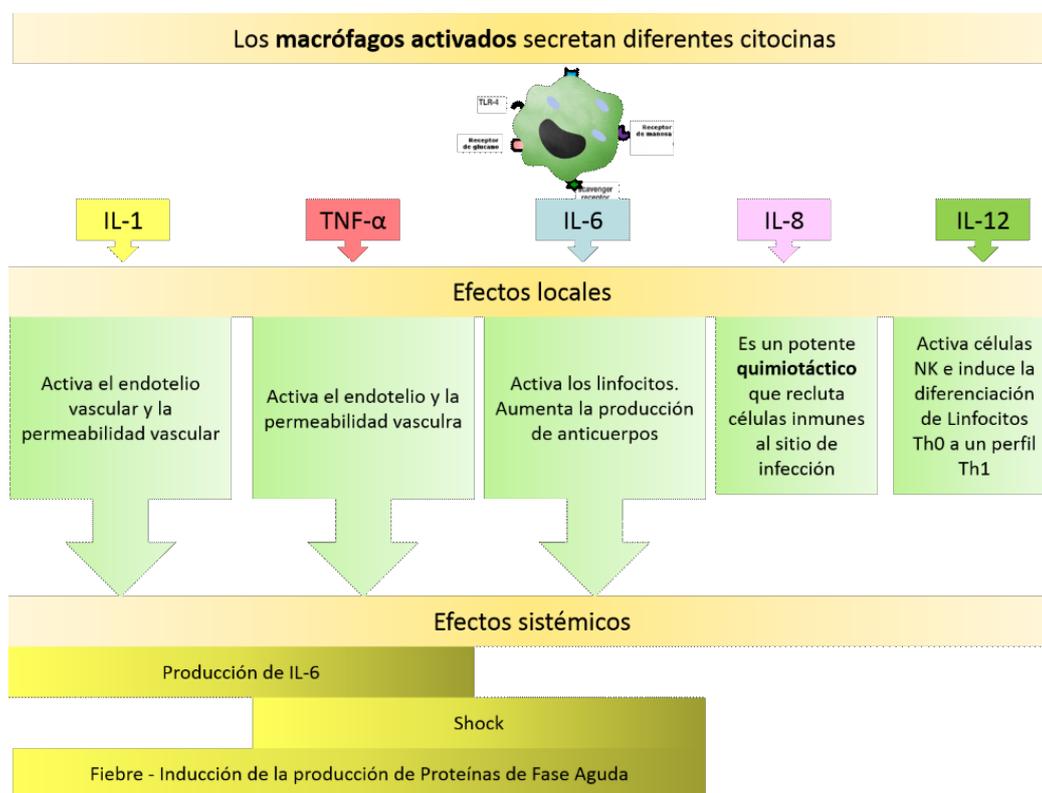
## Citocinas pro-inflamatorias

Los macrófagos residentes y las células dendríticas inmaduras son los encargados de secretar las diferentes citocinas que iniciarán y participarán en el proceso inflamatorio. Algunas de las principales citocinas producidas son la *Interleuquina 1* (IL-1), el *Factor de Necrosis Tumoral  $\alpha$*  (FNT- $\alpha$ ), la *IL-6*, la *IL-8* y la *IL-12*. Estas citocinas tienen efectos locales y algunas de ellas también sistémicos, es decir alejados del sitio de injuria. La IL-1 a nivel local tiene la función de activar el endotelio vascular aumentando así el acceso de células efectora al sitio de injuria; y a nivel sistémico produce fiebre e induce la síntesis de IL-6. Por su parte el FNT- $\alpha$  también activa el endotelio vascular y aumenta la permeabilidad vascular a nivel local lo que permitirá una mayor entrada de IgG, moléculas del sistema del complemento y células hacia los tejidos injuriados. Todo esto ayudará a que haya un mayor drenaje linfático hacia los nódulos linfáticos regionales, lo cual es muy importante para poner en marcha la respuesta inmune adaptativa. A

