

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/360090454>

# TÓPICOS SELECTOS EN CIENCIAS BÁSICAS APLICADOS AL ENFERMO CRÍTICO. SELECTED TOPICS IN BASIC SCIENCES APPLIED TO THE CRITICALLY ILL.

Book · April 2022

DOI: 10.29018/978-9942-823-96-0

CITATIONS

0

READS

288

6 authors, including:



[Jorge Luis Vélez Páez](#)

Central University of Ecuador

128 PUBLICATIONS 118 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



[Mario Montalvo Villagómez](#)

Universidad Andina Simón Bolívar (UASB)

59 PUBLICATIONS 35 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



[Pablo Vélez Páez](#)

Hospital General Ibarra

57 PUBLICATIONS 56 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



[Fernando Jara González](#)

Hospital General Pablo Arturo Suarez

53 PUBLICATIONS 78 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



sepsis [View project](#)



SEPSIS [View project](#)

# TÓPICOS SELECTOS EN CIENCIAS BÁSICAS APLICADOS AL ENFERMO CRÍTICO

## SELECTED TOPICS IN BASIC SCIENCES APPLIED TO THE CRITICALLY ILL



**CIDE**  
Editorial  
[www.cidepro.org](http://www.cidepro.org)



Jorge Luis Vélez Páez  
Mario Patricio Montalvo Villagómez  
Fernando Esteban Jara González  
Santiago Xavier Aguayo Moscoso  
Pablo Andrés Vélez Páez  
Pedro René Torres Cabezas  
Daniel Alfonso Torres Carpio



Jorge Luis Vélez Páez  
Mario Patricio Montalvo Villagómez  
Fernando Esteban Jara González  
Santiago Xavier Aguayo Moscoso  
Pablo Andrés Vélez Páez  
Pedro René Torres Cabezas  
Daniel Alfonso Torres Carpio

TÓPICOS SELECTOS EN CIENCIAS BÁSICAS  
APLICADAS AL ENFERMO CRÍTICO

SELECTED TOPICS IN BASIC SCIENCES  
APPLIED TO CRITICALLY ILL PATIENTS


Jorge Luis Vélez Páez  
Mario Patricio Montalvo Villagómez  
Fernando Esteban Jara González  
Santiago Xavier Aguayo Moscoso  
Pablo Andrés Vélez Páez  
Pedro René Torres Cabezas  
Daniel Alfonso Torres Carpio


Tópicos selectos en ciencias básicas  
aplicadas al enfermo crítico


Selected topics in basic sciences  
applied to critically ill patients





## ***Autores:***


Jorge Luis Vélez Páez  
Hospital Pablo Arturo Suárez  
Médico Especialista  
Jefe de Servicio en la Unidad de Terapia Intensiva  
jorgeluisvelez13@hotmail.com  
 <https://orcid.org/0000-0002-6956-4475>


Fernando Esteban Jara González  
Hospital Pablo Arturo Suárez  
Médico Tratante en la Unidad de Terapia Intensiva  
fernandojarag@gmail.com  
 <https://orcid.org/0000-0003-2132-7187>

Pablo Andrés Vélez Páez  
Hospital General Ibarra  
Médico Especialista en la Unidad de Terapia Intensiva  
pablmh2586@hotmail.com  
 <https://orcid.org/0000-0002-9009-9387>

Daniel Alfonso Torres Carpio  
Hospital General Docente de Calderón  
Médico Especialista en la Unidad de Terapia Intensiva  
danieltorresuci@hotmail.com  
 <https://orcid.org/0000-0002-9964-5620>

Mario Patricio Montalvo Villagómez  
Hospital Pablo Arturo Suárez  
Médico Tratante en la Unidad de Terapia Intensiva  
marpatmontvilla@gmail.com  
 <https://orcid.org/0000-0003-2987-7095>

Santiago Xavier Aguayo Moscoso  
Hospital Pablo Arturo Suárez  
Médico Tratante en la Unidad de Terapia Intensiva  
drsaguayo@gmail.com  
 <https://orcid.org/0000-0003-4919-5497>

Pedro René Torres Cabezas  
Hospital Clínica Metropolitana Ibarra  
Médico Especialista  
Actualmente Jefe de la Unidad de Cuidados Intensivos  
drpedrotorrescab@gmail.com  
 <https://orcid.org/0000-0003-0554-2135>

Advertencia: Está prohibido, bajo las sanciones penales vigentes que ninguna parte de este libro puede ser reproducida, grabada en sistemas de almacenamiento o transmitida en forma alguna ni por cualquier procedimiento, ya sea electrónico, mecánico, reprográfico, magnético o cualquier otro sin autorización previa y por escrito del Centro de Investigación y Desarrollo Profesional (CIDEPRO).



Primera Edición, diciembre 2021

*Tópicos selectos en ciencias  
básicas aplicadas al enfermo crítico*

**ISBN:** 978-9942-823-96-0 (eBook)

**ISSN:** 2600-5719 (electronic)

<https://doi.org/10.29018/978-9942-823-96-0>

Editado por:

Centro de Investigación y Desarrollo Profesional

© **CIDPRO Editorial 2021**

Babahoyo, Ecuador

Móvil - (WhatsApp): (+593) 9 8 52-92-824

[www.cidepro.org](http://www.cidepro.org)

**E-mail:** [editorial@cidepro.org](mailto:editorial@cidepro.org)

Este texto ha sido sometido a un proceso de evaluación por pares externos con base en la normativa editorial de CIDPRO.

Diseño y diagramación:

CIDPRO Editorial

Diseño, montaje y producción editorial:

CIDPRO Editorial

Hecho en Ecuador

Made in Ecuador

# ÍNDICE

PRÓLOGO.....	XV
PRÒLOGO.....	XVIII
TÓPICOS SELECTOS EN CIENCIAS	
BÁSICAS APLICADAS AL ENFERMO CRÍTICO.....	XXI
<b>CAPÍTULO 1</b>	
EL ROL DE LAS PLAQUETAS Y	
LAS TRAMPAS EXTRACELULARES DE	
NEUTRÓFILOS (NETs) EN LA SEPSIS .....	25
RESUMEN .....	25
ABSTRACT.....	26
INTRODUCCIÓN .....	26
Definiciones .....	28
Plaquetas .....	28
NETosis.....	30
Tipos de NETs .....	31
Plaquetas y NETs en sepsis .....	32
Efectos de la netosis desregulada en la sepsis .....	36
Enfoque traslacional y estrategias terapéuticas	
dirigidas a los NETs.....	37
CONCLUSIONES .....	42
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43



## CAPÍTULO 2

ROL DE LOS RECEPTORES TIPO TOLL EN LA SEPSIS .....	53
RESUMEN .....	53
ABSTRACT.....	53
INTRODUCCIÓN .....	54
Un poco de historia .....	55
Activación del sistema inmune frente a un agente infeccioso .....	56
TLR y sistema del complemento .....	57
Receptores tipo TOLL .....	58
Descubrimiento .....	58
Estructura .....	59
Miembros de la familia TLR y distribución.....	59
Ligandos que se unen a los TLR .....	60
Vías de señalización de los TLR.....	60
Función de los TLR .....	61
Sepsis .....	62
Sepsis bacteriana.....	63
Sepsis fúngica .....	65
Sepsis por parásitos.....	67
Sepsis virales.....	69
TLR1 y TLR2 .....	69
TLR3 .....	70
TLR7 y TLR8 .....	70
TLR9 .....	71

COVID-19: .....	72
Utilidad clínica actual .....	73
Enfoque traslacional.....	76
Inhibidores de moléculas pequeñas .....	76
Anticuerpos .....	78
Oligonucleótidos .....	78
Análogos del lípido A.....	78
Inhibidores de microARN (miARN) .....	79
Nuevos nano inhibidores emergentes .....	79
CONCLUSIONES .....	83
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	84

### **CAPÍTULO 3**

RECEPTORES PARA DOMINIOS DE OLIGOMERIZACIÓN PARA LA UNIÓN A NUCLEÓTIDOS (NOD – LIKE RECEPTORS) Y SEPSIS .....	100
RESUMEN .....	100
ABSTRACT .....	101
INTRODUCCIÓN .....	102
Receptores para dominios de oligomerización para la unión a nucleotidos (NOD – like receptors) .....	108
NLR formadores de inflamasona .....	110
NLRP1 .....	110
NLRP3 .....	112
NLRP6 .....	117

NLRP7 .....	118
NLRP12 .....	119
NLRC4 Y NAIPs .....	119
Inflamasoma .....	121
Inducción de piroptosis y regulación de autofagia por el inflamasoma .....	122
Rol del inflamasoma en la respuesta del huésped .....	124
NLR inflamasoma independientes .....	125
NOD1/2 .....	125
NLRP10 .....	129
NLRX1 .....	131
NLRC5 .....	135
CITA .....	138
CONCLUSIONES .....	140
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	142

## **CAPÍTULO 4**

LA AUTOFAGIA COMO MECANISMO DE DEFENSA Y ADAPTACION CELULAR .....	148
RESUMEN .....	148
ABSTRACT .....	149
INTRODUCCIÓN .....	150
Definiciones .....	152
Autofagia .....	152
Autofagia selectiva .....	152

Estructuras que participan en la autofagia .....	153
Mecanismos moleculares de la cascada autofagica .....	155
Tipos de autofagia.....	158
Funciones de la autofagia.....	159
Metabólica.....	160
Homeostasis .....	160
Inmunidad .....	161
Otras.....	161
Implicaciones clínicas de la autofagia .....	161
Bloqueo de la mitofagia en sepsis y su respuesta inflamatoria exagerada.....	162
La paradoja de la autofagia en el cáncer.....	163
Desregulación de la mitofagia en las enfermedades neurodegenerativas.....	165
Disfunción mitocondrial en ausencia de autofagia, así es como envejecemos .....	165
Perspectivas futuras .....	166
CONCLUSIÓN.....	168
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	169
<b>CAPÍTULO 5</b>	
ROL DE LA PIROPTOSIS EN PATOLOGÍA HUMANA.....	176
RESUMEN .....	176
ABSTRACT.....	177
INTRODUCCIÓN .....	177

Piroptosis.....	179
Rol de la piroptosis en diferentes patologías .....	182
Rol de la piroptosis en la enfermedad cardiovascular .....	182
Piroptosis y aterosclerosis.....	183
Piroptosis y dislipidemia.....	183
Piroptosis y cardiomiopatía diabética.....	184
Piroptosis y falla cardíaca.....	185
Piroptosis e isquemia miocárdica, reperusión. ....	186
Piroptosis y virus.....	187
Piroptosis y miocarditis viral .....	187
SARS Cov2 y piroptosis.....	187
Piroptosis y sepsis.....	189
Enfoque traslacional.....	191
MCC950.....	191
CY-09 y OLT1177.....	192
Tranilast .....	192
Oridonin .....	192
FC11A-2.....	193
CONCLUSIÓN.....	197
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	198

## **CAPÍTULO 6**

### **IMPORTANCIA DE LA RUTA DE**

**SEÑALIZACIÓN JAK/STAT EN LA SEPSIS .....**206

**RESUMEN .....**206

ABSTRACT.....	206
INTRODUCCIÓN .....	207
Vía jak-stat: un camino por la fisiología.....	209
Implicaciones de la vía jak stat en la inflamación y su relación con enfermedades autoinmunes.....	213
Ruta de señalización jak-stat asociada a la sepsis.....	214
Enfoque traslacional y posibles estrategias terapeuticas dirigidas a la vía jak/stat en sepsis.....	225
CONCLUSIONES .....	231
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	232

## **CAPÍTULO 7**

MICROBIOTA Y SEPSIS .....	239
RESUMEN .....	239
ABSTRACT.....	240
INTRODUCCIÓN .....	241
Microbioma.....	242
Capa de moco intestinal.....	244
Inmunidad intestinal.....	245
Alteración del microbioma intestinal en la sepsis.....	250
Apoptosis del epitelio intestinal en la sepsis.....	254
Opciones terapéuticas dirigidas a restaurar el microbioma .....	255
Trasplante de microbioma fecal.....	256
Uso de probióticos .....	256
Descontaminación selectiva del tracto digestivo .....	257

CONCLUSIONES .....	259
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	260
ACERCA DE LOS AUTORES .....	268

## PRÓLOGO

Es un gran placer para mí presentar este Libro: “TÓPICOS SELECTOS EN CIENCIAS BÁSICAS APLICADOS AL PACIENTE CRÍTICO”.

Ante todo, este libro representa una amalgama de conocimientos de ciencia básica muy profundos y detallistas, ahondando en los mecanismos moleculares y proteómicos, pero en perfecta concordancia con su aplicación en la ciencia clínica, y la perspectiva de su aplicación a corto o mediano plazo.

Cada capítulo inicia con una revisión bastante profunda y técnica de los elementos constituyentes de un determinado mecanismo inmunológico, pasando por las variantes de la expresión de estos componentes, y proyectándose al rol fisiológico y patológico que cumplen cada una de estas moléculas en el complejo funcionamiento del sistema inmune.

Aparte de esto, muestran la utilidad de estas moléculas, sea intra o extracelulares, en las patologías comunes, y, sobre todo hacen especial rigor al rol desempeñado en situaciones críticas como es la situación de sepsis y la reciente crítica situación de la infección por COVID-19. En la primera sección se discute el rol crucial que cumplen dos elementos un poco olvidados de la respuesta inmune como las plaquetas y las trampas extracelulares de neutrófilos, que en los últimos años ha dado mucha información y posibilidades de intervenciones terapéuticas, que muy bien han sido resaltada por los autores.



En la segunda sección otras moléculas ya conocidas, pero aun incompletamente aprovechadas, como son los receptores Toll-Like Receptors (TLRs), sus variantes y sus posibilidades de uso terapéutico. El tercer capítulo revisa en detalle otro tipo de receptores, en este caso, intracelulares, los NODs y su importancia en sepsis y sus potenciales aplicaciones terapéuticas.

En el cuarto capítulo se revisa el mecanismo poco conocido de la Autofagia, en sus roles fisiológicos de defensa y reguladores, como en sus disfunciones en patologías graves como la sepsis.

El quinto capítulo dirigido al entendimiento del mecanismo recientemente reconocido de la Piroptosis y sus implicancias en condiciones de salud y sepsis.

El sexto capítulo se concentra en mecanismos de transmisión de señales intracelulares a través de tirosin kinasas y factores de transcripción, de crítica importancia en mecanismos de activación normal, disfunciones del sistema inmune por enfermedades autoinmunes, o por sobreactivación por infecciones severas, y que ya, de hecho, se están utilizando y se avecinan muchos nuevos productos que actúan a estos niveles.

El séptimo y último capítulo dedicado a una de las líneas de investigación de mayor importancia y con mayor potencialidad de uso clínico en salud y enfermedad, el tema de la microbiota y sus aplicaciones.

Una de las ventajas de los autores es que se proyectan en los usos potenciales tanto del desarrollo de nuevos productos farmacéuticos, como de productos terapéuticos no farmacológicos, que, desde el punto de vista integrativo, es uno de los enfoques más prospectivos y esperanzadores.

Es para mí un gran orgullo, que dentro de los autores se encuentren alumnos de la Maestría de Inmunología, que ojalá haya servido para darles esa visión holística del conocimiento en salud y enfermedad.

No me queda más que desearles a los autores mis mejores augurios de una obra de trascendental importancia para profesionales de la salud médicos y no médicos, y a los lectores, les garantizo que la lectura y el entendimiento de estos temas les aperturará una visión de las medicina y ciencias biológicas, que antes quizá la sospechaban, pero nunca como con este libro, lo verán tan claro y entendible.

*Dr. José Luis Aguilar Olano*

*Médico especialista en Inmunología y Reumatología*

*Jefe Laboratorio de Inmunología. Departamento de Ciencias Celulares y Moleculares. Facultad de Ciencias. Director de la Maestría de Inmunología. Escuela de Posgrado “Victor Alzamora Castro”. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Perú.*

*Jefe Servicio de Inmuno-Reumatología. Departamento de Medicina. Hospital Cayetano Heredia. Lima, Perú.*

*Director Médico de BIOTEC.*

## PRÒLOGO

La sepsis, definida como la infección asociada a falla multiorgánica llega a ser identificada en alrededor de un 30% de pacientes atendidos en Unidades de Cuidados Intensivos y está asociada con una tasa de mortalidad de aproximadamente 35%, siendo así uno de los problemas de salud pública más importante a nivel mundial.

En la búsqueda continua de soluciones a este problema, un creciente cuerpo de información comienza a elucidar algunos de los aspectos moleculares y celulares que rigen la inmunopatogenia de los procesos sépticos. Esta nueva información da luz a diferentes blancos terapéuticos y resalta las moléculas y las poblaciones celulares cuyas alteraciones podrían ser usadas como biomarcadores de diagnóstico y pronóstico para este tipo de patologías.

A lo largo de 270 páginas, usando una plétora de imágenes ilustrativas y tablas informativas que ayudan a resumir el conocimiento almacenado hasta la fecha, los autores -médicos intensivistas de hospitales de renombre de Ecuador con amplia experiencia en el tratamiento del paciente de cuidados intensivos- vinculan diferentes aspectos de las ciencias básicas con la patología y las manifestaciones clínicas del enfermo crítico. El libro está dividido en siete capítulos que abarcan y resumen de forma meticulosa la bibliografía alrededor de las diferentes aristas de la respuesta inmune mismas que juegan un papel determinante en la patogenia de la sepsis.

En el primer capítulo se discute la importancia de los mecanismos efectores de los neutrófilos y la activación de las plaquetas en el contexto de la sepsis. El segundo y el tercer capítulo abordan el rol de receptores del sistema innato y cómo su activación aberrante induce procesos proinflamatorios desregulados. El cuarto capítulo ofrece una visión acerca de la autofagia, cuyo papel determinante en los procesos inflamatorios, la inducción de enfermedades neurodegenerativas y el envejecimiento lo hizo merecedor del Premio Nobel en Medicina en el año 2016. En el capítulo cinco se presenta la piroptosis, que comprende el mecanismo de muerte celular mediada por la activación del inflamasoma, y su rol fundamental en diferentes patologías humanas. Por otro lado, el sexto capítulo describe en detalle la vía de señalización celular JAK/STAT, misma que constituye una de las cascadas más importantes en la regulación de las respuestas inmunes, la división celular y la tumorigénesis. Finalmente, el capítulo 7 ofrece una perspectiva de la microbiota y su papel en la inmunidad de mucosas en relación con la sepsis.

Este enorme esfuerzo permite al lector médico conocer y familiarizarse con las rutas que median procesos homeostáticos, mismas que al ser desreguladas o mal controladas conducen a procesos patológicos sumamente perjudiciales para la vida del paciente. A la vez, el médico seguramente identificará moléculas que hoy en día se usan como biomarcadores y podrá conocer más detalles sobre su participación

en estas cascadas patogénicas, por medio de una presentación más holística y no solo enfocada a las manifestaciones clínicas y su tratamiento.

Constituye un honor para mí, como inmunólogo, académico e investigador realizar el prólogo de este libro. Aprovecho la oportunidad para ofrecer mis sinceras felicitaciones a sus autores, pues con su libro contribuyen a develar, entender y combatir una de las patologías más prevalentes y mortales que atormenta a los pacientes críticos.

Les invito a su lectura y espero que sea el primero de varios emprendimientos para tender un puente entre el conocimiento básico y el tratamiento clínico.

*Dr. Nikolaos C Kyriakidis,*

*PhD. en Inmunología*

*Docente e Investigador, Universidad de las Américas, Quito,  
Ecuador*

# **TÓPICOS SELECTOS EN CIENCIAS BÁSICAS APLICADAS AL ENFERMO CRÍTICO**

La Sepsis, se presenta clásicamente como la aparición de una respuesta inflamatoria sistémica (Sepsis 1) y actualmente (Sepsis 3) como el desarrollo de disfunción multiorgánica medida mediante la escala “Sepsis related Organ Failure Assessment” (SOFA); secundaria a un foco infeccioso sospechado o documentado.

Si bien éstas definiciones operativas son válidas y necesarias, expresan únicamente las consecuencias finales y visibles de una compleja interacción huésped-bacteria, en dónde los patrones moleculares asociados a patógenos “PAMPs”, (como el lipopolisacárido de las bacterias gram negativas) y los patrones moleculares asociados a daño “DAMPs”, interactúan con receptores específicos llamados receptores de reconocimiento de patrones (como los receptores tipo TOLL y tipo NOD) ubicados en las células inmunitarias como los macrófagos, desencadenando una respuesta proinflamatoria, con producción masiva de citoquinas clásicas como el TNF alfa, la IL1, la IL6, el interferón gamma, entre otros; a la vez los neutrófilos, representantes de la inmunidad innata, fagocitan y en instancias finales se autodestruyen “suicidan”, liberando su contenido para que coadyuvados por las plaquetas produzcan las trampas extracelulares de neutrófilos (NETs), que tienen como fin atrapar a microorganismos en ellas.

De forma paralela se produce una forma especial de muerte celular programada, que se denomina piroptosis, y que tiene como desencadenante la inflamación.

Todo este complejo enmarañado de fenómenos y procesos tienen como fin el control de los agresores microbianos, sin embargo, el fenotipo de gravedad y severidad depende también de factores genéticos y epigenéticos, que determinan en muchos casos hiperinflamación, con predominio de macrófagos tipo I (SIRS) y en otros, anergia, con predominio de macrófagos tipo II (CARS), con desenlaces fatales en ambos extremos.

Los paquetes de medidas recomiendan una antibioticoterapia adecuada y apropiada y de inicio inmediato en los pacientes con sepsis, la idea básica de esta medida, es suprimir la carga bacteriana y de forma paralela la producción y liberación de PAMPs y de esta forma mejorar el pronóstico de estos enfermos. Sin embargo, el tiempo, espectro y administración de uno o varios antimicrobianos impacta en nuestra microbiota, la altera y puede acarrear consecuencias nefastas, que van desde infecciones por *Clostridium difficile* hasta alteraciones autoinmunes y neoplasias (como la colónica).

En este libro, los autores hemos tratado de que términos como NETosis, piroptosis, PAMPs, DAMPs, receptores tipo TOLL y NOD, no sean ajenos al conocimiento de los médicos clínicos y que su entendimiento refleje un tratamiento holístico y razonado de una patología prevalente

y que pese a los vertiginosos avances técnico-científicos mantiene una mortalidad relativamente alta.

*Los autores:*

*Jorge Luis Vélez Páez. MD. MSc. PhD.*

*Mario Patricio Montalvo Villagómez. MD. MSc.*

*Fernando Esteban Jara González. MD. MSc.*


*Santiago Xavier Aguayo Moscoso. MD.*

*Pablo Andrés Vélez Páez. MD.*

*Pedro René Torres Cabezas. MD.*

*Daniel Alfonso Torres Carpio. MD.*





# **EL ROL DE LAS PLAQUETAS Y LAS TRAMPAS EXTRACELULARES DE NEUTRÓFILOS (NETS) EN LA SEPSIS**

---

## **Capítulo 1**

Jorge Luis Vélez-Páez. MD. MSc. Ph.D.

Sarahí Dueñas-Andrade

# **EL ROL DE LAS PLAQUETAS Y LAS TRAMPAS EXTRACELULARES DE NEUTRÓFILOS (NETS) EN LA SEPSIS**

## **RESUMEN**

La sepsis es “la disfunción orgánica secundaria a la respuesta desregulada del paciente ante una infección”. Este concepto, nos permite ver la punta del iceberg, que es la expresión clínica de los fallos orgánicos, sin entender la base de los mismos, que actualmente se explican por fenómenos celulares y moleculares.

Los neutrófilos, son pilares de la inmunidad innata y su función fundamental es la fagocitosis, pero también forman trampas extracelulares (NETs), cuya finalidad es la de atrapar patógenos al liberar su contenido; este fenómeno se ve amplificado por la presencia de plaquetas activadas.

La NETosis, es un proceso benéfico, sin embargo, al desregularse, puede caotizar e inducir “inmunotrombosis” con compromiso de la microcirculación que incrementa la severidad clínica de la sepsis.

El propósito de esta revisión, es describir de forma clara, el rol fisiopatológico y como blanco terapéutico de los NETs y su interacción con las plaquetas en la sepsis.

**Palabras clave:** Sepsis, NETs, plaquetas. (Fuente: DeCS-BIREME)

## **ABSTRACT**

Sepsis is “organic dysfunction secondary to the dysregulated response of the patient to an infection.” This concept allows us to see the tip of the iceberg, which is the clinical expression of organic failures, without understanding their basis, which are currently explained by cellular and molecular phenomena. Neutrophils are pillars of innate immunity and their fundamental function is phagocytosis, but they also form extracellular traps (NETs), whose purpose is to trap pathogens by releasing their content; this phenomenon is amplified by the presence of activated platelets. NETosis is a beneficial process, however, when deregulated, it can be chaotic and induce “immunothrombosis” with compromise of the microcirculation that increases the clinical severity of sepsis. The purpose of this review is to clearly describe the pathophysiological role and as a therapeutic target of NETs and their interaction with platelets in sepsis.

**Keywords:** Sepsis, NETs, platelets. (Source: MeSH-NLM)

## **INTRODUCCIÓN**

La sepsis se la define actualmente (Consenso SEPSIS 3) como: “la disfunción orgánica secundaria a la respuesta desregulada del paciente ante una infección”. Es un problema de salud pública importante, su mortalidad oscila entre el 30 al 50%, y a nivel mundial aproximadamente 30 millones de personas la padecerán y 6 millones de ellas fallecerán. El enfoque diagnóstico de la sepsis, ha pasado de ser puramente clínico

a complementarse y entenderse desde un punto de vista molecular, en el cual los receptores de reconocimiento de patrones RRP (receptores tipo Toll y tipo Noll), los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) y los patrones moleculares asociados a daño (DAMPs) juegan un rol preponderante y nos han posibilitado entender los intrincados procesos que inducen daño tisular.

Dentro de estas interacciones moleculares, los neutrófilos, que son células claves en la inmunidad innata, al ser fagocitos profesionales que destruyen a los patógenos fagocitados por mecanismos enzimáticos y dependientes de especies reactivas de oxígeno (ROS), presentan una característica poco conocida, pero trascendental, que es la formación de trampas celulares (NETs), es decir literalmente se suicidan y arrojan a nivel de los capilares su ADN y componentes enzimáticos, con el objetivo de atrapar patógenos; ésta actividad se ve potenciada por las plaquetas y cuando está regulada se convierte en un mecanismo de defensa innato relevante. Sin embargo, al desregularse, puede producir un efecto caótico a nivel microcirculatorio y coadyuvar al fracaso orgánico.

El objetivo de esta revisión, es describir el comportamiento individual de los (NETS) y su interacción con las plaquetas en la fisiopatología de la sepsis, y de ello derivar objetivos y blancos terapéuticos para el tratamiento de esta patología.

## *Definiciones*

### *Plaquetas*

Las plaquetas son fragmentos de células muy grandes de la médula ósea, que se llaman megacariocitos, los cuales pertenecen a la serie mieloide de la sangre. La producción de estas células está estimulada, en su mayor parte, por la trombopoyetina (TPO). A medida que los megacariocitos se convierten en células gigantes, se someten a un proceso de fragmentación que da como resultado la liberación de más de 1.000 plaquetas por megacariocito; ya en la circulación, las plaquetas viven entre 8 a 10 días.

Normalmente, las plaquetas tienen forma de plato, de ahí su nombre. Cuando estas son estimuladas por una rotura en la pared de los vasos sanguíneos, cambian de forma: se vuelven redondas y extienden largos filamentos que les sirven para hacer contacto con la pared del vaso sanguíneo roto o con otras plaquetas, formando así un tapón que hará más lento el sangrado, o lo frenará, y también facilitará la cicatrización de las heridas. Esto puede ser llevado a cabo gracias a que contienen proteínas similares a las musculares, que les permiten cambiar de forma, y a otras proteínas en su superficie, que les permiten adherirse a las roturas de la pared de los vasos sanguíneos y también adherirse entre sí. Además, contienen gránulos alfa y gránulos densos que pueden secretar otras proteínas necesarias para crear un tapón firme para sellar las roturas de los vasos sanguíneos. Los gránulos alfa almacenan factor V, factor VIII, factor de von Willebrand, selectina P, trombospondina, fibrinógeno, fibronectina,  $\beta$ -tromboglobulina, factor

de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y factor plaquetario.

Los gránulos densos contienen calcio, adenosín difosfato (ADP) y serotonina, a su vez, el citoplasma puede contener otras sustancias, como: serotonina, epinefrina, norepinefrina, óxido nítrico y citocinas. Sin embargo, la hemostasia no es su única función.

Las plaquetas están acopladas con proteínas/glicoproteínas para varios propósitos, que incluyen hemostasia, trombosis, detección, defensa natural antiinfecciosa (bacteriana, viral, quizás fúngica), quimio-atracción, comunicación celular, angiogénesis, curación y reparación de tejidos. De este modo, en la inmunidad innata contra productos bacterianos (o bacterias vivas también), los receptores de reconocimiento de patrones (PRR) TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR6, TLR7 y TLR9 ayudan a las plaquetas a detectar peligros de distinta naturaleza y a secretar diferentes patrones de modificadores de respuesta biológica (BRM) en consecuencia; por ejemplo, el LPS, dirigido a TLR4, estimula una vía de señalización intracelular que provoca la secreción de IL-1.

Alrededor de 300 a 350 de las proteínas que conocemos actualmente, son secretadas por plaquetas. Las proteínas que se originan en las plaquetas tienen tres orígenes: 1) pueden heredarse del megacariocito, 2) se absorben de los fluidos vecinos y especialmente del plasma (las plaquetas se han descrito como “esponjas”), y 3) se pueden producir de novo, utilizando un proceso de ARN de retrotranscripción y espliceosoma. Además, a las plaquetas también se les han reportado

roles novedosos en patología: hacen que los leucocitos sean propensos a liberar trampas extracelulares de neutrófilos (NET) con funciones en la infección (p. Ej, sepsis) y también en el cáncer, favoreciendo la trombosis, en cualquier caso.

### ***NETosis***

El término “NETosis” fue descrito por primera vez en el año 2004, por el doctor alemán Volker Brinkmann, quien lo definió como una nueva forma de muerte celular. Observó que los neutrófilos, al ser estimulados por la presencia de hongos o bacterias, pueden producir redes compuestas por proteínas intracelulares propias, las cuales usan para atrapar componentes patógenos antes de morir (Figura 1). Este mecanismo también se ha descrito en otras células del sistema inmune, como basófilos y eosinófilos.

Hay varios estímulos que determinan la formación de NETs, el forbol-miristato-acetato (PMA), utilizado en modelos carcinogénicos, el lipopolisacárido y la interleuquina 8 (IL-8) , fueron los primeros en ser identificados; sin embargo, al momento actual, casi cualquier microorganismo infectante puede desencadenar su génesis. También ciertas neoplasias, como la pancreática mediante la vía dependiente de productos finales de la glicosilación avanzada e induciendo autofagia de neutrófilos también induce NETs .

En la actualidad, el término comúnmente es usado para describir la secuencia de eventos celulares que conducen a la liberación activa de NET (trampas extracelulares de neutrófilos).

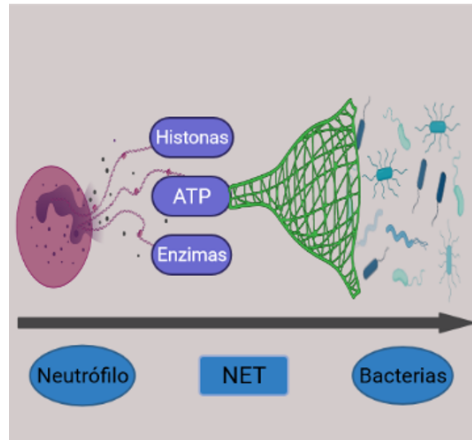


Figura 1. Esquema de la NETosis.

### ***Tipos de NETs***

Se han descrito dos tipos básicos de NET, la NETosis suicida y la NETosis vital, y actualmente, se investigan entre otros, la NETosis vital con liberación exclusiva de ADN mitocondrial y la NETosis inducida por plaquetas.

- *NETosis suicida*: requiere la presencia de especies reactivas de oxígeno (ROS) dependientes de NADPH, esto determina entrada masiva de calcio al neutrófilo y su lisis mediante la activación de la enzima peptidil arginina desaminasa 4 (PAD-4), que junto a la mieloperoxidasa y elastasa que se transportan al núcleo inducen condensación de la cromatina y liberan histonas para su posterior salida al medio extracelular.
- *NETosis vital*: Descrita en 2012, es más rápida (minutos) que la suicida (horas) y no requiere la presencia de ROS. Se produce



liberación de NETs manteniendo integridad de la membrana nuclear y plasmática, y por ende la capacidad fagocítica del neutrófilo. Sus desencadenantes usuales son los TLR y el receptor para la fracción del complemento C3, esto genera cambios conformacionales en la membrana nuclear, que permite la liberación de vesículas cargadas de ADN nuclear, que viaja a través del citoplasma y es liberado al espacio extracelular a través de la membrana celular.

- *NETosis vital con liberación de ADN mitocondrial*: Descrita en 2009, se activa mediante TLR-4 o del receptor del complemento C5a y es probablemente facilitada por ROS.
- *NETosis desencadenada por plaquetas*: no requiere ROS y depende de la glicoproteína IB plaquetaria y la integrina beta del neutrófilo e interviene también el factor de von Willebrand.

### ***Plaquetas y NETs en sepsis***

Las plaquetas activadas promueven el reclutamiento de neutrófilos en el sitio de la lesión y la formación de trampas extracelulares de neutrófilos (NET) que atrapan y ayudan a matar patógenos.

Recientemente, las histonas extracelulares se describieron como una causa de trombocitopenia en pacientes críticamente enfermos. Fuchs y col. demostraron que los NET, que son fibras de ADN extracelulares que comprenden histonas y proteínas antimicrobianas de los neutrófilos, se formaron a nivel endotelial en enfermedades infecciosas y no infecciosas. Informaron que las NETs proporcionaron

un hasta ahora desconocido estímulo para la formación de trombos, generando adhesión, activación y agregación plaquetaria, mientras que la formación de NETs en modelos animales causó una rápida y profunda trombocitopenia.

La agregación / adhesión plaquetaria a leucocitos y células endoteliales es un mecanismo común para un tipo de trombocitopenia llamada “trombocitopenia inmune” o “inmunotrombosis”. (Figura 2)

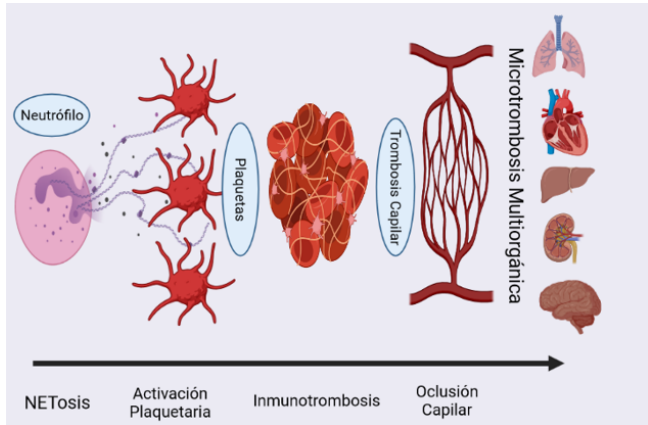


Figura 2. Interacción neutrófilos (NETosis) – plaquetas que desencadena inmunotrombosis y afectación de la microcirculación sistémica.

Además de su papel en la defensa del huésped, datos recientes sugieren que la formación de NETs contribuye a la fisiopatología de muchas enfermedades como diabetes, enfermedades autoinmunes, renales y trombocitopenia inducida por heparina. Sreeramkumar y col. informaron que los neutrófilos reclutados en vasos lesionados de un modelo animal de inflamación, interactuaron con plaquetas activadas y células endoteliales. Sus hallazgos muestran un mecanismo de

regulación rápido y eficiente en el proceso de inflamación temprana. Estas observaciones subrayan el papel crucial de las interacciones plaquetas-leucocitos que participan en la defensa contra las infecciones durante la inflamación y sepsis.

Se sabe que los receptores tipo Toll promueven la formación de NETs. Son una familia altamente conservada de receptores de reconocimiento de patrones (PRR) que se unen a patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP); moléculas que son ampliamente expresadas por muchos organismos infecciosos. Uno de los PAMP más estudiados es el lipopolisacárido (LPS), que es parte de la membrana bacteriana gramnegativa, y es un ligando TLR principal. Las plaquetas expresan numerosos miembros de la familia TLR, y al unirse con sus PAMPs, generan su activación, con liberación de IL-1 que induce la interacción plaquetaria con otras células y por vía TLR2, la expresión de moléculas de adhesión como la P-selectina y la integrina IIb3, además de la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la creación de agregados celulares compuestos de plaquetas y neutrófilos.

La sepsis crea un ambiente pro trombótico, al propiciar eventos celulares caóticos, que incluyen la activación plaquetaria, de células endoteliales y de células inmunes innatas, la formación de NETs y la producción de fibrina. (32,33). Estos eventos generan la ya citada “inmunotrombosis”, la misma que inicialmente representa un brazo de la inmunidad innata, cuyo objetivo es detener la diseminación y supervivencia de los patógenos, sin embargo, de forma desregulada

genera en gran medida de trombosis microvascular y disfunción multiorgánica.

Detallando lo ya escrito en líneas generales, las células del sistema inmune innato, fundamentalmente los monocitos y neutrófilos, son generadores de inmunotrombosis al acumularse en vasos de pequeño calibre; lacerando el endotelio (glicocáliz y células endoteliales) y propiciando la liberación de factor tisular (que activa al factor VII, e induce el inicio de la cascada de coagulación), destruyendo al sistema de anticoagulación natural y construyendo finalmente una matriz procoagulante que está constituida por nucleosomas extracelulares; en ésta matriz se adhieren y activan plaquetas que formarán coágulos y desencadenarán NETs, ésta vía determina lisis bacteriana a nivel de la microcirculación.

Los NETs son procoagulantes, de manera específica, activan al factor XII de la coagulación y eliminan sustancias claves del sistema anticoagulante natural, como, el inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI) y la trombomodulina.

En la actividad bactericida de la inmunotrombosis, la fibrina es crucial, ya que per se, tiene actividad antimicrobiana directa y limita la diseminación sistémica de patógenos. La red de fibrina atrapa y retiene microorganismos circulantes en la sangre (bacteremias). Hay varias vías de activación de la fibrina, una de ellas es mediante los nucleosomas extracelulares de NETs.

El factor XII se activa y se convierte en el factor XIIIa; al mismo tiempo, las histonas liberadas en los NETs pueden provocar la activación de plaquetas a través de los TLR2 y TLR4. Fuchs y col. fueron los primeros en demostrar que los NETs pudieron inducir el depósito de moléculas de adhesión de plaquetas y la conversión de fibrinógeno en fibrina.

En COVID-19, los neutrófilos pueden producir NETs de forma desregulada e intensa, con formación de trombos y amplificación de la producción de citocinas proinflamatorias, lo que agrava las manifestaciones clínicas de esta entidad, al promover la denominada “tormenta de citocinas”.

### ***Efectos de la netosis desregulada en la sepsis***

En la sepsis los neutrófilos deben llegar a los tejidos injuriados, esto lo logran mediante la interacción neutrófilos – células endoteliales, al interaccionar estas células, se libera IL-18 desde el endotelio, lo que en gran medida induce la formación de NETs, y éstos en exceso inducen daño endotelial. (Esto se ha demostrado al bloquear los NETs con inhibidores de la NADPH oxidasa o DNasa y observar disminución del daño endotelial.

Al desregularse la formación de NETs, hay una interacción nociva con las plaquetas, las mismas que se agregan masivamente, activan la trombina y generan fibrina, la alteración de este eje denominado NET-plaquetas-trombina, vuelve caótica la microcirculación gatillando trombosis microvascular difusa y coagulación intravascular

diseminada, que aceleran la llegada a la disfunción multiorgánica y condicionan mayor severidad clínica y mortalidad en estos pacientes.

Bloquear la producción de NETS mediante ADNasa mejoró la perfusión tisular al permeabilizar los capilares y disminuyó el daño multiorgánico.

Un hallazgo novedoso, es que se ha detectado NETosis extravascular, es decir, al migrar los neutrófilos a los tejidos, por ejemplo, en el epitelio alveolar de humanos y animales (perros y ratones) sépticos, mediante lavado broncoalveolar se detectó NETs e histonas, al administrar estas histonas en tejido alveolar sano, se indujo lesión inflamatoria, lo que sustenta el poder de daño de la NETosis no regulada. Añadido a lo escrito, las enzimas del neutrófilo que se expulsan durante la NETosis, como la elastasa y la serin proteasa daña el epitelio alveolar; la primera incrementando la permeabilidad de las células alveolares, lo que lleva a un desbalance hídrico, con acumulación de fluidos y mayor gravedad. Y la segunda destruyendo el surfactante, lo que incrementa las fuerzas de tensión superficial y conlleva a colapso alveolar.

### ***Enfoque traslacional y estrategias terapéuticas dirigidas a los NETs***

Actualmente, el tratamiento de la sepsis consiste en cuidados de apoyo y antibióticos, y ninguno se ha centrado en la respuesta del huésped, que es la principal causa de muerte en la sepsis. Aunque los neutrófilos muestran una función desregulada durante la sepsis, también tienen una mayor esperanza de vida, lo que les permite ser un objetivo terapéutico potencial.

Las estrategias terapéuticas dirigidas a los NETs se dirigen principalmente al componente de ADN: la ADNasa es la modalidad de tratamiento más frecuente. El tratamiento con ADNasa redujo los NETs, mejorando la lesión pulmonar y la supervivencia en un modelo murino de neumonía; aunque la administración temprana de ADNasa empeoró los resultados en el modelo CLP (ligadura y punción del ciego), el tratamiento combinado de antibióticos y ADNasa resultó en una mejor supervivencia, una reducción de la bacteriemia y una disfunción orgánica. Esto indica que las terapias combinadas que incluyen el tratamiento convencional y los fármacos dirigidos a los NETs pueden optimizar potencialmente la eficacia y el resultado del tratamiento en pacientes sépticos.