nivel sistémico, será responsable de cuadros febriles y puede llegar a generar cuadros de shock. La IL-6 es responsable de activar a los linfocitos, de aumentar la producción de anticuerpos, también induce fiebre y es una de las principales citocinas responsables de inducir a nivel hepático la producción de *proteínas de fase aguda* (PFA). La IL-8 tiene un potente efecto quimiotáctico por lo que será una de las responsables de reclutar neutrófilos y macrófagos principalmente al sitio de infección, y por último la IL-12 activa a las células NK e induce la diferenciación de Linfocitos T helper a un perfil Th1 en los órganos linfáticos secundarios. A su vez las citocinas IL-1, IL-6 y FNT- $\alpha$  tienen efectos directos sobre ciertos órganos: en el hígado inducen la secreción de las PFA; en la médula ósea inducen la movilización de neutrófilos y por consiguiente favorecen la fagocitosis; a nivel del hipotálamo inducen un aumento de temperatura corporal lo que provoca una disminución de la replicación de patógenos, y un aumento del procesamiento de antígenos y de la respuesta inmune adaptativa. Sobre la grasa y el músculo promueven la movilización de proteínas y la obtención de energía para el incremento de la temperatura. El FNT- $\alpha$ , además, tiene una importante función sobre las células dendríticas ya que estimula la maduración y migración de las mismas hacia los ganglios linfáticos, induciendo así el inicio de la respuesta inmune adaptativa (Figura 2.3).

**Figura 2.3**

*Citocinas pro-inflamatorias: principales efectos locales y sistémicos*



*Nota.* Las figuras de las células corresponden a Bret Syfert/Wellcome Images

Como consecuencia de la secreción de *citocinas pro-inflamatorias*, se producirán también cambios metabólicos que se ven reflejados en una pérdida de masa muscular y aumento de la lipólisis, cambios neuroendócrinos como fiebre y anorexia, aumento del cortisol, y en un análisis de sangre se evidenciará anemia, leucocitosis, y trombocitosis. Otro parámetro que podría medirse en sangre, y que nos indicaría la presencia de un proceso infeccioso y/o inflamatorio es la producción de PFA.

## Proteínas de Fase Aguda

Las PFA son indicadores tempranos de infección / inflamación, debido a que a las 8 horas de haber comenzado este proceso ya son detectables en sangre, y en general su mayor producción es en las primeras 72 horas. Algunas de ellas pueden aumentar su concentración en sangre 3 a 5 veces, pero otras como la proteína C reactiva y el amiloide A sérico lo pueden hacer hasta 1000 veces comparado con un animal sano.

Hay dos grandes grupos de PFA: por un lado, aquellas que cuentan con acción *microbicida* como la proteína C reactiva, el amiloide A sérico, el fibrinógeno, la transferrina y las fracciones del complemento C3/C5 que facilitarán la eliminación de patógeno, o *microbiostática*, que frenan la proliferación de los patógenos. Por otro lado, están aquellas que protegen a los tejidos del daño causado por la respuesta inflamatoria como la haptoglobina,  $\alpha$ 1-antitripsina,  $\alpha$ 2-macroglobulina y la ceruloplasmina. Dentro del primer grupo, pueden distinguirse aquellas que tienen función de *opsoninas* (recubren al patógeno para hacerlo más apetecible para las células fagocíticas) como la proteína C reactiva, la proteína fijadora de manosa y la proteína fijadora de lipopolisacáridos, que promoverán la endocitosis, a su vez son RRP solubles, y a su vez también pueden activar el sistema del complemento favoreciendo la eliminación del patógeno. A nivel pulmonar se secretan localmente dos proteínas llamadas surfactantes pulmonares A Y D, que también son opsoninas. Las PFA que intentan eliminar al patógeno frenando su replicación son las proteínas fijadoras de hierro, como la haptoglobina y la ferritina que secuestran el hierro, privándoselo así a ciertas bacterias que lo necesitan para su crecimiento. Por su parte el fibrinógeno se verá aumentado ante un proceso infeccioso, donde por medio de la cascada de la coagulación formará microtrombos que evitaban la diseminación de los patógenos. Las fracciones C3 y C5 del complemento, se ven también aumentadas y favorecerán la activación de este sistema, y una vez activadas también funcionan como opsoninas. Dentro del segundo grupo, están las PFA que intentan reparar el daño que produce cualquier proceso inflamatorio, como la ceruloplasmina que tiene efecto antioxidante neutralizando a los radicales libres, y las  $\alpha$ 1-antitripsina y  $\alpha$ 2-macroglobulina, ambas inhibidoras de proteasas.