Se ha demostrado que la inhibición genética o farmacológica de otros factores de formación de NETs como PAD4 mejora la supervivencia. Sin embargo, dado que la formación de NET también es importante para el control de patógenos, cómo mantener una cantidad adecuada de NET para satisfacer la demanda de control bacteriano y también para prevenir lesiones tisulares se convierte en un área emergente para el descubrimiento de la terapia dirigida. La Cl-Amidina, un inhibidor de PAD4, no tuvo efecto sobre el nivel de complejos neutrófilos-ADN o el grado de inflamación pulmonar en un modelo de neumonía murina, pero investigaciones demostraron que esta previno la citrulinación de H3, la formación de NETs y mejoró la supervivencia en un modelo murino de sepsis polimicrobiana inducida por CLP. De manera similar,

los ratones con una deficiencia total de PAD4 (PAD4  $-/-$ ) demostraron una disminución de NETs y lesión pulmonar en el modelo de neumonía. Sin embargo, estos beneficios se vieron acompañados por una mayor carga bacteriana y una mayor inflamación sistémica. Es por esto que Lefrancais et al. desarrollaron un ratón con una deficiencia parcial de PAD4 (PAD4  $+/-$ ) que demostró una curva de supervivencia mejorada.

El bloqueo de componentes NETs, como las histonas, proporciona efectos beneficiosos sobre la supervivencia en el modelo animal, mientras que los ensayos clínicos aleatorizados a gran escala que evalúan la eficacia en pacientes humanos con sepsis no pudieron demostrar ningún beneficio clínico. Recientemente, se han probado otros inhibidores dirigidos a las histonas extracelulares, con resultados prometedores identificados. La cloroquina también ha sido eficaz como inhibidor temprano de los NETs, disminuyendo la NETosis y la hipercoagulabilidad asociada y mejorando la supervivencia en modelos murinos de adenocarcinoma pancreático y pancreatitis aguda.

Debido a que la interacción plaquetas-neutrófilos es crucial para que ocurra NETosis, la terapia antiplaquetaria también puede ser un campo interesante por ser investigado. La activación de las plaquetas requiere eicosanoides como el tromboxano A<sub>2</sub>; se ha demostrado que el bloqueo de la generación de tromboxano A<sub>2</sub> con el uso de ácido acetilsalicílico o aspirina disminuye la NETosis intravascular y la lesión tisular. Otros inhibidores que se dirigen a la interacción plaquetas-neutrófilos, como el receptor plaquetario de ADP, P<sub>2</sub>Y<sub>12</sub>, también



atenuaron la NETosis. Además, en varios estudios observacionales, se ha demostrado que la administración de terapia antiplaquetaria se asocia con un mejor resultado en pacientes con sepsis. Recientemente, se ha descubierto un tratamiento novedoso que estabiliza los NET para mejorar su capacidad de capturar bacterias y prevenir la liberación de compuestos antibacterianos que causan daño tisular. Los investigadores desarrollaron un anticuerpo que se une a complejos de NETs y factor plaquetario 4 (PF4), una proteína liberada por plaquetas activadas, que hace que los NETs resistan la degradación y mejore su capacidad para capturar bacterias. Cuando se administra en combinación con antibióticos, este tratamiento reduce significativamente la gravedad de la enfermedad, disminuye los niveles de bacterias que circulan en la sangre y mejora la supervivencia en el modelo de sepsis animal (Tabla 1).

Objetivo	Estrategia	Resultados	Referencias
NETs	ADNasa I	Efectivo cuando se combina con antibióticos para mejorar el resultado	<a href="#">Czai Koski y col. (2016)</a>
	Cl-Amidina	Previene la formación de NET y mejora la supervivencia en un modelo CLP de ratones	<a href="#">Biron y col. (2017)</a>
	Histona 3 anti-citrulinada	Reduce los TNE y mejora la supervivencia en un modelo CLP de ratones	<a href="#">Li y col. (2014)</a>
	Anti – TREM-1	Previene la NETosis y la disfunción endotelial asociada en un modelo LPS de ratones	<a href="#">Murao y col. (2020)</a> , <a href="#">Boufenzler et al. (2021)</a>

Histonas	Antihistona	Mejora el resultado en los modelos de ratones LPS, TNF y CLP	<a href="#">Meara y col. (2020)</a>
	Proteína C activada	Falló en la clínica	<a href="#">Marti-Carvajal y col. (2012)</a>
Plaquetas	Ácido acetilsalicílico	Disminuye la NETosis intravascular y la lesión tisular.	<a href="#">Caudrillier et al. (2012)</a>
	Anti-P2Y12	Previene la NETosis y mejora la supervivencia en ratones modelo CLP	<a href="#">Liverani y col. (2016)</a> , <a href="#">Mansour et al. (2020)</a>
	Factor antiplaquetario 4	Estabiliza los NET y previene la liberación de compuestos antibacterianos en modelo de ratones	<a href="#">Gollomp y col. (2020)</a>

Tabla 1. Resumen de las estrategias terapéuticas dirigidas a los NETs

## **CONCLUSIONES**

La NETosis es una más de las propiedades antimicrobianas de los neutrófilos al activarse la inmunidad innata, al interactuar de forma coordinada con las plaquetas, suman un mecanismo eficiente de lisis de microorganismos; sin embargo, al desregularse pueden caotizar la microcirculación por inmutrombosis y acelerar la progresión al fallo orgánico múltiple. Entender la fisiopatología de esta interacción puede generar importantes blancos terapéuticos con el fin de ofrecer alternativas farmacológicas en la sepsis y otras entidades nosológicas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). *JAMA*. (2016) 315:801–10. doi: 10.1001/jama.2016.0287 CrossRef Full Text | Google Scholar
- Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NK, Hartog CS, Tsaganos T, Schlattmann P, et al. Assessment of global incidence and mortality of hospital-treated sepsis. current estimates and limitations. *Am J Respir Crit Care Med*. (2016) 193:259–72. doi: 10.1164/rccm.201504-0781OC
- Aziz M, Jacob A, Yang WL, Matsuda A, Wang P. Current trends in inflammatory and immunomodulatory mediators in sepsis. *J Leukoc Biol*. (2013) 93:329–42. doi: 10.1189/jlb.0912437
- Cabrera-Perez J, Badovinac VP, Griffith TS. Enteric immunity, the gut microbiome, and sepsis, Rethinking the germ theory of disease. *Exp Biol Med*. (2017) 242:127–39. doi: 10.1177/1535370216669610
- Gentile LF, Moldawer LL. DAMPS, PAMPS and the origins of SIRS in bacterial sepsis. *Shock*. (2013) 39:113– 4. doi: 10.1097/SHK.0b013e318277109c
- Takeuchi O, Akira, S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell*. (2010) 140:805–20. doi: 10.1016/j.cell.2010.01.022

- Kolaczowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol.* (2013) 13:159–75. doi: 10.1038/nri3399
- Papayannopoulos V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease. *Nat Rev Immunol.* (2018) 18:134–47. doi: 10.1038/nri.2017.105
- Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science.* (2004) 303:1532–5. doi: 10.1126/science.1092385
- Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science.* (2004) 303:1532–5. doi: 10.1126/science.1092385  
PubMed Abstract | CrossRef Full Text | Google Scholar
- Brinkmann V. Neutrophil extracellular traps in the second decade. *J Innate Immun.* (2018) 10:414–21. doi: 10.1159/000489829  
PubMed Abstract | CrossRef Full Text | Google Scholar
- Boone BA, Orlichenko L, Schapiro NE, Loughran P, Gianfrate GC, Ellis JT, et al. The receptor for advanced glycation end products (RAGE) enhances autophagy and neutrophil extracellular traps in pancreatic cancer. *Cancer Gene Ther.* (2015) 22:326–34. doi: 10.1038/cgt.2015.21  
PubMed Abstract | CrossRef Full Text | Google Scholar
- Yipp BG, Kubes P. NETosis: how vital is it? *Blood.* (2013) 122:2784–94. doi: 10.1182/blood-2013-04-457671  
PubMed

- Yang H, Biermann MH, Brauner JM, Liu Y, Zhao Y, Herrmann M. New insights into neutrophil extracellular traps: mechanisms of formation and role in inflammation. *Front Immunol.* (2016) 7:302. doi: 10.3389/fimmu.2016.00302
- Delgado-Rizo V, Martinez-Guzman MA, Iniguez-Gutierrez L, Garcia-Orozco A, Alvarado-Navarro A, Fafutis-Morris M. Neutrophil extracellular traps and its implications in inflammation: an overview. *Front Immunol.* (2017) 8:81. doi: 10.3389/fimmu.2017.00081
- Yipp BG, Petri B, Salina D, Jenne CN, Scott BN, Zbytniuk LD, et al. Infection-induced NETosis is a dynamic process involving neutrophil multitasking in vivo. *Nat Med.* (2012) 18:1386–93. doi: 10.1038/nm.2847
- Manda, Pruchniak MP, Arazna M, Demkow UA. Neutrophil extracellular traps in physiology and pathology. *Cent Eur J Immunol.* (2014) 39:116–21. doi: 10.5114/ceji.2014.42136
- de Buhr N, von Köckritz-Blickwede M. How neutrophil extracellular traps become visible. *J Immunol Res.* (2016) 2016:4604713. doi: 10.1155/2016/4604713
- Yousefi S, Mihalache C, Kozłowski E, Schmid I, Simon HU. Viable neutrophils release mitochondrial DNA to form neutrophil extracellular traps. *Cell Death Differ.* (2009) 16:1438–44. doi: 10.1038/cdd.2009.96

- Carestia A, Kaufman T, Rivadeneyra L, Landoni VI, Pozner RG, Negrotto S, et al. Mediators and molecular pathways involved in the regulation of neutrophil extracellular trap formation mediated by activated platelets. *J Leukoc Biol.* (2016) 99:153–62. doi: 10.1189/jlb.3A0415-161R
- Grommes, J.; Alard, J.-E.; Drechsler, M.; Wantha, S.; Mörgelin, M.; Kuebler, W.M.; Jacobs, M.; von Hundelshausen, P.; Markart, P.; Wygrecka, M.; et al. Disruption of platelet-derived chemokine heteromers prevents neutrophil extravasation in acute lung injury. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2012, 185, 628–636. [CrossRef] [PubMed]
- Ma, A.C.; Kubes, P. Platelets, neutrophils, and neutrophil extracellular traps (NETs) in sepsis. *J. Thromb. Haemost.* 2008, 6, 415–420. [CrossRef] [PubMed]
- Alhamdi, Y.; Toh, C.-H. The role of extracellular histones in haematological disorders. *Br. J. Haematol.* 2016, 173, 805–811. [CrossRef]
- Fuchs, T.A.; Brill, A.; Duerschmied, D.; Schatzberg, D.; Monestier, M.; Myers, D.D.; Wroblewski, S.K.; Wakefield, T.W.; Hartwig, J.H.; Wagner, D.D. Extracellular DNA traps promote thrombosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2010, 107, 15880–15885. [CrossRef]
- Zhu, L.; Liu, L.; Zhang, Y.; Pu, L.; Liu, J.; Li, X.; Chen, Z.; Hao, Y.; Wang, B.; Han, J.; et al. High Level of Neutrophil

Extracellular Traps Correlates With Poor Prognosis of Severe Influenza A Infection. *The Journal of Infectious Diseases* 2018, 217, 428–437. [CrossRef] [PubMed]

- McDonald, B.; Davis, R.P.; Kim, S.-J.; Tse, M.; Esmon, C.T.; Kolaczowska, E.; Jenne, C.N. Platelets and neutrophil extracellular traps collaborate to promote intravascular coagulation during sepsis in mice. *Blood* 2017, 129, 1357–1367. [CrossRef] [PubMed]
- Fadini, G.P.; Menegazzo, L.; Rigato, M.; Scattolini, V.; Poncina, N.; Bruttocao, A.; Ciciliot, S.; Mammano, F.; Ciubotaru, C.D.; Brocco, E.; et al. NETosis Delays Diabetic Wound Healing in Mice and Humans. *Diabetes* 2016, 65, 1061–1071. [CrossRef] *Int. J. Mol. Sci.* 2019, 20, 3494 11 of 13
- Gupta, S.; Kaplan, M.J. The role of neutrophils and NETosis in autoimmune and renal diseases. *Nat. Rev. Nephrol.* 2016, 12, 402–413. [CrossRef] [PubMed]
- Perdomo, J.; Leung, H.H.L.; Ahmadi, Z.; Yan, F.; Chong, J.J.H.; Passam, F.H.; Chong, B.H. Neutrophil activation and NETosis are the major drivers of thrombosis in heparin-induced thrombocytopenia. *Nat. Commun.* 2019, 10, 1322. [CrossRef] [PubMed]
- Sreeramkumar, V.; Adrover, J.M.; Ballesteros, I.; Cuartero, M.I.; Rossaint, J.; Bilbao, I.; Náchter, M.; Pitaval, C.; Radovanovic, I.; Fukui, Y.; et al. Neutrophils scan for activated platelets to initiate



- inflammation. *Science* 2014, 346, 1234–1238. [CrossRef] [PubMed]
- Blair, P.; Rex, S.; Vitseva, O.; Beaulieu, L.; Tanriverdi, K.; Chakrabarti, S.; Hayashi, C.; Genco, C.A.; Iafrati, M.; Freedman, J.E. Stimulation of Toll-like receptor 2 in human platelets induces a thromboinflammatory response through activation of phosphoinositide 3-kinase. *Circ. Res.* 2009, 104, 346–354. [CrossRef] [PubMed]
  - McDonald, B.; Urrutia, R.; Yipp, B.G.; Jenne, C.N.; Kubes, P. Intravascular Neutrophil Extracellular Traps
  - Capture Bacteria from the Bloodstream during Sepsis. *Cell Host Microbe* 2012, 12, 324–333. [CrossRef][PubMed]
  - Semeraro, F.; Ammollo, C.T.; Morrissey, J.H.; Dale, G.L.; Friese, P.; Esmon, N.L.; Esmon, C.T. Extracellular
  - histones promote thrombin generation through platelet-dependent mechanisms: Involvement of platelet
  - TLR2 and TLR4. *Blood* 2011, 118, 1952–1961. [CrossRef] [PubMed]
  - Engelmann, B.; Massberg, S. Thrombosis as an intravascular e\_ector of innate immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 2012, 13, 34–45. [CrossRef] [PubMed]
  - Camicia, G.; Pozner, R.; de Larrañaga, G. Neutrophil extracellular traps in sepsis. *Shock* 2014, 42, 286–294. [CrossRef]
  - von Brühl, M.L.; Stark, K.; Steinhart, A.; Chandraratne, S.;

- Konrad, I.; Lorenz, M.; Khandoga, A.; Tirniceriu, A.; Coletti, R.; Köllnberger, M.; et al. Monocytes, neutrophils, and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice in vivo. *J. Exp. Med.* 2012, 209, 819–835. [CrossRef]
- Massberg, S.; Grahl, L.; von Bruehl, M.L.; Manukyan, D.; Pfeiler, S.; Goosmann, C.; Brinkmann, V.; Lorenz, M.; Bidzhekov, K.; Khandagale, A.B.; et al. Reciprocal coupling of coagulation and innate immunity via neutrophil serine proteases. *Nat. Med.* 2010, 16, 887–896. [CrossRef]
  - Zinsser, H.; Pryde, AW. Experimental study of physical factors, including fibrin formation, influencing the spread of fluids and small particles within and from the peritoneal cavity of the dog. *Ann. Surg.* 1952, 136, 818–827. [CrossRef]
  - Engelmann, B. Extracellular DNA and histones as thrombus stabilizer. *Thromb. Haemost.* 2015, 113, 1164. [PubMed]
  - Xu, J.; Zhang, X.; Monestier, M.; Esmon, N.L.; Esmon, C.T. Extracellular histones are mediators of death through TLR2 and TLR4 in mouse fatal liver injury. *J. Immunol.* 2011, 187, 2626–2631. [CrossRef] [PubMed]
  - Fajgenbaum D, June, C. Cytokine Storm. *N Engl J Med* 2020; 383:2255-2273 DOI: 10.1056/NEJMra2026131
  - Lerman YV, Kim M. Neutrophil Migration under normal and sepsis conditions. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets.* (2015) 15:19–28. doi: 10.2174/1871529X15666150108113236

- Gupta K, Joshi MB, Philippova M, Erne P, Hasler P, Hahn S, Resink TJ. Activated endothelial cells induce neutrophil extracellular traps and are susceptible to NETosis-mediated cell death. *FEBS Lett.* (2010) 584:3193–7. doi: 10.1016/j.febslet.2010.06.006
- Kimball S, Obi AT, Diaz JA, Henke PK. The emerging role of NETs in venous thrombosis and immunothrombosis. *Front Immunol.* (2016) 7:236. doi: 10.3389/fimmu.2016.00236
- Martinod K, Wagner DD. Thrombosis: tangled up in NETs. *Blood.* (2014) 123:2768–76. doi: 10.1182/blood-2013-10-463646
- Delabranche X, Stiel L, Severac F, Galois AC, Mauvieux L, Zobairi F, et al. Evidence of netosis in septic shock-induced disseminated intravascular coagulation. *Shock.* (2017) 47:313–17. doi: 10.1097/SHK.0000000000000719
- McDonald A, Davis RP, Kim SJ, Tse M, Esmon CT, Kolaczowska E, et al. Platelets and neutrophil extracellular traps collaborate to promote intravascular coagulation during sepsis in mice. *Blood.* (2017) 129:1357–67. doi: 10.1182/blood-2016-09-741298
- Yang S, Qi H, Kan K, Chen J, Xie H, Guo X, et al. Neutrophil extracellular traps promote hypercoagulability in patients with sepsis. *Shock.* (2017) 47:132–9. doi: 10.1097/SHK.0000000000000741
- Mikacenic A, Moore R, Dmyterko V, West TE, Altemeier WA, Liles WC, et al. Neutrophil extracellular traps (NETs)

are increased in the alveolar spaces of patients with ventilator-associated pneumonia. *Crit Care*. (2018) 22:358. doi: 10.1186/s13054-018-2290-8

- Li RH L, Johnson LR, Kohen C, Tablin F. A novel approach to identifying and quantifying neutrophil extracellular trap formation in septic dogs using immunofluorescence microscopy. *BMC Vet Res*. (2018) 14:210. doi: 10.1186/s12917-018-1523-z
- Bosmann M, Grailer JJ, Ruemmler R, Russkamp NF, Zetoune FS, Sarma JV, et al. Extracellular histones are essential effectors of C5aR- and C5L2- mediated tissue damage and inflammation in acute lung injury. *FASEB J*. (2013) 27:5010–21. doi: 10.1096/fj.13-236380
- Peterson MW, Walter ME, Nygaard SD. Effect of neutrophil mediators on epithelial permeability. *Am J Respir Cell Mol Biol*. (1995) 13:719–27. doi: 10.1165/ajrcmb.13.6.7576710
- Li RHL, Tablin F. A comparative review of neutrophil extracellular traps in sepsis. *Front Vet Sci*. (2018) 5:291. doi: 10.3389/fvets.2018.00291



# **ROL DE LOS RECEPTORES TIPO TOLL EN LA SEPSIS**

---

## **Capítulo 2**

Santiago Xavier Aguayo Moscoso. MD

Laisa Micaela Lascano Cañas

# ROL DE LOS RECEPTORES TIPO TOLL EN LA SEPSIS

## RESUMEN

La sepsis es una afectación potencialmente mortal como resultado de la respuesta de nuestro cuerpo a una infección. Demanda un reconocimiento rápido y el uso de terapéutica (por ejemplo, antibióticos), apoyo hemodinámico y control del sitio de infección. Una vez que un microorganismo ingresa a nuestro cuerpo, éste tiene que reconocerlo y empezar la defensa en esta batalla.

Este reconocimiento lo realiza a través unos receptores: tipo Toll, que son glucoproteínas integrales, con dominios intracelulares y endoplásmicos. Están distribuidos en los tejidos corporales y se expresan en células inmunes y no inmunes. Una vez realizada la identificación de estos patógenos, comienza una cadena de eventos moleculares que finalizan con la producción de citocinas proinflamatorias.

Se han estudiado a estos receptores en muchas entidades, y veremos cómo es su relación con la sepsis y su potencial terapéutico a este nivel.

**Palabras clave:** sepsis, receptores tipo Toll, inmunidad (DeCS-BIREME).

## ABSTRACT

Sepsis is a life-threatening condition resulting from our body's response to infection. It demands rapid recognition and use of therapeutics

(e.g. antibiotics), hemodynamic support, and control of the infection site. Once a microorganism enters our body, it has to recognize it and start the defense in this battle.

This recognition is carried out through receptors: Toll type, which are integral glycoproteins, with intracellular and endoplasmic domains. They are distributed in body tissues and are expressed in immune and non-immune cells. Once the identification of these pathogens has been carried out, a chain of molecular events begins that ends with the production of pro-inflammatory cytokines.

These receptors have been studied in many entities, and we will see their relationship with sepsis and their therapeutic potential at this level.

**Keywords:** sepsis, toll-like receptors, immunity (MeSH-NLM)

## **INTRODUCCIÓN**

La sepsis es una disfunción orgánica desencadenada por una respuesta desregulada del huésped a la infección, con una mortalidad importante a nivel hospitalario.

Para entender la fisiopatología de la sepsis, resulta importante conocer como nuestro cuerpo reconoce a los agentes externos. Tal es así, que existen unos receptores tipo Toll (TLR), que forman parte del sistema inmunológico innato y son fundamentales en la defensa de nuestro organismo.

Realizaremos una revisión de los TLR, cómo es su estructura, las

moléculas que detectan, cómo identificarlos y finalizando con el potencial terapéutico que se está investigando.

### *Un poco de historia*

Las enfermedades infecciosas han sido una de las principales causas de muerte de la humanidad. Los antiguos conocían la toxicidad de las infecciones sistémicas, y la palabra sepsis (del griego sepsios, “podrido”) se refiere a la descomposición de la materia animal, vegetal u orgánica en presencia de bacterias. Nombres como Hipócrates, Galeno, Semmelweiss, Pasteur o Fleming, iniciaron al entendimiento de esta entidad. De destacar, que, en 1785, Eugenio Espejo en su libro “Reflexiones sobre las viruelas” describe: “Si se pudieran apurar más las observaciones microscópicas [...] quizá encontraríamos en la incubación, desarrollamiento, situación, figura, movimiento y duración de estos corpúsculos movibles, la regla que podría servir a explicar toda la naturaleza, grados, propiedades y síntomas de todas las fiebres epidémicas, y en particular de la viruela”. La búsqueda del origen de las cosas, ha llevado al ser humano, a investigar estos fenómenos y categorizarlos a través de la etiología, fisiopatología (toxinas y mediadores), diagnóstico, para poder llegar a un tratamiento efectivo.

A fines del siglo XIX, se creía que los microbios producían sustancias que podían dañar al huésped y que las toxinas liberadas durante la infección causaban fiebre y shock. El término endotoxina fue utilizado por Pfeiffer en los primeros años del siglo XX. En la década de 1940 se determinó que la mayoría de los organismos Gram negativos,



expresaban las endotoxinas, a través de los lipopolisacáridos (LPS) de las endotoxinas entéricas.

Posteriormente, se realizaron investigaciones, incluso con sujetos humanos normales, a los cuales se les administraba dosis pequeñas de LPS, lo que obviamente inducía un síndrome similar a la sepsis.

Esa búsqueda incesante formuló la pregunta ¿cómo interactúa el huésped y el microorganismo?

### ***Activación del sistema inmune frente a un agente infeccioso***

Una vez que un microorganismo entra al cuerpo, se establece una interrelación con el huésped, activando el sistema inmunológico. Pero, ¿cómo nuestro cuerpo es capaz de reconocer a un agente externo?

Janeway en 1989, propuso la existencia de receptores expresados por células inmunes innatas responsables de detectar productos de origen microbiano.

Por lo tanto, se determinó que un componente del sistema inmunitario innato posee receptores de reconocimiento de patrones (PRRs) responsables de reconocer y responder al peligro. Los PRRs son numerosos y se expresan en una amplia gama de células inmunes y no inmunes, como son los patrones moleculares asociados con patógenos (PAMPs). Por otro lado, Matzinger planteaba la “Teoría del peligro”: durante el daño tisular, las moléculas endógenas son liberadas e inician la respuesta inflamatoria, que capacita a las células presentadoras de antígeno para activar la respuesta inmune adaptativa. Estas moléculas se conocen como patrones moleculares asociados al daño (DAMPs). (9,10) (Figura 1).

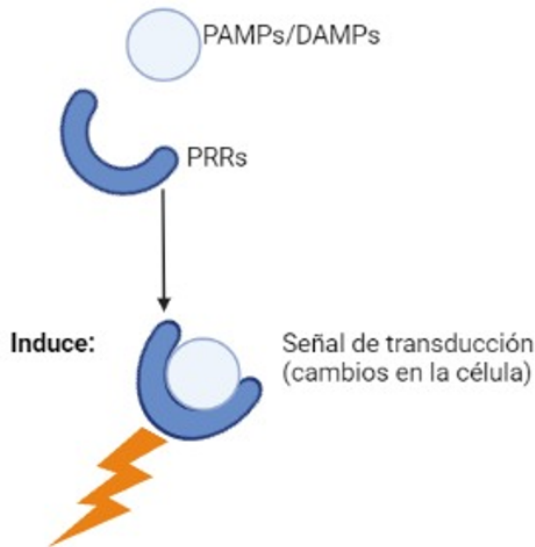


Figura 1. Reconocimiento de los PAMPs/DAMPs por los PRRs

Se reconocen cuatro clases principales de PRRs:

- Receptores de tipo Toll (TLR)
- Receptores de tipo NOD (NLR)
- Receptores de tipo RIG (RLR)
- Receptores de lectina tipo C (CLR).

### ***TLR y sistema del complemento***

Pero los TLR no trabajan solos. Tanto los TLR como el complemento son sistemas de defensa innatos clave que se activan rápidamente tras la infección. La cascada del complemento se desencadena por distintos mecanismos (clásico, lectina o alternativo) que convergen en el tercer componente (C3) y conducen a la generación de diversas funciones (por ej.: opsonización). Varios productos microbianos pueden activar

el complemento además de iniciar la señalización de TLR, lo que conduce a interacciones sinérgicas o antagonistas. Las vías sinérgicas pueden mejorar la sensibilidad de detección y combinarse para provocar una respuesta inmune robusta. Por el contrario, las vías antagonistas pueden aumentar la especificidad de la respuesta del huésped al controlarla y prevenir el daño tisular. Además, los mismos receptores del complemento que pueden regular la señalización de TLR (por ejemplo, CR3, C5aR, gC1qR y CD46) pueden ser secuestrados por patógenos bacterianos o virales para sesgar la respuesta del huésped de manera que interfiera con la inmunidad protectora.

### ***Receptores tipo TOLL***

En esta parte, repasaremos los TLR: su descubrimiento, estructura, miembros de la familia TLR y distribución, ligandos, las vías de señalización y su función.

#### ***Descubrimiento***

Los TLR recibieron su nombre por su parecido con la proteína fundamental para el desarrollo del eje dorsal-ventral del embrión de la *Drosophila* en 1985 por Christiane Nüsslein-Volhard. Observó un fenotipo extraño en las larvas de moscas mutantes y exclamó: “¡Das war ja toll!” (alemán) que significa “¡Eso es genial!”, por lo que se le dio el nombre de Toll a la proteína. Posteriormente se descubrió que la proteína codificada por el gen “Toll” servía como receptor en las células y esta proteína ayudaba para la inmunidad innata contra la infección por hongos en moscas adultas.

## ***Estructura***

Los TLR, son proteínas transmembrana de tipo I, en donde se han identificado tres dominios (Figura 2):

- Un dominio extracelular que consta de repeticiones ricas en leucina (LRR) que con su superficie curva determina qué ligando puede unirse
- Un dominio transmembrana
- Un dominio intracelular, que contiene un receptor Toll/IL-1 (TIR). Los receptores del dominio TIR, proporcionan el andamio interno inicial para la interacción con la cascada de señalización.

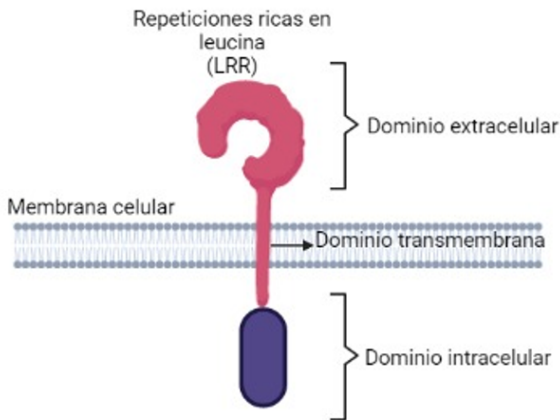


Figura 2. Estructura del TLR

## ***Miembros de la familia TLR y distribución***

Existen 10 miembros TLR en el ser humano, los cuales se encuentran dentro de la membrana celular o en los compartimentos intracelulares (retículo endoplásmico, endosomas, lisosomas). La expresión del

ARNm de los TLR no solo está en los tejidos inmunes (bazo, timo o ganglios linfáticos), sino que se distribuye en todos los tejidos (corazón, hígado, páncreas, o pulmón). Los TLR se expresan en todas las células inmunitarias innatas (macrófagos, células NK, células dendríticas, monocitos y neutrófilos) células inmunitarias adaptativas (linfocitos T y B) además de células epiteliales, endoteliales y fibroblastos. Funcionalmente, los TLR se subdividen en:

- TLR de membrana celular: TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6 y TLR10
- TLR intracelulares: TLR3, TLR7, TLR8 y TLR9

### ***Ligandos que se unen a los TLR***

Como se mencionó previamente, los TLR reconocen patrones moleculares: PAMPs, dentro de este grupo están LPS, ácido lipoteicoico de bacteria Gram positiva, peptidoglicano (PGN), lipopéptidos micobacterianos, zimósán de levadura, ARN viral y bacteriano y ADN de citosina fosfato de guanina (CpG) no metilado; así como DAMPs: estructuras de los orgánulos, matriz extracelular, proteínas citosólicas y nucleares, fragmentos de ácido hialurónico y ácidos grasos libres. Cualquiera de estos elementos, son los que se unen a los TLR e inician la señalización celular.

### ***Vías de señalización de los TLR***

Esta unión (ligando–TLR), activa señales intracelulares para comenzar la defensa del huésped. El reconocimiento microbiano de TLR además facilita la dimerización del mismo. El TLR2 se heterodimeriza

con TLR1 o TLR6, pero en otras situaciones se cree que los TLR se homodimerizan. La dimerización de los TLR desencadena la activación de las vías de señalización. La señalización del TLR depende de la naturaleza del estímulo, el TLR activado y la molécula adaptadora. Al menos dos vías distintas incluye la señalización del TLR:

- Vía dependiente de MyD88 (factor de diferenciación mieloide 88): utilizada por todos los TLR, excepto TLR3, que conduce a la producción de citocinas inflamatorias
- Vía dependiente de TRIF (adaptador que contiene el dominio TIR e induce IFN- $\beta$ ): utilizada por TLR3 y 4, asociada con la estimulación del interferón tipo 1

### ***Función de los TLR***

Los TLR tienen la capacidad de reconocer los PAMPs/DAMPs y mediar las respuestas inmunitarias. Una vez que se activan las vías de señalización, los TLR reclutan proteínas adaptadoras que actúan como una plataforma, en donde intervienen proteína quinasas asociadas a IL-1R (IRAK), factor 6 asociado al receptor de TNF (TRAF6) que finalmente conduce a la translocación nuclear del factor nuclear kappa-B (NF- $\kappa$ B), proteína activadora 1 (AP-1) y el factor regulador de interferón 3 (IRF3). Cada factor de transcripción codifica diferentes conjuntos de proteínas como las citocinas proinflamatorias (factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina (IL) -1 $\beta$  e IL-6) e interferón tipo 1 (IFN- $\alpha$ ,  $\beta$ ), quimiocinas y péptidos antimicrobianos. Estas citocinas actúan sobre diferentes tejidos para generar la respuesta

sistémica y producir las manifestaciones clínicas de la sepsis (Figura 3).

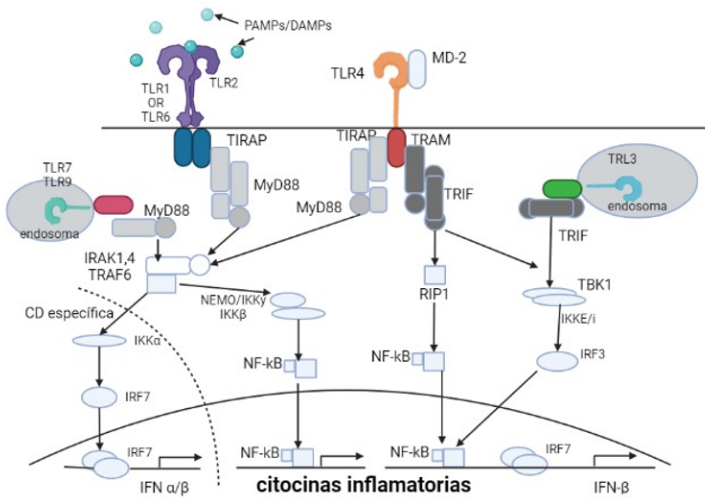


Figura 3. Vías de señalización de los TLR

El descubrimiento de los TLR fue un evento importante, por lo que obtuvieron el Premio Nobel de Medicina en 2011 Hoffmann y Beutler, quienes, junto con Steinman (quien descubrió la célula dendrítica), fueron pioneros en el campo de la inmunidad innata.

### ***Sepsis***

La sepsis es una disfunción orgánica potencialmente mortal causada por una respuesta desregulada del huésped a la infección. Los TLR reconocen diferentes PAMPs, que detectan la mayoría de los organismos infecciosos, como bacterias, hongos, parásitos y virus. En esta parte, revisaremos cómo algunos de estos microorganismos se relacionan con los TLR.

## ***Sepsis bacteriana***

Las bacterias son los organismos más frecuentes responsables de la sepsis. En la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) los gérmenes Gram negativos y Gram positivos son responsables del 67% y 37% de los casos respectivamente.

Las bacterias tienen algunos componentes que son reconocidos por los TLR. TLR2 actúa mientras se dimeriza con TLR1 o TLR6. El heterodímero TLR2-TLR1 reconoce lipopéptidos de micoplasmas o bacterias Gram negativas, mientras que el heterodímero TLR2-TLR6 reconoce también lipopéptidos de micoplasmas y bacterias Gram positivas. TLR4 es activado por LPS que es el principal componente molecular de la pared celular de las bacterias Gram negativas. TLR5 reconoce el componente de la proteína flagelina de las bacterias. TLR9 reconoce el ADN derivado de bacterias y de virus también. Veamos a continuación como los TLR interactúan con algunos patógenos específicos.

Las células epiteliales de las vías respiratorias sirven como la primera barrera contra los gérmenes, a este nivel, el nivel de expresión de TLR2 y TLR4 en estas células es bajo en condiciones fisiológicas. En caso de infección por *Klebsiella pneumoniae* aumenta la expresión de TLR en las células epiteliales de las vías respiratorias humanas. En estudios en ratones, se ha determinado que TLR2 y TLR4 desempeñan funciones cooperativas en las respuestas inmunitarias innatas de los pulmones, secundaria a la infección por *K. pneumoniae*.



En el estudio realizado por Chatzi, se evaluó el potencial de cuatro polimorfismos de TLR (TLR2-Arg753Gln, TLR4-Asp299Gly, TLR4-Thr399Ile y TLR9-T1237C) y su predisposición a infecciones adquiridas en la UCI. Encontraron que los polimorfismos de TLR4 se asociaron con infecciones Gram negativas del sistema nervioso central (SNC), neumonía asociada a la ventilación e infecciones de vías urinarias (IVU), principalmente debido a organismos multirresistentes (*Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella*). El polimorfismo TLR9-T1237C se asoció con una menor incidencia y menos recaídas de infección de SNC y de IVU. La estancia en la UCI se prolongó con los polimorfismos TLR4.

TLR8 es un sensor endosómico que reconoce patógenos bacterianos y virales. Se ha determinado el papel de un antagonista de TLR8 en infecciones por *S. aureus*, *S. agalactiae*, *S. pneumoniae*, *P. aeruginosa* y *E. coli*. Se ha determinado que este inhibidor bloquea completamente la producción de citocinas en monocitos estimulados con agonistas de TLR8, pero no con agonistas de TLR2 y TLR4.

TLR2, 4 y 9 intervienen en el reconocimiento y respuesta de *A. baumannii*, a través de la detección de lipoproteínas, PGN, porinas, ácido lipoteicoico (TLR2), lipooligosacáridos (TLR4) y motivos de ADN CpG no metilado (TLR9). La señalización del receptor TLR2 y TLR4 conduce a la activación de NF- $\kappa$ B a través de MyD88, lo que da como resultado la activación transcripcional y la síntesis de una variedad de citocinas y quimiocinas. Con respecto al TLR9, siendo

un receptor interno del endolisosoma, responsable de la detección de ADN bacteriano, su estimulación promueve la activación de NF-kB y las respuestas de citocinas proinflamatorias.

Los receptores inmunes innatos pueden responder a varios PAMPs presentes en la superficie celular de *P. aeruginosa*. El LPS activa el receptor TLR4, el TLR5 es activado por la flagelina de *P. aeruginosa*, que ocurre una vez que las bacterias acceden a la superficie basolateral del epitelio donde se expresa el receptor y el ADN CpG bacteriano no metilado estimula el TLR9. En un estudio en ratones se estableció el papel de TLR7 en la neumonía por *P. aeruginosa*: la expresión de TLR7 se elevó después de la infección, mientras que el uso de un antagonista de TLR7 suprimió la producción de citocinas proinflamatorias e indujo la producción de citocinas antiinflamatorias en los pulmones de los ratones. Tomando en cuenta estos hallazgos, un antagonista de TLR7 podría ser un objetivo terapéutico para tratar casos de neumonía por *P. aeruginosa*.

Nachtigall determinó que el polimorfismo de los genes de TLR2 y TLR4 en pacientes críticos afecta a sus desenlaces: encontró un tiempo de aparición más corto de sepsis o shock séptico en ambos polimorfismos.

### ***Sepsis fúngica***

En UCI, se ha reportado una incidencia de microorganismos fúngicos en el 16% de pacientes(25). Estos gérmenes tienen una composición de polímeros de carbohidratos intercalados con glicoproteínas. Algunas

especies de hongos tienen la capacidad de presentar diferentes formas dependiendo de la temperatura en la que se encuentren, es decir, presentan dimorfismo térmico, lo que puede facilitar la evasión de la respuesta inmune y la diseminación en el hospedador. Dependiendo del morfotipo, conidios o levaduras, etapa de crecimiento y de la especie, el hongo puede expresar diferentes PAMPs en la superficie, que serán reconocidos por las células del sistema inmunológico.

Los PRRs detectan varios componentes de la pared celular de los hongos, como  $\beta$ -glucanos, mananos, manoproteínas y quitina, así como ARN y ADN. Después de la unión del ligando, los PRRs desencadenan las respuestas inmunes iniciando varias cascadas de señalización que dan como resultado la internalización fúngica a través de la fagocitosis, la producción de citocinas y/o la producción de especies reactivas de nitrógeno y oxígeno (ROS).

Hace un cuarto de siglo se identificó que los TLR tienen la capacidad para controlar las infecciones fúngicas en *Drosophila*. Esto motivó su estudio en la defensa del huésped contra patógenos micóticos. Se ha demostrado que TLR2 induce la apoptosis de monocitos inducida por *C. albicans* mediante la activación de caspasas. Los polimorfismos de unión de TLR2 con TLR1 y TLR6, se han asociado con la susceptibilidad a la aspergilosis invasiva. TLR4 reconoce cadenas de la pared celular de *C. albicans*, al acoplarse a los adaptadores MyD88 y TRIF para iniciar las cascadas de señalización que culminan en la inducción de citocinas.

Además, existe el reconocimiento de TLR endosomales que inducirá el reclutamiento de diferentes proteínas adaptadoras al comienzo de la señalización. En la aspergilosis, el papel de TLR3 en las células dendríticas es importante tanto para su maduración como para la producción de IFN tipo I. En los seres humanos, el polimorfismo de un solo nucleótido de TLR3 determina una aspergilosis más invasiva.

El reconocimiento de ARN de *Candida* por TLR7 demostró ser crucial para inducir la respuesta de IFN de tipo I, ya que participa en la polarización de la respuesta inmune adaptativa, induciendo la diferenciación de las células T helper. Además, la capacidad de estimular el reclutamiento fagosómico de TLR9 se ha estudiado en distintos grupos de hongos: *A. fumigatus*, *C. albicans*, *S. cerevisiae*, *M. furfur* y *C. neoformans*.

### ***Sepsis por parásitos***

Algunas de las infecciones parasitarias por protozoos y helmintos son la principal causa de muerte y pérdidas económicas en países subdesarrollados o en vías de desarrollo. La exposición frecuente a parásitos, la inmigración, los refugiados, la inmunodeficiencia, el cambio climático son la principal causa de aparición de estos patógenos.

Diferentes PAMPs de protozoos inducen reacciones patogénicas a través de la vía de señalización TLR. Revisemos algunos casos parasitarios:

El paludismo causa 229 millones de casos en todo el mundo. La mayoría de las muertes son debidas a la infección por *Plasmodium falciparum*, que es un parásito protozooario intracelular, transmitido por la picadura del mosquito *Anopheles*(40). Los parásitos de la malaria tienen inmunomoduladores potenciales: 1) anclajes de glicosil fosfatidil inositol plasmodial (GPI), 2) hemozoína y 3) ADN plasmodial. El homodímero de TLR4 y el heterodímero de TLR2-TLR1 y TLR4-TLR6 pueden unirse a los GPI liberados durante la fase eritrocítica de la infección por *P. falciparum*, que induce la liberación de citocinas. La hemozoína se libera durante cada ciclo de vida de la infección por *P. falciparum* y forma un complejo con el ADN plasmodial. Este complejo actúa como ligando de TLR9 y conduce a la producción de citocinas proinflamatorias (TNF $\alpha$  e IL-1 $\beta$ ).

Otros parásitos que se han estudiado, se comentarán de una manera breve:

**Leishmaniasis:** La superficie de la *Leishmania* está cubierto de moléculas que varían según la etapa de desarrollo del parásito. Está compuesto por fosfolípidos de glicoinositol, lipofosfoglicanos y la glicoproteína gp63. Toda la estructura es específica de la especie y constituye los primeros antígenos que entran en contacto con el sistema inmunológico del huésped. Los TLR implicados son TLR2, TLR3, TLR4, y TLR9.