## Endocitosis

Otro mecanismo efector de la inmunidad innata es la endocitosis, que consiste en la incorporación de sustancias particuladas y macromoléculas hacia el interior de la célula, por medio de la formación de evaginaciones de la membrana celular que se internalizan conteniendo el material ingerido. Existen dos tipos de endocitosis: la *fagocitosis*, que es el proceso por el cual se incorporan elementos particulados en vesículas de más de 100 nm de tamaño y que se lleva a cabo por células especializadas llamadas fagocitos; y la *pinocitosis* que es la incorporación de líquidos y solutos en vesículas pequeñas de entre 50 y 100 nm y es una función que pueden llevar a cabo todas las células del organismo.

### Células fagocíticas

Dentro de las células fagocíticas se encuentran células del sistema mieloide como los polimorfonucleares *neutrófilos* y *eosinófilos*, y las células del sistema fagocítico mononuclear, donde podemos nombrar los *macrófagos* y otras células específicas de los tejidos como los monocitos en la sangre, células mesangiales del glomérulo renal, células de la microglía del sistema nervioso central y células de Kupffer en el hígado.

Los *neutrófilos* tienen algunas características particulares: salen maduros de la médula ósea, no se multiplican, tienen organoides poco desarrollados, viven alrededor de 10 horas en sangre y luego migran a los tejidos, donde tienen también una vida media corta, y presentan un núcleo multilobulado con gran plasticidad. Además, presentan en su interior gránulos repletos de sustancias bactericidas. Los *gránulos primarios* poseen en su interior mieloperoxidasa (MPO), péptidos antimicrobianos como defensinas, proteína incrementadora de permeabilidad bacteriana, catelicidinas, catepsina G y lisozima; mientras que los *gránulos secundarios* contienen en su interior lisozima, lactoferrina, NADPH oxidasa (NOX), colagenasa y elastasa.

Los *macrófagos*, por su parte, salen de la médula ósea como promonocitos, luego maduran a monocitos mientras se encuentran en la circulación, y pasan a llamarse macrófago cuando están en los tejidos. Los macrófagos son células redondeadas, de 20  $\mu\text{m}$  de tamaño, que presentan un núcleo arrifonado y una gran cantidad de organoides. Tienen la capacidad de dividirse una vez que se encuentran en los tejidos y presentan una vida media de más de 20 días, con una intensa, repetida y persistente actividad fagocítica.

### Pasos de la endocitosis

La *endocitosis* consta de 4 pasos: 1- *quimiotaxis*: es la dirección de las células fagocíticas al sitio de la injuria mediante la acción de quimiocinas, como por ejemplo la IL-8, que genera en las células fagocíticas, especialmente neutrófilos, la migración a favor de un gradiente de