*Tripanosomiasis:* El *Trypanosoma cruzi* causa tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas. Los TLR implicados son: TLR2, el heterodímero TLR2-LR6 y TLR9.

*Amebiasis:* El lipofosfopeptidoglicano presente en la superficie de *Entamoeba histolytica* induce la activación de NF- $\kappa$ B mediada por TLR2 y TLR4 y la liberación de citocinas a través de los monocitos. EL TLR9 reconoce el ADN genómico de *E. histolytica* y ayuda en la producción de TNF $\alpha$  en macrófagos.

### ***Sepsis virales***

Se ha reportado que las infecciones virales respiratorias son infradiagnosticadas en pacientes con sepsis. Las respuestas inmunitarias en cualquier infección viral son provocadas por el reconocimiento de PAMPs virales como ácidos nucleicos (ADN y ARN) y proteínas de la cápside viral por parte del huésped. Los TLR detectan estos PAMPs virales e inducen la respuesta de quimiocinas y citocinas. Revisemos los TLR implicados en este grupo:

### ***TLR1 y TLR2***

La defensa inmune contra la infección por el virus de la hepatitis B (VHB) es compleja e involucra tanto al sistema inmune innato como al adaptativo. En un estudio in vitro determinaron que cuando las líneas celulares del hígado se estimulan con el receptor IIL-1 y TLR2, se inhibe la replicación y la formación de cápsides del VHB. El TLR2 inhibe la replicación y la formación de nucleocápsides del VHB, sin embargo el virus ha desarrollado una estrategia inteligente

para contrarrestar la función antiviral de TLR2 mediante el uso de sus antígenos como HBeAg, HBsAg y viriones de VHB. En muchos otros virus de ADN y ARN, como virus de Epstein-Barr (VEB), virus del herpes simple (HSV), virus de hepatitis C (VHC) se observó acción antiviral mediada por TLR2. Mientras que el citomegalovirus (CMV) es reconocido por el heterodímero TLR1-TLR2.

### ***TLR3***

Es conocido por la detección de ARN de doble hebra (dsRNA) viral intracelular que estimula la activación de NF- $\kappa$ B a través de la vía antiviral TRIF. Muchos virus tienen dsRNA dentro de sus genomas, TLR3 puede detectar la presencia de virus monocatenario ssRNA, dsRNA y DNA como por ejemplo: influenza, dengue, rotavirus o herpes. También se ha determinado que TLR3 inicia una respuesta inflamatoria contra el VHB y el VHC y afecta la cronicidad de la infección. En esta línea, los polimorfismos de TLR3 se han asociado con infección por VHC/VHB y el desarrollo de cirrosis hepática y carcinoma hepatocelular.

### ***TLR7 y TLR8***

Intervienen en la inmunopatogénesis de las infecciones virales por VHB, virus de la influenza A, VHC. El ssRNA actúa como ligando para los receptores TLR7, activando las vías de señalización inmune innatas dependientes de MyD88-IRF7, con la consecuente producción de citocinas y formación de autofagosomas que combaten la invasión de patógenos. Es interesante, como los virus han desarrollado varias

estrategias para combatir la autofagia dependiente de la vía de TLR7 y mejorar su replicación en las células huésped como en el caso de enterovirus o coxsackievirus. TLR8 reconoce muchos genomas virales como el VHC y el VIH, se expresa principalmente en células mieloides como monocitos/macrófagos y células dendríticas. TLR8 media su acción antiviral a través de la forma dependiente de MyD88.

De destacar, el TLR8 en macrófagos humanos defiende contra el VIH mediante la inducción de autofagia.

### ***TLR9***

Identifica el ADN no metilado de virus. Se une a su ligando, activa MyD88, posteriormente activa los factores de transcripción NF- $\kappa$ B y AP-1 para provocar la respuesta inmune. Pocos virus (VIH, VHC, VEB y el papilomavirus) inhiben la señalización de TLR9 para escapar de la respuesta inmunitaria. El VHB lo realiza directamente a través de la actividad del HBsAg o indirectamente a través del aumento de la secreción de IL-10 por los monocitos. El HSV regula la señalización de NF- $\kappa$ B a través de la vía TLR para beneficiar directamente la replicación del virus, lo que suprime la secreción de interferón. Además de la detección de virus de ADN, también se ha demostrado que TLR9 tiene un papel en la detección de virus de ARN como del dengue, esto se debe a la liberación de ADN mitocondrial (ADNmt) de las células dendríticas humanas infectadas.(51,56)



### ***COVID-19:***

La enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) es ocasionado por el coronavirus tipo 2 causante del síndrome respiratorio agudo grave (SARS-CoV-2), que se identificó por primera vez en Wuhan (China), y posteriormente declarado por la Organización Mundial de la Salud como pandemia.

Diferentes TLR, son potencialmente importantes en la infección por COVID-19.

La enzima convertidora de angiotensina-2 (ACE2), es el receptor para que el SARS-CoV-2, el cual tiene una proteína llamada espiga (proteína S) que reconoce a la ACE2 e interactúa con TLR4. Esta glicoproteína de pico de SARS-CoV-2 al unirse al TLR4 aumenta la expresión de la superficie celular de ACE2 facilitando la entrada del virus. El SARS-CoV-2 también destruye las células alveolares de tipo II y bloquea el TLR4 en los pulmones, con el potencial desarrollo de SDRA. La miocarditis inducida por SARS-CoV-2 puede deberse a la activación de TLR4, la señalización aberrante de TLR4 y la hiperinflamación en pacientes con COVID-19.

Zheng investigó la activación de TLR, a través de un adaptador MyD88, el cual ha sido identificado como un factor crítico en la producción de una serie de citocinas inflamatorias en las infecciones por  $\beta$  coronavirus. Encontró que los niveles de expresión de ARNm de MyD88, junto con los de varios TLR, estaban directamente relacionados con la gravedad

de la enfermedad, lo que sugiere que la señalización a través de este adaptador puede estar involucrada en la patogenia de la enfermedad. Además, determinó que el tratamiento de células mononucleares de sangre periférica humana infectadas con un inhibidor de TLR2, pero no TLR4, resultó en una reducción significativa de la producción de citocinas y quimiocinas, lo que confirma que TLR2 detecta estos virus con ayuda de MyD88.

En la investigación realizada por Menezes, exploró el impacto de la infección por SARS-CoV-2 en la expresión de los PRRs en las células sanguíneas periféricas y sus citocinas, comparando pacientes con COVID-19 leve con pacientes con COVID-19 grave. Encontraron que los pacientes con un resultado desfavorable presentaron una menor expresión de TLR3 y una mayor expresión de TLR4, que puede ser un mecanismo compensatorio que conduce a una respuesta inflamatoria aumentada que es característica de los pacientes con COVID-19 gravemente enfermos.

### ***Utilidad clínica actual***

El diagnóstico de sepsis requiere tanto de signos clínicos como pruebas de laboratorio. Además de la terapéutica dirigida, el control de la fuente es importante, por lo tanto, las pruebas de diagnóstico son fundamentales para determinar la exclusión temprana o la identificación de una infección.

Para investigar la expresión de los TLR, se han utilizado técnicas de PCR cuantitativa de TLR2 y TLR4 en sangre. Se ha reportado

que la expresión de ARNm de TLR2 y TLR4 es alta en pacientes sépticos. Además, TLR2 y TLR4 mostraron que existen diferencias significativas entre las etapas de gravedad de la sepsis. En este contexto, existe la posibilidad de utilizar la expresión de TLR2 y TLR4 como biomarcador de diagnóstico.

En el estudio realizado por Holst, determinó que TLR2 es expresado principalmente por células mieloides y se libera una forma soluble (sTLR2), capaz de disminuir las respuestas proinflamatorias mediadas por TLR, en respuesta a los microorganismos. Los niveles plasmáticos de sTLR2 están elevados en trastornos infecciosos e inflamatorios, de tal manera que evaluó su valor diagnóstico en pacientes de UCI con falla multiorgánica secundaria a sepsis. En su investigación encontró que un punto de corte  $\geq 1,0$  ng/ml de sTLR2, mostró un buen valor diagnóstico de sepsis (sensibilidad: 90%, especificidad: 91% y AUC: 0,959), dentro de las 12 h posteriores al ingreso en la UCI. Los niveles más altos de sTLR2 en plasma observados en la sepsis (independientemente del organismo causante) sugieren que existe un mecanismo de retroalimentación negativa el cual se activa rápidamente tras la infección.

Además, existen pruebas de laboratorio para ayudar en el diagnóstico de inmunodeficiencias innatas cuando se sospecha de defectos genéticos del sistema inmunológico. Las células mononucleares se aíslan de sangre completa anticoagulada y se incuban con ligandos y medios de TLR. Se utilizan ligandos específicos de TLR:

- TLR2-TLR1 (lipopéptido bacteriano sintético)
- TLR6-TLR2 (partículas de pared celular de zimosano)
- TLR4 (LPS)
- TLR5 (flagelina)
- TLR7-TLR8 (derivado de imidazoquinolina)

La producción de células mononucleares de sangre periférica del TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6 se mide para TLR1-8.

Una vez realizada la prueba, el resultado puede ser:

- Positivo: falta de respuesta a ligandos TLR específicos. Sugiere un posible defecto molecular en el sistema inmunológico innato relacionado con la función de TLR u otros componentes de la vía de señalización, como IRAK4 o MyD88.
- Negativo: respuestas de citocinas normales. Sugiere una función TLR normal.

En la sepsis, los biomarcadores se han utilizado para el diagnóstico, pronóstico y orientación terapéutica, como, por ejemplo: proteína C reactiva (PCR), procalcitonina, presepsina, interleucina 6 (IL-6), proteína de unión a lipopolisacáridos (LBP) entre otros. La consideración de su aplicación a la investigación de biomarcadores de sepsis puede ayudar a identificar nuevos biomarcadores (¿TLR?) con una utilidad clínica real. En este contexto, es importante desarrollar una metodología rigurosa para evaluar los biomarcadores de la sepsis e identificar aquellos que pueden proporcionar información valiosa y clínicamente relevante.

### ***Enfoque traslacional***

Los TLR son elementos en la inmunidad innata e intervienen en la defensa del huésped contra los microbios, sin embargo, la sobreactivación de los TLR interrumpe la homeostasis inmune que conduce a una producción excesiva de citocinas proinflamatorias. Por lo tanto, inhibir las vías de señalización de TLR es una estrategia terapéutica eficaz para suprimir las respuestas inflamatorias no deseadas asociadas a la enfermedad.

En general, la inhibición de TLR se puede lograr mediante dos estrategias principales:

- Bloquear la unión de ligandos TLR al receptor
- Interferir las vías de señalización intracelular para detener la transducción de señales.

En este sentido, se han desarrollado varios agentes terapéuticos para inhibir la señalización de TLR para controlar la inflamación excesiva:

- Inhibidores de moléculas pequeñas
- Anticuerpos
- Oligonucleótidos
- Análogos de lípido A
- MicroARN
- Nuevos nano inhibidores emergentes

### ***Inhibidores de moléculas pequeñas***

Pueden inhibir la señalización de TLR en los compartimentos intracelulares como endosomas y lisosomas, bloqueando la señalización

de TLR7, 8 y 9, disminuyendo la producción de citocinas incluyendo antipalúdicos.

TLR2 y 4 son otros dos objetivos. Resatorvid actúa en las vías de señalización de TLR4 mediante la unión a la cisteína en el dominio TIR intracelular de TLR4, que bloquea la interacción entre TLR4 y las proteínas adaptadoras, disminuyendo la inflamación y la señalización de TLR4 inducidas por LPS. Es interesante mencionar que la activación de TLR-4 plaquetaria por PAMPs o DAMPS desencadena respuestas efectoras protrombóticas, proinflamatorias y procoagulantes. En este punto, cabe destacar que tiene un papel importante como sensor de niveles elevados de LPS circulante durante la sepsis y en el aclaramiento de patógenos mediados por neutrófilos. Sería interesante determinar si el TLR4 plaquetario podría considerarse un nuevo objetivo profiláctico y terapéutico para modular el trastorno hemostático de la sepsis.

La inducción temprana de respuestas inflamatorias por TLR2 es fundamental en la lucha contra la infección bacteriana, por lo tanto, la activación terapéutica de TLR2 puede mejorar aún más la capacidad del huésped para controlar y eliminar el patógeno. En un modelo de ratón con infección por *Mycobacterium tuberculosis*, la activación de TLR2 en las células T CD4 + condujo a un aumento de las células T secretoras de IFN  $\gamma$ . Además, la administración de un agonista de TLR2 protegió a los ratones contra la infección por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) al mejorar la fagocitosis y la actividad bactericida de los neutrófilos.

### ***Anticuerpos***

Están diseñados para bloquear la unión de ligandos a los TLR. El bloqueo de la señalización de TLR2 y 4 por anticuerpos antagonistas disminuye la gravedad de la enfermedad en modelos de sepsis de bacterias Gram positivas y Gram negativas.

En un modelo de ratón con sepsis polimicrobiana, el tratamiento con un anticuerpo anti-TLR2 disminuyó la inflamación sistémica y la carga bacteriana, promoviendo una mejora general en ratones que experimentaron sepsis.

### ***Oligonucleótidos***

Pueden interferir en la unión de ligandos a TLR endosomales y, por lo tanto, bloquear la transducción de señales de TLR. Por ejemplo, los agonistas de TLR9: los oligodesoxinucleótidos de citosina-fosforotioato-guanina (CpG ODN) tienen patrones de secuencia como los que se encuentran en el ADN bacteriano, activan potentes respuestas inmunitarias mediadas por células y, por lo tanto, se utilizan para el tratamiento de diversas enfermedades.

### ***Análogos del lípido A***

Son un grupo especial de antagonistas de TLR, que se dirigen específicamente a TLR4. Se realizó una investigación con eritoran, que evita la unión de LPS a TLR4 en pacientes con sepsis grave, sin embargo en comparación con placebo, no se encontró una reducción de la mortalidad a los 28 días.

### ***Inhibidores de microARN (miARN)***

Los miARN están involucrados en las respuestas inmunitarias innatas y adaptativas, mediante la modulación de la expresión génica. Los miARN son secretados por varios tipos de células, incluidas las células tumorales y los macrófagos dentro de las vesículas extracelulares, como los exosomas y las microvesículas. Pueden unirse a TLR e iniciar una respuesta inmune induciendo la expresión de genes inmunes e inflamatorios. Los TLR de superficie celular y citoplasmático pueden regularse mediante varios miARN (let-7, miR-21, miR-146 y miR-155). En un estudio en ratones, se investigó el efecto regulador del miR-146a sobre la vía del receptor TLR-4/NF-kB y la inflamación en la miocardiopatía séptica. Determinaron que el uso de agonistas de miR-146a, puede regular dicha vía de señalización a través de mecanismos de retroalimentación negativa, mejorando así la inflamación y la disfunción cardíaca en la miocardiopatía inducida por sepsis.

### ***Nuevos nano inhibidores emergentes***

Están surgiendo como una nueva clase de potentes inhibidores de TLR que pueden dirigirse a una o varias vías de TLR. La nanopartícula similar a lipoproteínas de alta densidad (HDL) se desarrolló como un antagonista de TLR4 secuestrando LPS y se ha aplicado para reducir la inflamación inducida por LPS in vivo.

Veamos a continuación más casos de tratamiento con los TLR:

Agonista de TLR4: se usa como adyuvante de vacuna. Se han desarrollado otros adyuvantes y vehículos de administración en



combinación con sales de aluminio, que se han utilizado para HSV, HBV, *S. pneumoniae*, malaria y HPV. También se utiliza como componente de una vacuna mejorada contra la hepatitis B. También se desarrolló una vacuna de ADN contra *M. tuberculosis* utilizando un sistema adyuvante.

Agonista de TLR7 y TLR8: la imidazoquinolina conjugada, un agonista de TLR-8, aumentó la activación y maduración de células dendríticas vírgenes debido a la endocitosis selectiva. Además se reporta un tipo de vacuna basada en un agonista de TLR7 para potenciar la respuesta inmune glicoconjugado en humanos.

Continuando con esta temática, veamos las investigaciones terapéuticas dentro de los hongos y virus:

### **Terapia antifúngica**

En estudios en ratones inmunodeprimidos, se determinó que la combinación sinérgica de agonistas de TLR2/6 y TLR9 (Pam2-ODN) actuó como protector contra una amplia gama de patógenos, incluido *A. fumigatus*.

De igual forma, en otro estudio en ratones, determinaron que TLR9 juega un papel en la protección inducida por la inmunización con rPb27 y además contra infecciones por paracoccidiodomicosis.(36)

### **Terapia antiviral**

Se han utilizado agonistas de TLR3, 4, 7, 8 y 9 en modelos experimentales con virus del dengue, VHB, HSV. Se ha determinado

que estos agonistas reducen los síntomas virales y su replicación. Se ha reportado que tanto TLR7 como TLR8 se usan en el tratamiento de infecciones virales junto con trastornos inflamatorios. El análogo de guanosina de TLR (isatoribina), tendría un enfoque terapéutico contra el VHC. Los agonistas TLR7 (imidazoquinolina) y TLR8 (resiquimod) se utilizan para tratar infecciones por HSV-2 y el imiquimod en el tratamiento de papiloma humano.

El agonista de TLR7/8 R848 se podría utilizar para el tratamiento profiláctico o terapéutico del virus ZIKA. Se ha identificado que la viperina, un gen inducido por interferón, es activo contra varios virus, que también tiene la capacidad de inhibir la replicación del virus ZIKA.

Los agonistas de TLR9 se han utilizado para el cáncer y las infecciones crónicas por su capacidad para mejorar las respuestas antitumorales/ antivirales tanto innatas como adaptativas. Ensayos clínicos en este sentido se han realizado con TLR9 PF-3512676 e ISS-1018.

Los agonistas de TLR2, bloquean la interacción de los componentes virales con TLR y suprimen los efectos deletéreos de TLR2 en respuesta al HSV.

GS-9688 (Selgantolimod) es un agonista selectivo del TLR8 humano, que se está usando en ensayos para el tratamiento de la VHB crónica.

Se ha estudiado el uso de un agonista del receptor 9 (Lefitolimod) en el tratamiento con individuos con VIH-1, en donde se demostró que mejoró la inmunidad adaptativa innata en este grupo de pacientes.

Para finalizar y no menos importante, terminamos con las investigaciones acerca de COVID-19:

El bloqueo de la señalización de TLR2 in vivo proporcionó protección contra la patogénesis de la infección por SARS-CoV-2 (62). TLR4 parece ser un objetivo terapéutico en COVID-19, dado que los antagonistas de TLR4 se han probado previamente en sepsis y en otros contextos antivirales. Además, los ensayos clínicos de tensioactivos pulmonares en COVID-19 bloquean TLR4 (61). En el estudio de Proud, los agonistas de TLR también podrían usarse como fármacos profilácticos para el SARS-CoV-2. Encontró que la administración profiláctica intranasal del agonista TLR2/6 redujo la transmisión del SARS-CoV-2 y brindó protección contra COVID-19.

Como hipótesis terapéutica de TLR9 para COVID-19 se ha planteado utilizarlo a través de los siguientes mecanismos: 1) moldear la inmunidad adaptativa contra el SARS-Cov-2 para que la carga viral permanezca baja, 2) proporcionar un refuerzo inmunológico dirigido breve para ayudar a eliminar el virus de manera eficiente, y 3) inhibir la vía TLR9 en pacientes vulnerables para prevenir o atenuar la hiperinflamación y las complicaciones multiorgánicas.

## CONCLUSIONES

- El sistema TLR representa un método ingenioso para activar el sistema inmunológico en respuesta a una enorme gama de agentes infecciosos.
- Los TLR son centinelas en la defensa del huésped contra patógenos, porque empiezan la respuesta inmune a través del reconocimiento de patrones.
- Una vez activados los TLR, continúa con las vías de señalización (como un efecto dominó) con la producción de citocinas proinflamatorias.
- Dentro de los biomarcadores de sepsis, se determinará a futuro la utilidad de los TLR en los pacientes infectados por cualquier etiología.
- Se están realizando estudios dirigidos hacia estos receptores, para entender la respuesta inflamatoria del huésped en la sepsis e implementar su uso a través de la inmunoterapia.
- El desarrollo de terapias dirigidas a TLR en forma de agonistas o antagonistas ofrece nuevas posibilidades interesantes y prometedoras para el tratamiento de enfermedades infecciosas, por lo tanto, es importante determinar qué respuestas posteriores son deseables, en qué modelos de enfermedades usarlas para poder diseñar y seleccionar nuevas terapias.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bauer M, Gerlach H, Vogelmann T, Preissing F, Stiefel J, Adam D. Mortality in sepsis and septic shock in Europe, North America and Australia between 2009 and 2019— results from a systematic review and meta-analysis. *Critical Care*. 19 de mayo de 2020;24(1):239.
- Takeda K, Akira S. Toll-like receptors in innate immunity. *International Immunology*. 1 de enero de 2005;17(1):1-14.
- Funk DJ, Parrillo JE, Kumar A. Sepsis and septic shock: a history. *Crit Care Clin*. enero de 2009;25(1):83-101, viii.
- Cervantes BVM de. Escritos del doctor Francisco Javier Eugenio Santa Cruz y Espejo. Tomo II / publicanse a expensas de la Ilustre Municipalidad de Quito; con un prólogo y notas del Director de la «Sociedad Ecuatoriana de Estudios Históricos» [Internet]. Biblioteca Virtual Miguel de Cervantes. [citado 16 de julio de 2021]. Disponible en: [http://www.cervantesvirtual.com/obra-visor/escritos-del-doctor-francisco-javier-eugenio-santa-cruz-y-espejo-tomo-ii--0/html/0039b8fc-82b2-11df-acc7-002185ce6064\\_22.html](http://www.cervantesvirtual.com/obra-visor/escritos-del-doctor-francisco-javier-eugenio-santa-cruz-y-espejo-tomo-ii--0/html/0039b8fc-82b2-11df-acc7-002185ce6064_22.html)
- Beutler B. Toll-like receptors: how they work and what they do. *Curr Opin Hematol*. enero de 2002;9(1):2-10.
- Suffredini AF, Fromm RE, Parker MM, Brenner M, Kovacs JA, Wesley RA, et al. The cardiovascular response of normal humans to the administration of endotoxin. *N Engl J Med*. 3 de

agosto de 1989;321(5):280-7.

- Janeway CA. Approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology. Cold Spring Harb Symp Quant Biol. 1989;54 Pt 1:1-13.
- Mann DL. The emerging role of innate immunity in the heart and vascular system: for whom the cell tolls. Circ Res. 29 de abril de 2011;108(9):1133-45.
- Amarante-Mendes GP, Adjemian S, Branco LM, Zanetti LC, Weinlich R, Bortoluci KR. Pattern Recognition Receptors and the Host Cell Death Molecular Machinery. Front Immunol [Internet]. 2018 [citado 21 de julio de 2021];0. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2018.02379/full>
- Matzinger P. Tolerance, danger, and the extended family. Annu Rev Immunol. 1994;12:991-1045.
- Walsh D, McCarthy J, O'Driscoll C, Melgar S. Pattern recognition receptors--molecular orchestrators of inflammation in inflammatory bowel disease. Cytokine Growth Factor Rev. abril de 2013;24(2):91-104.
- Hajishengallis G, Lambris JD. More than complementing Tolls: Complement–Toll-like receptor synergy and crosstalk in innate immunity and inflammation. Immunol Rev. noviembre de 2016;274(1):233-44.
- El-Zayat SR, Sibaii H, Mannaa FA. Toll-like receptors activation, signaling, and targeting: an overview. Bulletin of the National

Research Centre. 12 de diciembre de 2019;43(1):187.

- Medzhitov R, Janeway C. Innate immunity. *N Engl J Med*. 3 de agosto de 2000;343(5):338-44.
- Marion J. Toll-Like Receptors: Evolution and Structure. En: Wells RD, Bond JS, Klinman J, Masters BSS, editores. *Molecular Life Sciences: An Encyclopedic Reference* [Internet]. New York, NY: Springer; 2018 [citado 1 de septiembre de 2021]. p. 1192-8. Disponible en: [https://doi.org/10.1007/978-1-4614-1531-2\\_816](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-1531-2_816)
- Goulopoulou S, McCarthy CG, Webb RC. Toll-like Receptors in the Vascular System: Sensing the Dangers Within. *Pharmacol Rev*. enero de 2016;68(1):142-67.
- Fitzgerald KA, Kagan JC. Toll-like Receptors and the Control of Immunity. *Cell*. 19 de marzo de 2020;180(6):1044-66.
- Takeda K, Akira S. Toll-like receptors. *Curr Protoc Immunol*. 1 de abril de 2015;109:14.12.1-14.12.10.
- Gao H, Leaver SK, Burke-Gaffney A, Finney SJ. Severe sepsis and Toll-like receptors. *Semin Immunopathol*. 1 de febrero de 2008;30(1):29-40.
- O'Neill LAJ, Golenbock D, Bowie AG. The history of Toll-like receptors - redefining innate immunity. *Nat Rev Immunol*. junio de 2013;13(6):453-60.
- Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 23 de febrero de 2016;315(8):801-10.

- Luisa Gil M, Murciano C, Yáñez A, Gozalbo D. Role of Toll-like receptors in systemic *Candida albicans* infections. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 1 de enero de 2016;21:278-302.
- Coch C, Hommertgen B, Zillinger T, Daßler-Plenker J, Putschli B, Nastaly M, et al. Human TLR8 Senses RNA From *Plasmodium falciparum*-Infected Red Blood Cells Which Is Uniquely Required for the IFN- $\gamma$  Response in NK Cells. *Frontiers in Immunology*. 2019;10:371.
- Prathyusha AMVN, Bhukya PL, Veera Bramhachari P. Potentiality of Toll-Like Receptors (TLRS) in Viral Infections. En: Bramhachari PV, editor. *Dynamics of Immune Activation in Viral Diseases* [Internet]. Singapore: Springer; 2020 [citado 2 de septiembre de 2021]. p. 149-59. Disponible en: [https://doi.org/10.1007/978-981-15-1045-8\\_10](https://doi.org/10.1007/978-981-15-1045-8_10)
- Vincent J-L, Sakr Y, Singer M, Martin-Loeches I, Machado FR, Marshall JC, et al. Prevalence and Outcomes of Infection Among Patients in Intensive Care Units in 2017. *JAMA*. 21 de abril de 2020;323(15):1478-87.
- Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol*. mayo de 2010;11(5):373-84.
- Kuzmich NN, Sivak KV, Chubarev VN, Porozov YB, Savateeva-Lyubimova TN, Peri F. TLR4 Signaling Pathway Modulators as Potential Therapeutics in Inflammation and Sepsis. *Vaccines (Basel)*. 4 de octubre de 2017;5(4):34.



- Regueiro V, Moranta D, Campos MA, Margareto J, Garmendia J, Bengoechea JA. *Klebsiella pneumoniae* increases the levels of Toll-like receptors 2 and 4 in human airway epithelial cells. *Infect Immun.* febrero de 2009;77(2):714-24.
- Jeon H-Y, Park J-H, Park J-I, Kim J-Y, Seo S-M, Ham S-H, et al. Cooperative Interactions between Toll-Like Receptor 2 and Toll-Like Receptor 4 in Murine *Klebsiella pneumoniae* Infections. *Journal of Microbiology and Biotechnology.* 2017;27(8):1529-38.
- Chatzi M, Papanikolaou J, Makris D, Papathanasiou I, Tsezou A, Karvouniaris M, et al. Toll-like receptor 2, 4 and 9 polymorphisms and their association with ICU-acquired infections in Central Greece. *J Crit Care.* octubre de 2018;47:1-8.
- Moen SH, Ehrnström B, Kojen JF, Yurchenko M, Beckwith KS, Afset JE, et al. Human Toll-like Receptor 8 (TLR8) Is an Important Sensor of Pyogenic Bacteria, and Is Attenuated by Cell Surface TLR Signaling. *Frontiers in Immunology.* 2019;10:1209.
- Morris FC, Dexter C, Kostoulias X, Uddin MI, Peleg AY. The Mechanisms of Disease Caused by *Acinetobacter baumannii*. *Front Microbiol.* 1 de enero de 2019;10:1601.
- Lin CK, Kazmierczak BI. Inflammation: A Double-Edged Sword in the Response to *Pseudomonas aeruginosa* Infection. *JIN.* 2017;9(3):250-61.

- Xu H, Huang L, Luo Q, Tu Q, Liu J, Yu R, et al. Absence of Toll-like receptor 7 protects mice against *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *Int Immunopharmacol.* julio de 2021;96:107739.
- Nachtigall I, Tamarkin A, Tafelski S, Weimann A, Rothbart A, Heim S, et al. Polymorphisms of the toll-like receptor 2 and 4 genes are associated with faster progression and a more severe course of sepsis in critically ill patients. *J Int Med Res.* febrero de 2014;42(1):93-110.
- Jannuzzi GP, de Almeida JRF, Paulo LNM, de Almeida SR, Ferreira KS. Intracellular PRRs Activation in Targeting the Immune Response Against Fungal Infections. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology.* 2020;10:562.
- Patin EC, Thompson A, Orr SJ. Pattern recognition receptors in fungal immunity. *Seminars in Cell & Developmental Biology.* 1 de mayo de 2019;89:24-33.
- Wang W, Deng Z, Wu H, Zhao Q, Li T, Zhu W, et al. A small secreted protein triggers a TLR2/4-dependent inflammatory response during invasive *Candida albicans* infection. *Nat Commun.* 4 de marzo de 2019;10(1):1015.
- CDC - Parasites - About Parasites [Internet]. 2020 [citado 16 de septiembre de 2021]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/parasites/about.html>
- 40. Fact sheet about Malaria [Internet]. [citado 21 de julio de 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/news-room/>

fact-sheets/detail/malaria

- Boutlis CS, Yeo TW, Anstey NM. Malaria tolerance--for whom the cell tolls? *Trends Parasitol.* agosto de 2006;22(8):371-7.
- Naing C, Wong ST, Aung HH. Toll-like receptor 9 and 4 gene polymorphisms in susceptibility and severity of malaria: a meta-analysis of genetic association studies. *Malaria Journal.* 3 de julio de 2021;20(1):302.
- Hartgers FC, Obeng BB, Voskamp A, Larbi IA, Amoah AS, Luty AJF, et al. Enhanced Toll-Like Receptor Responsiveness Associated with Mitogen-Activated Protein Kinase Activation in *Plasmodium falciparum*-Infected Children. *Infection and Immunity.* 1 de noviembre de 2008;76(11):5149-57.
- Tuon FF, Amato VS, Bacha HA, AlMusawi T, Duarte MI, Amato Neto V. Toll-Like Receptors and Leishmaniasis. *Infection and Immunity.* 1 de marzo de 2008;76(3):866-72.
- Pellegrini A, Guiñazu N, Giordanengo L, Cano RC, Gea S. The role of Toll-like receptors and adaptive immunity in the development of protective or pathological immune response triggered by the *Trypanosoma cruzi* protozoan. *Future Microbiol.* diciembre de 2011;6(12):1521-33.
- Chadha A, Chadee K. The NF- $\kappa$ B Pathway: Modulation by *Entamoeba histolytica* and Other Protozoan Parasites. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology.* 2021;11:887.
- Ivory CPA, Prystajec M, Jobin C, Chadee K. Toll-like receptor

- 9-dependent macrophage activation by *Entamoeba histolytica* DNA. *Infect Immun.* enero de 2008;76(1):289-97.
- Ljungström LR, Jacobsson G, Claesson BEB, Andersson R, Enroth H. Respiratory viral infections are underdiagnosed in patients with suspected sepsis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* octubre de 2017;36(10):1767-76.
  - Thompson MR, Kaminski JJ, Kurt-Jones EA, Fitzgerald KA. Pattern recognition receptors and the innate immune response to viral infection. *Viruses.* junio de 2011;3(6):920-40.
  - Thompson AJ, Colledge D, Rodgers S, Wilson R, Revill P, Desmond P, et al. Stimulation of the interleukin-1 receptor and Toll-like receptor 2 inhibits hepatitis B virus replication in hepatoma cell lines in vitro. *Antivir Ther.* 2009;14(6):797-808.
  - Carty M, Guy C, Bowie AG. Detection of Viral Infections by Innate Immunity. *Biochemical Pharmacology.* 1 de enero de 2021;183:114316.
  - Karimi-Googheri M, Arababadi MK. TLR3 plays significant roles against hepatitis B virus. *Mol Biol Rep.* mayo de 2014;41(5):3279-86.
  - Stegemann-Koniszewski S, Behrens S, Boehme JD, Hochnadel I, Riese P, Guzmán CA, et al. Respiratory Influenza A Virus Infection Triggers Local and Systemic Natural Killer Cell Activation via Toll-Like Receptor 7. *Front Immunol.* 2018;9:245.
  - Song J, Hu Y, Li J, Zheng H, Wang J, Guo L, et al. Suppression

of the toll-like receptor 7-dependent type I interferon production pathway by autophagy resulting from enterovirus 71 and coxsackievirus A16 infections facilitates their replication. *Arch Virol.* 2018;163(1):135-44.

- Lester SN, Li K. Toll-Like Receptors in Antiviral Innate Immunity. *Journal of Molecular Biology.* 20 de marzo de 2014;426(6):1246-64.
- Lai J-H, Wang M-Y, Huang C-Y, Wu C-H, Hung L-F, Yang C-Y, et al. Infection with the dengue RNA virus activates TLR9 signaling in human dendritic cells. *EMBO Rep.* agosto de 2018;19(8):e46182.
- CDC. COVID-19 and Your Health [Internet]. Centers for Disease Control and Prevention. 2020 [citado 30 de septiembre de 2021]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/your-health/about-covid-19/basics-covid-19.html>
- Listings of WHO's response to COVID-19 [Internet]. [citado 30 de septiembre de 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/news/item/29-06-2020-covidtimeline>
- Khanmohammadi S, Rezaei N. Role of Toll-like receptors in the pathogenesis of COVID-19. *Journal of Medical Virology.* 2021;93(5):2735-9.
- van der Made CI, Simons A, Schuurs-Hoeijmakers J, van den Heuvel G, Mantere T, Kersten S, et al. Presence of Genetic Variants Among Young Men With Severe COVID-19. *JAMA.* 18 de agosto de 2020;324(7):663-73.

- Aboudounya MM, Heads RJ. COVID-19 and Toll-Like Receptor 4 (TLR4): SARS-CoV-2 May Bind and Activate TLR4 to Increase ACE2 Expression, Facilitating Entry and Causing Hyperinflammation. *Mediators Inflamm.* 1 de enero de 2021;2021:8874339.
- Zheng M, Karki R, Williams EP, Yang D, Fitzpatrick E, Vogel P, et al. TLR2 senses the SARS-CoV-2 envelope protein to produce inflammatory cytokines. *Nat Immunol.* julio de 2021;22(7):829-38.
- Menezes MCS, Veiga ADM, Martins de Lima T, Kunimi Kubo Ariga S, Vieira Barbeiro H, de Lucena Moreira C, et al. Lower peripheral blood Toll-like receptor 3 expression is associated with an unfavorable outcome in severe COVID-19 patients. *Sci Rep.* 27 de julio de 2021;11(1):15223.
- Younis FQ, Alwan AH, Zaki NH. Using of TLR2 and TLR4 as Biomarker of Sepsis Severity Detection. *Al-Mustansiriyah Journal of Science.* 17 de noviembre de 2018;29(2):83-92.
- Holst B, Szakmany T, Raby A-C, Hamlyn V, Durno K, Hall JE, et al. Soluble Toll-like receptor 2 is a biomarker for sepsis in critically ill patients with multi-organ failure within 12 h of ICU admission. *Intensive Care Med Exp.* 13 de enero de 2017;5:2.
- Toll-Like Receptor Function | ARUP Laboratories Test Directory [Internet]. [citado 21 de septiembre de 2021]. Disponible en: <https://ltd.aruplab.com/Tests/Pub/0051589>

- Pierrakos C, Velissaris D, Bisdorff M, Marshall JC, Vincent J-L. Biomarkers of sepsis: time for a reappraisal. *Critical Care*. 5 de junio de 2020;24(1):287.
- Gao W, Xiong Y, Li Q, Yang H. Inhibition of Toll-Like Receptor Signaling as a Promising Therapy for Inflammatory Diseases: A Journey from Molecular to Nano Therapeutics. *Frontiers in Physiology*. 2017;8:508.
- Kuznik A, Bencina M, Svajger U, Jeras M, Rozman B, Jerala R. Mechanism of endosomal TLR inhibition by antimalarial drugs and imidazoquinolines. *J Immunol*. 15 de abril de 2011;186(8):4794-804.
- Matsunaga N, Tsuchimori N, Matsumoto T, Ii M. TAK-242 (resatorvid), a small-molecule inhibitor of Toll-like receptor (TLR) 4 signaling, binds selectively to TLR4 and interferes with interactions between TLR4 and its adaptor molecules. *Mol Pharmacol*. enero de 2011;79(1):34-41.
- Schattner M. Platelet TLR4 at the crossroads of thrombosis and the innate immune response. *J Leukoc Biol*. mayo de 2019;105(5):873-80.
- Simpson ME, Petri WA. TLR2 as a Therapeutic Target in Bacterial Infection. *Trends in Molecular Medicine*. 1 de agosto de 2020;26(8):715-7.
- Daubeuf B, Mathison J, Spiller S, Hugues S, Herren S, Ferlin W, et al. TLR4/MD-2 monoclonal antibody therapy affords

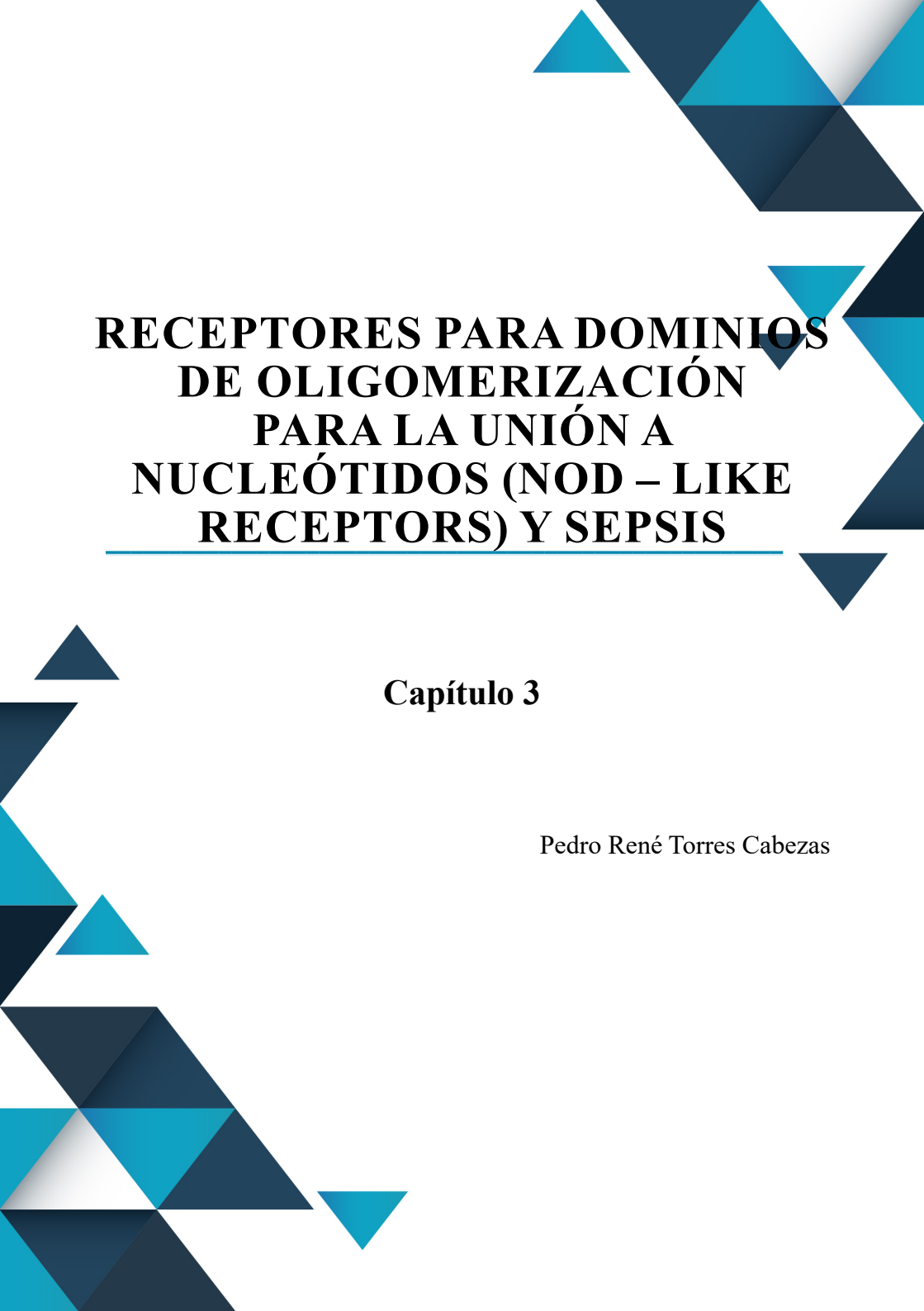
- protection in experimental models of septic shock. *J Immunol.* 1 de noviembre de 2007;179(9):6107-14.
- Hanagata N. CpG oligodeoxynucleotide nanomedicines for the prophylaxis or treatment of cancers, infectious diseases, and allergies. *Int J Nanomedicine.* 2017;12:515-31.
  - Opal SM, Laterre P-F, Francois B, LaRosa SP, Angus DC, Mira J-P, et al. Effect of eritoran, an antagonist of MD2-TLR4, on mortality in patients with severe sepsis: the ACCESS randomized trial. *JAMA.* 20 de marzo de 2013;309(11):1154-62.
  - Bayraktar R, Bertilaccio MTS, Calin GA. The Interaction Between Two Worlds: MicroRNAs and Toll-Like Receptors. *Frontiers in Immunology.* 2019;10:1053.
  - Xie J, Zhang L, Fan X, Dong X, Zhang Z, Fan W. MicroRNA-146a improves sepsis-induced cardiomyopathy by regulating the TLR-4/NF- $\kappa$ B signaling pathway. *Experimental and Therapeutic Medicine.* 1 de julio de 2019;18(1):779-85.
  - Blanco E, Shen H, Ferrari M. Principles of nanoparticle design for overcoming biological barriers to drug delivery. *Nat Biotechnol.* septiembre de 2015;33(9):941-51.
  - Foit L, Thaxton CS. Synthetic high-density lipoprotein-like nanoparticles potently inhibit cell signaling and production of inflammatory mediators induced by lipopolysaccharide binding Toll-like receptor 4. *Biomaterials.* 1 de septiembre de 2016;100:67-75.