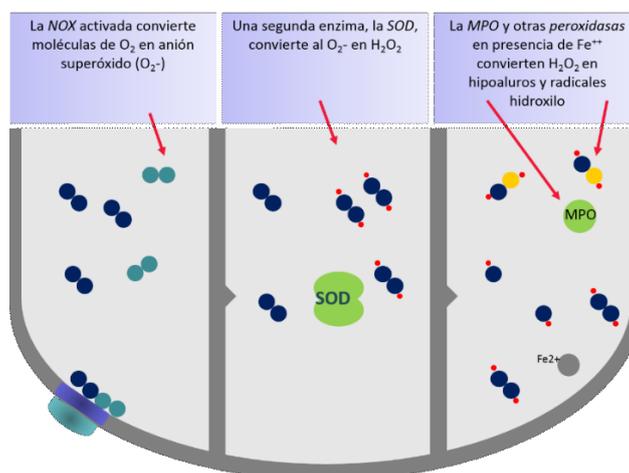
concentración; 2- *adherencia*: este paso está mediado por los RRP de superficie como los receptores de glucano, de manosa, y de LPS, entre otros, que reconocen a los PAMP en los microorganismos; y por opsoninas como la fracción C3b del sistema del complemento, la proteína C reactiva, la proteína fijadora de manosa y la inmunoglobulina G, las cuales recubren a los patógenos y se unen a receptores presentes en los fagocitos, lo cual favorece su internalización; 3- *ingestión*: permite la formación de los *fagosomas* que posteriormente se unirán con los lisosomas formando así los fagolisosomas, y 4- *digestión*: donde los fagocitos destruyen a los microorganismos a los que se unieron, por mecanismos que se describen a continuación.

## Mecanismos de destrucción

Existen dos tipos de mecanismos de eliminación de patógenos en los fagocitos: los *dependientes e independientes del oxígeno ( $O_2$ )*. El *mecanismo dependiente de  $O_2$* , también llamado *estallido respiratorio*, recibe su nombre por utilizar grandes cantidades de moléculas de  $O_2$  para la generación de moléculas tóxicas denominadas *radicales libres*, que intentarán destruir a los microorganismos. El estallido respiratorio se inicia por activación de la enzima NADPH oxidasa (NOX), que está compuesta por diferentes subunidades, y se activa sólo cuando se ha formado el fagolisosoma, o ante la presencia de citocinas como el FNT- $\alpha$ . La NOX actúa sobre las moléculas de  $O_2$ , transformándolo en *un anión superóxido ( $O_2^-$ )*, que es un metabolito muy tóxico pero muy inestable. Es por eso que hay una segunda enzima, la *superóxido dismutasa (SOD)*, que convierte al  $O_2^-$  en peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) que es mucho más estable, en radicales oxidrilos, aniones hipoclorito y cloraminas. El  $H_2O_2$ , a su vez es atacado por enzimas como MPO y otras peroxidasas que, en presencia de hierro, convierten al  $H_2O_2$  y los iones halógenos intracelulares ( $Cl^-$ ,  $Br^-$ ,  $I^-$  o  $SCN^-$ ) en hipohaluros y radicales hidroxilo. Estos metabolitos son altamente tóxicos para los patógenos, aunque también para el propio organismo del individuo en el que se lleve a cabo este proceso (Figura 2.4).

### Figura 2.4

#### Activación del estallido respiratorio en células fagocíticas



El otro mecanismo que forma parte del estallido respiratorio, involucra la activación de la enzima *óxido nítrico sintetasa inducible*, presente principalmente en el macrófago, que para ser activada necesita de la presencia de citocinas como el FNT- $\alpha$  y el IFN- $\gamma$  y. Una vez que se activa esta enzima, generará grandes cantidades de *óxido nítrico*, que en sí mismo no es tóxico, pero puede reaccionar con el  $O_2^-$  para producir oxidantes muy reactivos y tóxicos, como es el peroxinitrito y el radical dióxido de nitrógeno.

Los *mecanismos independientes de  $O_2$*  están formados por todas las sustancias presentes dentro de los gránulos de los fagocitos: la catepsina G, defensinas, proteína incrementadora de la permeabilidad bacteriana y proteínas catiónicas que causan daño en las membranas microbianas; la lisozima, que es una enzima que escinde mucopéptidos de la pared bacteriana, la lactoferrina que secuestra hierro, y otras enzimas proteolíticas e hidrolíticas que favorecen en la digestión de microorganismos destruidos.