- Guo L, Ai J, Zheng Z, Howatt DA, Daugherty A, Huang B, et al. High Density Lipoprotein Protects against Polymicrobe-induced Sepsis in Mice \*. *Journal of Biological Chemistry*. 21 de junio de 2013;288(25):17947-53.
- Petkar KC, Patil SM, Chavhan SS, Kaneko K, Sawant KK, Kunda NK, et al. An Overview of Nanocarrier-Based Adjuvants for Vaccine Delivery. *Pharmaceutics*. 27 de marzo de 2021;13(4):455.
- Cluff CW. Monophosphoryl lipid A (MPL) as an adjuvant for anti-cancer vaccines: clinical results. *Adv Exp Med Biol*. 2010;667:111-23.
- Dowling DJ, Scott EA, Scheid A, Bergelson I, Joshi S, Pietrasanta C, et al. Toll-like receptor 8 agonist nanoparticles mimic immunomodulating effects of the live BCG vaccine and enhance neonatal innate and adaptive immune responses. *J Allergy Clin Immunol*. noviembre de 2017;140(5):1339-50.
- Buonsanti C, Balocchi C, Harfouche C, Corrente F, Galli Stampino L, Mancini F, et al. Novel adjuvant Alum-TLR7 significantly potentiates immune response to glycoconjugate vaccines. *Sci Rep*. 21 de julio de 2016;6:29063.
- Chihab H, Zaidane I, Elhabazi A, Jadid F-Z, El Fihri R, Elmessaoudi-Idrissi M, et al. Toll-like receptor 9 polymorphisms and Hepatitis B virus clearance in Moroccan chronic carriers. *Gene*. 1 de marzo de 2019;687:212-8.

- Xiang AX, Webber SE, Kerr BM, Rueden EJ, Lennox JR, Haley GJ, et al. Discovery of ANA975: an oral prodrug of the TLR-7 agonist isatoribine. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. 2007;26(6-7):635-40.
- Mark KE, Corey L, Meng T-C, Magaret AS, Huang M-L, Selke S, et al. Topical resiquimod 0.01% gel decreases herpes simplex virus type 2 genital shedding: a randomized, controlled trial. *J Infect Dis*. 1 de mayo de 2007;195(9):1324-31.
- Gotovtseva EP, Kapadia AS, Smolensky MH, Lairson DR. Optimal frequency of imiquimod (aldara) 5% cream for the treatment of external genital warts in immunocompetent adults: a meta-analysis. *Sex Transm Dis*. abril de 2008;35(4):346-51.
- Vanwalscappel B, Tada T, Landau NR. Toll-like receptor agonist R848 blocks Zika virus replication in human monocytes by inducing the antiviral protein viperin. *Virology*. septiembre de 2018;522:199-208.
- Aillot L, Bonnin M, Ait-Goughoulte M, Bendriss-Vermare N, Maadadi S, Dimier L, et al. Interaction between Toll-Like Receptor 9-CpG Oligodeoxynucleotides and Hepatitis B Virus Virions Leads to Entry Inhibition in Hepatocytes and Reduction of Alpha Interferon Production by Plasmacytoid Dendritic Cells. *Antimicrob Agents Chemother*. abril de 2018;62(4):e01741-17.
- Jahanban-Esfahlan R, Seidi K, Majidinia M, Karimian A, Yousefi B, Nabavi SM, et al. Toll-like receptors as novel therapeutic

- targets for herpes simplex virus infection. *Reviews in Medical Virology*. 2019;29(4):e2048.
- Amin OE, Colbeck EJ, Daffis S, Khan S, Ramakrishnan D, Pattabiraman D, et al. Therapeutic Potential of TLR8 Agonist GS-9688 (Selgantolimod) in Chronic Hepatitis B: Remodeling of Antiviral and Regulatory Mediators. *Hepatology*. julio de 2021;74(1):55-71.
  - Vibholm LK, Konrad CV, Schleimann MH, Frattari G, Winkelmann A, Klasttrup V, et al. Effects of 24-week Toll-like receptor 9 agonist treatment in HIV type 1+ individuals. *AIDS*. 1 de julio de 2019;33(8):1315-25.
  - Proud PC, Tsitoura D, Watson RJ, Chua BY, Aram MJ, Bewley KR, et al. Prophylactic intranasal administration of a TLR2/6 agonist reduces upper respiratory tract viral shedding in a SARS-CoV-2 challenge ferret model. *EBioMedicine*. enero de 2021;63:103153.
  - Bezemer GFG, Garssen J. TLR9 and COVID-19: A Multidisciplinary Theory of a Multifaceted Therapeutic Target. *Front Pharmacol* [Internet]. 2021 [citado 26 de julio de 2021];0. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2020.601685/full>



**RECEPTORES PARA DOMINIOS  
DE OLIGOMERIZACIÓN  
PARA LA UNIÓN A  
NUCLEÓTIDOS (NOD – LIKE  
RECEPTORS) Y SEPSIS**

---

**Capítulo 3**

Pedro René Torres Cabezas

# **RECEPTORES PARA DOMINIOS DE OLIGOMERIZACIÓN PARA LA UNIÓN A NUCLEÓTIDOS (NOD – LIKE RECEPTORS) Y SEPSIS**

## **RESUMEN**

En la respuesta del sistema inmunitario a los estímulos nocivos, es indispensable un sistema de reconocimiento de las moléculas que indican un proceso nocivo en curso. Los encargados de este reconocimiento son los PRR (Receptores de Reconocimiento de Patrones), que se subdividen en varios tipos según su estructura química, su localización y sus mecanismos de acción. Todos tienen la característica común que reconocen moléculas que frecuentemente se encuentran en varios patógenos o que son comunes en los procesos de daño tisular, de esta manera confieren a la inmunidad innata su característica específica de rápida respuesta genérica, aunque menos efectiva que la altamente específica, aunque lentamente instaurada inmunidad adaptativa.

En este contexto los NLR son un subgrupo de receptores localizado en el interior de las células, que en los últimos años han sido motivo de estudio y han aclarado muchos procesos que hasta hace no mucho se consideraban desconocidos, encontrándose importantes relaciones con múltiples procesos patológicos, pero sobre todo con la generación de la respuesta inflamatoria durante la infección bacteriana que puede llevar a la sepsis y a instauración de fallos orgánicos.

El propósito de esta revisión es profundizar en los mecanismos que se desencadenan ante la estimulación de los receptores tipo NOD, como estos pueden modificar la evolución de un proceso patológico secundario a la infección, y comprender las nuevas estrategias que se plantean para el control del fallo orgánico secundario a la sepsis modificando la acción de estos receptores.

***Palabras claves:*** sepsis, receptores tipo NOD, sistema inmunológico.  
(Fuente: DeCS-BIREME)

## **ABSTRACT**

In the response of the immune system to noxious stimuli, a system of recognition of molecules that indicate a noxious process in progress is essential. Those responsible for this recognition are the PRRs (Pattern Recognition Receptors), which are subdivided into several types according to their chemical structure, their location and their mechanisms of action. They all have the common characteristic that they recognize molecules that are frequently found in several pathogens or that are common in tissue damage processes, in this way they confer on innate immunity its specific characteristic of rapid generic response, although less effective than the highly specific one. although adaptive immunity slowly established. In this context, NLRs are a subgroup of receptors located inside cells, which in recent years have been the subject of study and have clarified many processes that until not long ago were considered unknown, finding important relationships with multiple pathological processes, but above all

with the generation of the inflammatory response during bacterial infection that can lead to sepsis and the establishment of organ failure. The purpose of this review is to delve into the mechanisms that are triggered by the stimulation of NOD-type receptors, how these can modify the evolution of a pathological process secondary to infection, and to understand the new strategies that are proposed to control the failure. secondary to sepsis modifying the action of these receptors.

**Keywords:** sepsis, NOD like receptors, immune system. (Source: MeSH-NLM)

## INTRODUCCIÓN

La sepsis se define como la disfunción orgánica causada por respuesta anómala a un proceso infeccioso que pone en riesgo la vida del paciente.

El proceso fisiopatológico que lleva a la falla orgánica es complejo, variado y persistente; inicialmente se propuso un componente inflamatorio exacerbado aislado, sin embargo, al profundizar los conocimientos en inmunología y la respuesta asociada a la infección, se ha planteado un subsecuente síndrome de respuesta antiinflamatoria compensadora. La reacción específica de cada individuo dependerá de factores asociados al patógeno (carga y virulencia) y de factores asociados al huésped (características genéticas y enfermedades asociadas); entonces, el proceso infeccioso desencadena una respuesta del huésped donde se pone en marcha mecanismos proinflamatorios y antiinflamatorios con el objetivo de resolver la infección y de promover

la recuperación tisular, la pérdida de regulación de estos mecanismos puede ocasionar los fallos orgánicos o infecciones asociadas.

El inicio de la respuesta hacia el patógeno se produce por la activación de las células del sistema inmunitario innato macrófagos, neutrófilos, linfocitos citolíticos naturales, células dendríticas y células epiteliales.

Este proceso es posible gracias al reconocimiento de patrones moleculares asociados a los patógenos PAMPs, capaces de unirse a varios tipos de receptores genéricos que promueven la activación de la respuesta inmunitaria innata, estos receptores de reconocimiento de patrones PRRs están localizados a nivel de las membranas, del citosol, de endosomas o del núcleo de varios tipos celulares, especialmente las células inmunitarias y reconocen moléculas específicas propias de diferentes grupos de patógenos. Los PRRs identificados son receptores tipo TOLL, receptores tipo NOD, receptores tipo RIG, receptores de lectinas, sensores citosólicos de ADN.

Las moléculas de los patógenos que sirven como ligandos capaces de desencadenar la respuesta inmunitaria se denominan patrones moleculares asociados a patógenos PAMPs. La estructura de los patógenos es muy diversa si se considera la composición de virus, bacterias, hongos y parásitos, sin embargo, comparten características comunes según la familia de patógenos, así, varias moléculas de un mismo microorganismo pueden reconocerse por diferentes tipos de receptores. Los PAMPs pueden estar formados por diversos



componentes moleculares incluyendo proteínas, lípidos, carbohidratos, ADN y ARN (5). En la Tabla 1 se muestra varios tipos de PAMPs, su tipo de receptor y la localización de los mismos.

Los NLR reconocen varios ligandos de patógenos microbianos (peptidoglicanos, flagelina, RNA viral, hifas de hongos, etc.), células del huésped (ATPs, cristales de colesterol, ácido úrico, etc.), y de fuentes ambientales (aluminio, asbestos, silice, partículas de aleación, radiación UV, irritantes cutáneos, etc.).

Receptores tipo Toll			
TLR1/TLR2	Superficie Celular	Triacil Lipopolipéptidos	Bacteriano
TLR2/TLR6	Superficie Celular	Diacil Lipopolipéptidos	Micoplasma
		Ácido Lipoteicoico	Bacterias Gram Positivas
TLR2	Superficie Celular	Lipoproteínas	Patógenos Varios
		Peptidoglicanos	Bacterias Gram Positivas y Negativas
		Lipoarabinomanano	Micobacterias
		Porinas	Neisseria
		Lipopolisacáridos Atípicos	Leptospira
		Glicoproteínas de la Envoltura	Virus (HSV, CMV)
		Hemaglutinina	Virus del Sarampión
		Mucina de Glicosilfosfatidilinositol (GPI)	Protozoos
		Fosfolipomanano	Cándida
		Zyosan	Hongos
		B Glucanos	Hongos
TLR3	Endosomas	ARN bicatenario (bc)	Virus de la Influenza, Citomegalovirus (CMV), Reovirus
TLR4	Superficie Celular	Lipopolisacáridos	Bacterias Gram Negativas

			Glicoproteínas de la Envoltura	Virus (Virus Sincitial Respiratorio (VSR), Virus de la estomatitis vesicular (VSV))
			Manano oligosacáridos	Cándida
			Proteínas de Choque Térmico 70 (HSP 70)	Endógenos
TLR5	Superficie Celular		Flagelina	Bacterias Flageladas
TLR7/8	Endosomas		ARN monocatenario positivo (ss)	ARN Virus (VIH, Virus de la Influenza A)
TLR9	Endosomas		ADN CpG	Virus, Bacteria, Protozoos
<b>Receptores tipo RIG1</b>				
RIG1	Citoplasma		ARN bicatenario corto (5' trifosfato)	Virus (Virus de la Influenza tipo A, VSR, Virus de la Hepatitis C (VHC))
MDA5	Citoplasma		ARN bicatenario largo	Virus (Picorna Virus, Norovirus)
<b>Receptores tipo NOD</b>				
NOD1	Citoplasma		Ácido diaminopimélico	Bacterias Gram Negativas
NOD2	Citoplasma		Muramil dipéptido (MDP)	Bacterias Gram Positivas y Negativas
NLRP1	Citoplasma		Muramil dipéptido (MDP)	Bacterias Gram Positivas y Negativas
NLRP3	Citoplasma		ATP, Cristales de Urato, ARN, ADN	Virus, Bacterias y hospedador
NLR4	Citoplasma		Flagelina	Salmonella, Legionella, Listeria
<b>Receptores Scavenger</b>				
SR- A/II	Superficie Celular		Lipopolisacáridos, Ácido Lipoteicoico, ADN CpG	<i>E. coli, S. aureus, N. meningitidis</i>

MARCO	Superficie Celular	Lipopolisacáridos, Ácido Lipoteicoico, ADN CpG	<i>S. pneumoniae, N. meningitidis</i>
SR-B (CD-36)	Superficie Celular	Lipopolisacáridos, Ácido Lipoteicoico, ADN CpG	Bacterias Gram Positivas
<b>Lectinas tipo C</b>			
Receptor de Manosa	Superficie Celular	Manosa Alta, Fucosa, Lipopolisacáridos	<i>K. pneumoniae, S. pneumoniae</i>
		Polisacáridos	Micobacterias, <i>C. albicans</i> .
		Lipoarabimano manosilado (ManLam)	
DC- SIGN	Superficie Celular	Manosa Alta, Fucosa, Antígeno de Lewis*	<i>H. pylori, S. pneumoniae, Micobacterias, C. albicans</i>
Dectin-1	Superficie Celular	1,3 B Glucanos	Micobacterias, <i>C. albicans, A. fumigatus</i>
<b>Misceláneas</b>			
PKR	Citoplasma	ARN bicatenario	Virus
DAI	Citoplasma	ADN	Virus

Tabla 1: Receptores de reconocimiento de patrones PRR, patrones moleculares asociados a patógenos PAMPs y su localización celular. Adaptado de Doughty et al (5).

## *Receptores para dominios de oligomerización para la unión a nucleotidos (NOD – like receptors)*

Los NLR son un grupo de PRRs intracelulares evolutivamente conservados, que juegan un rol vital en la inmunidad innata y fisiología del huésped, como lo refleja su prevalencia en los organismos vivos en el reino animal y vegetal. En los seres humanos se reconocen 22 NLRs y constituyen la mayor clase de PRRs. La función de los NLRs va más allá de la inmunidad, se ha reportado su intervención en la reproducción y el desarrollo embrionario; la asociación de mutaciones y polimorfismos en sus genes con diferentes enfermedades, refleja su papel vital en la defensa del huésped.

La estructura de los NLR es un dominio NOD central (o NACHT), que es necesario para la oligomerización, un dominio N-terminal donde se unen las proteínas que le darán la característica de la subfamilia a la que pertenece el receptor, y un extremo C-terminal de repeticiones ricas en leucina (LRR) que se relacionan con la detección de agonistas o la unión a ligandos.

Los NLR de los mamíferos se dividen en 4 subfamilias basados en las combinaciones de diferentes proteínas en el dominio N-terminal efector. (Figura 1)

Proteínas del N-terminal efector:

- Dominio reclutador de caspasa (CARD)
- Dominios de Pirina (PYD)

- Inhibidor baculoviral de repetición de apoptosis (BIR)
- Dominio transactivador (AD)

Subfamilias de NLR:

- NLRA: combinan un dominio CARD y un AD, conocidos como CIITA.
- NLRB: combinan dominios BIR, conocidos como NAIP o Birc.
- NLRC: combinan dominios CARD, conocidos como NODs.
- NLRP: combinan dominios PYD, conocidos como NALPs.

Una vez se ha unido a su ligando, según el tipo de receptores NLRs pueden seguir uno de dos caminos específicos en la reacción inmunitaria, uno dependiente de la formación del inflamasoma y otro independiente de inflamasoma. En el primer caso el NLR activado puede reclutar y activar la proteasa inflamatoria caspasa-1 y convertirse en inflasomas, la caspasa-1 es requerida para el procesamiento y maduración de citocinas inflamatorias interleucina-1 $\beta$  e interleucina-18, y la inducción de una forma inflamatoria de muerte celular denominada piroptosis. Otros NLR actúan por una vía independiente de la activación de caspasas inflamatorias, pero activa el factor nuclear- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), la protein quinasa activada por mitógeno (MAPKs) y factores reguladores de interferones (IRFs), que estimulan la respuesta innata.

Subfamilias de NLR		Formador de inflammasoma	No formador de inflammasoma
NLRA	CIITA 		●
NLRB	NAIP5 	●	
NLRC	NOD1, NLRC4 		●
	NOD2 		●
	NLRC3, NLRC5, NLRXI 		●
NLRP	NLRP1 	●	
	NLRP2-9-II-14 	●	
	NLRP10 		●

**Figura 1:** Subfamilias de NLR y sus características. Los NLR se subdividen en subfamilias dependiendo de las proteínas unidas al extremo amino-terminal, su mecanismo de generación de respuesta puede ser dependiente de la formación de inflammasoma y activación de caspasas, o puede ser independiente de este mecanismo y estar relacionado con la activación de factores que promueven estimulación directa de la respuesta innata. CARD: Dominio reclutador de caspasa, PYD: Dominios de Pirina, BIR: Inhibidor baculoviral de repetición de apoptosis, AD: Dominio transactivador, X: Proteína no identificada.

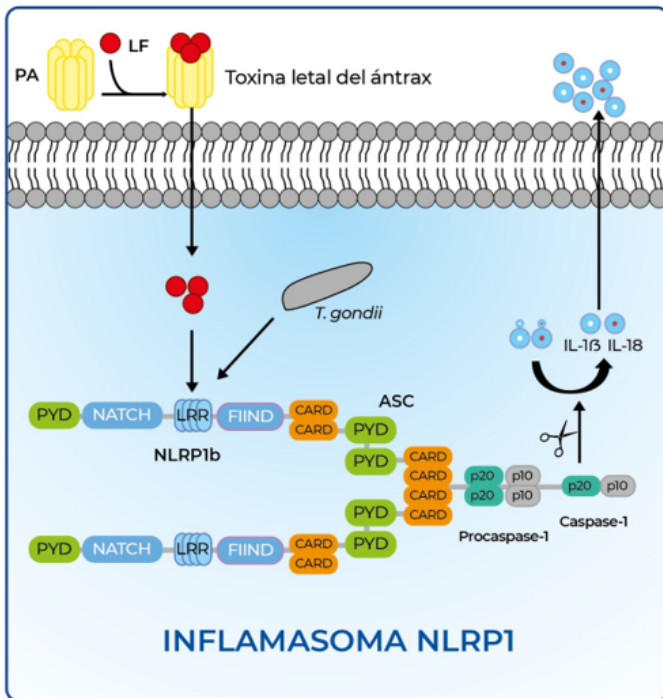
## ***NLR formadores de inflamasona***

### ***NLRP1***

Los NLRP1 pertenecen a la familia de los NLRP o también conocidos como NALPs, contiene un dominio de pirina en el extremo amino terminal y tiene la característica estructural que es el único tipo de NLR que tiene en el extremo carboxilo terminal asociado a LRR un CARD y una proteína tipo FIIND. Esta proteína FIIND del acrónico dominio con función a determinar fue descubierta hace varios años, sin embargo, mediante técnicas de ingeniería genómica y modelos de bioinformática, a esta región se le confiere la característica de autoproteolisis que sugiere un mecanismo de autoregulación de la respuesta innata. El NLRP1 es activado por muramil dipéptido

(MDP), la toxina letal del ántrax (LeTx) y moléculas no especificadas del toxoplasma gondii. Figura 2

Actualmente se propone además que NLRP1 actúa como una trampa para reconocer la función enzimática de una amplia gama de proteasas virales permitiendo la activación y formación del inflammasoma NLRP1, se sugiere que la imitación del huésped de los sitios de escisión de poliproteínas virales puede ser una estrategia evolutiva para activar una sólida respuesta inmunitaria inflamatoria.



**Figura 2:** El inflammasoma NLRP1 reconoce el factor letal de la toxina del ántrax y el toxoplasma gondii. La activación del NLRP1 junto a la caspasa 1 y al ASC (Proteína tipo partícula asociada a la apoptosis que contiene un CARD C-terminal) lleva a la formación del Inflammasoma NLRP1. La caspasa 1 activa, por una vía de procesamiento proteolítica rompe la proIL-1β y la pro IL-18 en sus formas maduras IL1β e IL-18.



### ***NLRP3***

Los inflamasomas activados por NLRP3 son los más estudiados, pueden activarse por una amplia variedad de estímulos exógenos y endógenos, sin embargo, predominan los DAMPs por lo que es el principal implicado en la activación de la injuria estéril.

Tanto los PAMPs o los DAMPS tienen la capacidad de activar los inflamasomas NLRP3, el receptor NLRP3 no es capaz de reconocer por individual cada una de estas moléculas, pero puede activarse por las alteraciones de la homeostasis intracelular secundarias al estrés celular como el cambio en el estado de óxido reducción o la concentración de iones.

El proceso de activación del receptor NLRP3 está muy relacionado con la mitocondria por dos mecanismos, en primer lugar sobre la mitocondria se ensamblará el complejo molecular inflamasoma NLRP3; en segundo lugar, varias moléculas producidas o liberadas por la mitocondria son capaces de activar este receptor, entre estas destacan especies reactivas de oxígeno mitocondrial mROS, ADN mitocondrial y el fosfolípido cardiolipina.

Una de las respuestas relacionadas con el estrés celular, es la activación de la vía activada por la disfunción del retículo endoplasmático (ERS Endoplasmic Reticulum Stress) que ocasiona la activación de respuestas a proteínas desplegadas (UPR) . La UPR (Unfolded Protein Response) se activa por la acumulación de proteínas desplegadas o mal

plegadas en el retículo endoplásmico, esta respuesta tiene dos objetivos, inicialmente busca recuperar el funcionamiento normal de la célula al detener la traducción de proteínas anormales e incrementando la producción de chaperonas moleculares para el adecuado plegamiento de las proteínas; si no se alcanza este objetivo, la UPR dirige la célula hacia la apoptosis. El estímulo de las UPR ocasiona la activación de tres tipos de proteínas PERK, IRE1 y ATF6, estas proteínas activadas son capaces de iniciar la transcripción de genes proinflamatorios con la producción de citocinas proinflamatorias. La relación entre estas proteínas activadas (PERK, IRE1 y ATF6) con la activación del NLRP3 no es clara aún, se ha reportado que la activación de IRE $\alpha$  aumenta la concentración de mROS y promueve la asociación de NLRP3 con la mitocondria, se ha propuesto además que podría existir la activación directa de NLRP3 por el estímulo de subtipos de PERK y de IRE. Este mecanismo de activación del NLRP3 como respuesta a la producción de las proteínas desplegadas por la disfunción del RE secundaria al estrés celular se explica en la Figura 3.

El aumento en la concentración de calcio intracelular puede activar el receptor NLRP3, el mecanismo está relacionado con la estimulación por ATP de la fosfolipasa C que incrementa la concentración de inositol trifosfato capaz de liberar calcio del retículo sarcoplásmico. Esta liberación intracelular de calcio promueve una entrada extracelular extra de calcio por un mecanismo conocido como SOCE (store-operated calcium entry), sin embargo, la mayor cantidad de calcio es

dependiente de la liberación intracelular del retículo sarcoplásmico. El calcio también se puede incrementar por un mecanismo dependiente de estrés sobre el retículo endoplásmico, este calcio a nivel de la mitocondria es capaz de producir una sobrecarga y daño mitocondrial con activación de mtROS, mtADN y cardiolipina. El calcio altera la membrana mitocondrial produciendo una pérdida de citocromo c con la liberación de ROS capaces de abrir el canal de rinodina del retículo sarcoplásmico e incrementar la liberación de calcio ocasionando un mecanismo exponencial. En conclusión el calcio tanto liberado por el incremento de ATP como liberado durante el estrés del retículo endoplásmico (ERS) es un potente activador del NLRP3 y de inflamación.

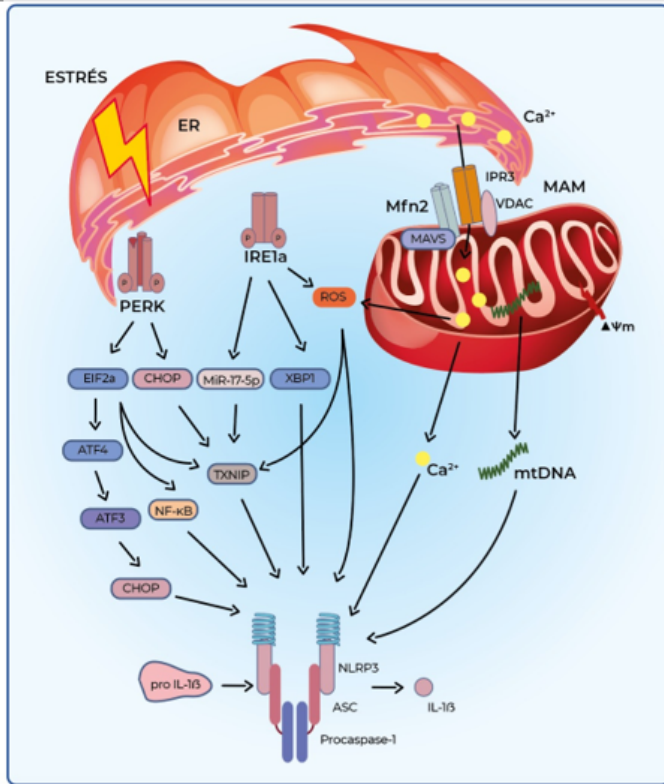
El estrés oxidativo y el estrés del retículo endoplásmico (ERS) pueden de manera sinérgica causar disfunción celular e inflamación autónoma por activar el receptor NLRP3, los ROS son liberados principalmente de la oxidación a nivel mitocondrial, de la oxidación de proteínas mal plegadas UPR y por un consumo de glutatión reducido por enlaces disulfuro inestables. TXNIP es un ligando NLRP3 sensible a ROS que permite la activación directa del NLRP3 y caspasa-1 dependiente de ROS.

El receptor NLRP3 puede activarse por cristales de ácido úrico liberados como DAMPs de células muertas, el mecanismo sugerido es por alteración en las concentraciones intracelulares de potasio. Otras moléculas capaces de activar este receptor son el silice y el asbesto

por un mecanismo relacionado con alteración en la producción de radicales libres de oxígeno secundario a inestabilidad lisosomal del macrófago. Sin embargo, tanto en las moléculas de cristales de ácido úrico como en el silice y asbestos, este mecanismo de activación funciona de manera complementaria y requiere la preestimulación de PAMPs microbianos.

Existen varias toxinas bacterianas con capacidad de activar el inflammasoma NLRP3, se reportan las tóxicas: estreptolicina (*Streptococcus pyogenes*), maitotoxina (*Gambierdiscus toxicus*), nigericina (*Streptomyces hygroscopicus*), valinomicina (*Streptomyces* sp) y aerolisina (*Aeromonas hydrophila*). El mecanismo de activación se relaciona con alteración en la producción de radicales libres de oxígeno, desbalance iónico intracelular e inestabilidad fagosómica.

Se reportan 2 nuevas moléculas activadoras de NLRP3 en estudio GBP5 (Guanylate-binding protein) y PKR (RNA-dependiente protein kinase), relacionadas con la lesión y el daño celular, con un mecanismo de activación aún no aclarado.



**Figura 3:** Adaptado de Li et al (14). Los inflammasomas NLRP3 median la respuesta inflamatoria inducida por ERS (Endoplasmic Reticulum Stress). Un complejo proceso de activación en cascada de proteínas termina en la activación de la procaspasa. La proteína PERK fosforila eIF2 $\alpha$ , que desencadenan la activación de TXNIP y NF- $\kappa$ B, además se activa la vía de señalización PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF3 que promueve la expresión de CHOP. Este último facilita la apertura de VDAC que transporta Ca<sup>2+</sup> desde la membrana mitocondrial externa, activando así el inflammasoma NLRP3 y liberando IL-1 $\beta$ . La proteína IRE1 $\alpha$  también activa el inflammasoma NLRP3, a través de su acción sobre XBP1 y de MiR-17-5P. ERS puede inducir la producción de ROS, que a través de TXNIP produce la activación de los cuerpos inflamatorios NLRP3. Además, el Ca<sup>2+</sup> que se acumula en el retículo endoplásmico durante el estrés se transfiere a las mitocondrias a través de un conjunto de proteínas conocido como MAM, lo que agrava aún más la producción de ROS y el daño del mtDNA. La movilización de Ca<sup>2+</sup> también activa directamente los cuerpos inflamatorios NLRP3.

PERK, proteína quinasa ARN- (PKR-) similar a quinasa; eIF2 $\alpha$ , factor 2 $\alpha$  de iniciación de la traducción eucariota; TXNIP, proteína que interactúa con tioredoxina; NF- $\kappa$ B, factor nuclear  $\kappa$ B; ATF3, factor de transcripción activador 3; ATF4, factor de transcripción activante 4; CHOP, proteína homóloga C / EBP; VDAC, canales de aniones dependientes del voltaje; NLRP3, familia NLR, dominio pirina que contiene 3; ROS, especies reactivas de oxígeno; XBP1, proteína de unión a caja X 1; MAM, membrana asociada a mitocondrias.

## ***NLRP6***

El receptor NLRP6 tiene una estructura típica de los NLRP con un dominio de pirina en el extremo aminoterminal que sirve de sitio de unión a la proteína ASC de transmisión intracelular y un extremo LRR de unión a agonistas.

Las funciones de este receptor aún no están completamente explicadas, sin embargo, se cuenta con favorable evidencia que demuestra que se relacionan con la adecuada regeneración del epitelio intestinal, mejoría en la curación de heridas, protección en la génesis de tumores y mantener una microbiota eficiente.

Se ha catalogado como un receptor capaz de reconocer productos bacterianos y de daño celular para mantener la homeostasis intestinal permitiendo una flora intestinal normal evitando disbiosis.

Mediante este mecanismo se ha relacionado con una protección para la progresión del hígado graso no alcohólico a hepatitis esteatósica no alcohólica al regular la proliferación de bacterias litogénicas. El mantener un equilibrio en el crecimiento de bacterias intestinales es un factor protector de otras patologías, se ha reportado disrupción de la microbiota en pacientes con encefalitis y el grado de severidad y

de daño neurológico se correlaciona con la microbiota intestinal y sus metabolitos.

En los modelos murinos con ausencia del receptor NLRP6 se ha evidenciado disminución en la capacidad de curación de heridas, aunque muestra tendencia a la proliferación celular que lleva a displasias que puede progresar a la generación tumoral a nivel intestinal.

Igualmente, en modelos animales con deficiencia del receptor NLRP6 se reporta una alta resistencia a las infecciones por listeria monocitogenes y escherichia coli. En estos animales se aprecia un aumento de las células inmunitarias circulantes, mayor activación de la señalización dependiente de MAPK y NF-KB, y mayor activación de los receptores tipo toll. Esto sugiere que el NLRP6 suprime vías inflamatorias TLR dependientes que podría prevenir patología inflamatoria amplificada.

### ***NLRP7***

El receptor NLRP7 está conformado por un dominio pirina en el extremo aminoterminal que se une al NACHT y se continua con LRR en el extremo carboxiloterminal. El NLRP7 reconoce lipopéptidos bacterianos. Su función no se encuentra claramente especificada, en trabajos experimentales se ha demostrado que la inactivación del NLRP7 disminuye los niveles circulantes de IL-1B y de TNF en respuesta a LPS, a pesar de encontrarse niveles intracelulares de pro IL-1B normales, esto sugiere que la estimulación de este receptor juega un rol en el trafica y generación intracelular de citocinas. Se ha que la expresión de NLRP7 esta incrementada en ciertos tipos de cáncer como el testicular y endometrial.

## ***NLRP12***

La función del NLRP12 está en relación tanto con la activación de inflamasoma como modulación de NF-KB.

Varios trabajos experimentales han reportado que la estimulación del receptor NLRP12 produce una regulación negativa de NF-KB, en modelos murinos con alteración del receptor NLRP12 se aprecia incremento de la inflamación relacionada con NF-KB; a pesar de encontrarse valores de citocinas proinflamatorias no alterados, se observó además que en modelos in vitro la inactivación del receptor disminuye la respuesta a estímulos quimiotácticos de neutrófilos y células dendríticas.

La disfunción del receptor NLRP12 se relaciona con enfermedades autoinflamatorias tipo dermatitis atópica y síndromes febriles periódicos hereditarios.

En base a estos reportes, se plantea que este receptor juega un papel tanto estimulante como inhibidor de la inflamación, suprime la actividad del factor NF-KB, estimula la migración celular y estimula la activación de inflamasoma.

## ***NLRC4 Y NAIPs***

Los dos receptores se complementan formando un solo complejo inflamasoma activador de caspasa 1. El NLRC4 está formado por un CARD en el extremo aminoterminal que se une de manera directa a la caspasa 1 sin requerir la fracción ASC. El NAIP, miembro de la subfamilia NLRB, formado por tres dominios BIR (Inhibidor



baculoviral de repetición de apoptosis) en su extremo amino terminal unido al NACHT y la región LRR que permite reconocer los componentes bacterianos principalmente flagelina y componentes de tipo T3SS (sistema de secreción bacteriana tipo 3). Figura 4

El complejo de inflammasoma NLRC4-NAIP tiene un rol importante en la sobrevivencia del huésped y aclaramiento del patógeno en infecciones por *legionella pneumophila*, *candida albicans*, *burkholderia pseudomallei*, *klebsiella pneumoniae*, *salmonella* spp.

Se ha reportado la acción conjunta de este complejo en algunas infecciones con el receptor NLRPE y TLR5, aunque su contribución parece ser secundaria. En el caso del NLRP3 la respuesta del NLRC4 se relaciona con la generación de piroptosis y el NLRP3 con la secreción de IL-1 $\beta$  e IL-18.

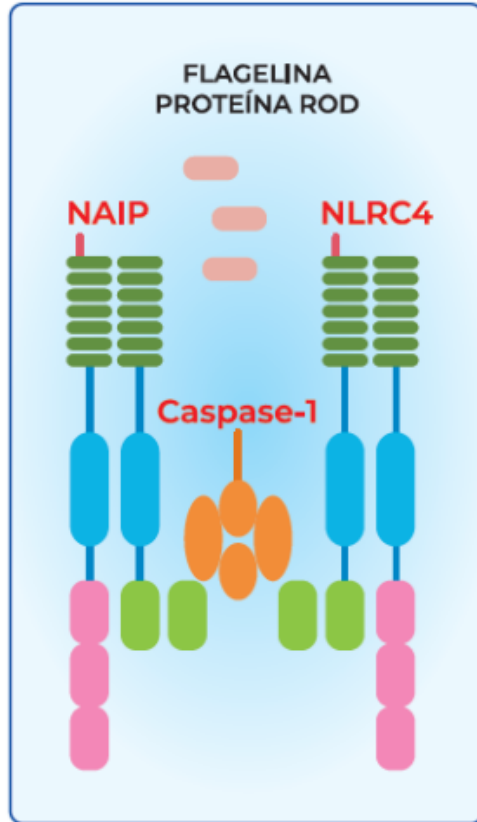


Figura 4: Adaptado de ZHONG et al (7). NLRC4 y NAIPS.

### ***Inflamasoma***

El inflamasoma es un complejo proteico multimérico capaz de activar a la enzima caspasa 1 para inducir el procesamiento y activación de IL-1 $\beta$  e IL-18 (6). Las caspasas son una familia de proteasas de cisteína intracelulares que tienen la capacidad de escindir proteínas precursoras; se describen dos familias de caspasas catalogadas como proinflamatorias y proapoptóticas, las caspasas proinflamatorias son

caspasas 1,4,5, 11 y 12; las caspasas proapoptóticas son caspasas 2, 3, 7, 8, 9 y 10.

La caspasa 1 fue la primera identificada, se ubica en el citosol de las células fagocíticas como zimógeno inactivo, capaz de ser activada por señales microbianas y endógenas. La procaspasa 1 es autoactivada por clivaje proteico en su forma activa que consiste en un heterodímero de cadenas de 10 y 20 KDaltons.

Para la activación de la caspasa 1 es necesario el ensamblaje de un complejo proteico en respuesta a un estímulo proinflamatorio. Este complejo se compone de una zona de unión a PAMPs o DAMPs, constituida por un NLR del grupo de los formadores de inflamasoma (NLRP1, NLRP3, NLRP6, NLRP7, NLRP12, NLRC4-NAIP), una zona de transición conocida como adaptador ASC (apoptosis-associated speck-like protein containing a C-terminal CARD), y el zimógeno procaspasa 1. Cabe recalcar que el inflamasoma NLRC4-NAIP se une directamente desde la zona amino terminal del NLRC4 que contiene una fracción CARD a la procaspasa 1 y no requiere el adaptador ASC para la activación.

La caspasa 1 activada estimula el procesamiento de pro IL-1 $\beta$  y pro IL-18 en sus formas activas IL-1 $\beta$  y IL-18.

### ***Inducción de piroptosis y regulación de autofagia por el inflamasoma***

Los dos modelos tradicionales de muerte celular son necrosis y apoptosis, ambos llegan al final de un daño celular continuo. La

apoptosis es un proceso de muerte celular programada que juega un rol crucial en el desarrollo de los tejidos y la homeostasis; no se relaciona con la generación de inflamación por la fagocitosis de células apoptóticas por macrófagos M2. Las caspasas proapoptóticas regulan esta forma de muerte caracterizada por el desmantelamiento celular programado. La necrosis es el proceso de muerte celular ocasionado por la exposición celular sostenida a una amplia variedad de insultos tóxicos, que conlleva finalmente a distorsión y ruptura de la membrana plasmática y de los organelos celulares.

Los receptores NLR son capaces de regular muerte celular inducida por microbios mediante la correlación que existe entre la expresión de caspasa 1 y con la generación de piroptosis. La piroptosis es un proceso especializado de muerte celular, iniciada por la infección de macrófagos con múltiples patógenos intracelulares bacterianos. Se asocia a una rápida disrupción de la membrana celular y a la maduración asociada de pro IL- $\beta$ 1. Este tipo de respuesta se ha reportado en infecciones por salmonela, pseudomonas, shigella, listeria, legionela y ante la presencia de la toxina letal del anthrax o altos niveles de ATP.

Se ha observado en modelos experimentales que ante la ausencia de activación de la caspasa 1 por el déficit de NLRC4 y de ASC, se produce un retraso de la muerte celular, llegando a inducirse por mecanismos de muerte alternos al modelo de piroptosis. Aunque la función biológica in vivo se mantiene en estudio, la rápida cinemática de inducción de piroptosis previene la aparición de otras formas de

muerte celular que podría desencadenar respuestas exageradamente inflamatorias o antiinflamatorias. Aún se mantiene por aclarar cuál es el rol de la piroptosis en la defensa del huésped independiente de IL- $\beta$ 1 e IL-18.

Se denomina autofagia al proceso de degradación intracelular que permite a la célula destruir componentes citoplasmáticos sin llegar a la muerte celular. Se logra gracias a un proceso de direccionamiento de los constituyentes citoplasmáticos específicos hacia los lisosomas para su degradación, contribuye a la eliminación de microbios patógenos intracelulares promoviendo su degradación en los lisosomas.

Existen patógenos que son capaces de generar factores de virulencia que inhiben la autofagia, o incluso, pueden trastornar la maquinaria autofágica para crear un compartimento vacuolar donde la bacteria puede residir o replicarse. De manera experimental se ha observado que la caspasa 1 puede actuar como un regulador negativo de la respuesta autofágica inducida por shigella, en el caso particular de la shigella esto evita la formación del compartimento vacuolar que permite la proliferación de esta bacteria, se propone que de esta manera se activa la respuesta más adecuada del huésped contra este mecanismo específico. Se requiere más estudios para aclarar la relación inflamasoma autofagia durante infecciones bacterianas.

### ***Rol del inflamasoma en la respuesta del huésped***

La activación del inflamasoma puede producirse por dos vías una preestimuladora dependiente de TLR o una estimuladora dependiente

de NLR, se conocen como modos de señalización canónicos y no canónicos. El modo de activación canónico es el modo clásico dependiente de NLRP que forma un complejo macromolecular como el NLRP3-ASC-Procaspa 1 que permite la activación de IL-1 $\beta$ , IL-18 y de piroptosis. El modo de activación no canónica requiere señalización mediada por TLR4 estimulado por LPS que ocasiona la activación de caspasa 11 capaz de desencadenar apoptosis y secreción de IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ . Posteriormente a la activación no canónica la caspasa 11 estimula la activación de la caspasa 1 al promover la vía NLRP3-ASC-procaspa 1 que ocasiona la conocida activación de IL-1 $\beta$ , IL-18 y de piroptosis.

### ***NLR inflamasoma independientes***

#### ***NOD1/2***

Los receptores NOD1 y NOD2 forman parte de la familia de NLRCs, se caracterizan por estar constituidos por la unidad NOD que consta del NACHT, unido a este la región LRR en su región amino terminal y CARD en la región carboxiloterminale. El NOD1 tiene un residuo CARD y se identifica en varios tipos de células, mientras el NOD2 tiene 2 residuos CARD y se encuentra en las células mieloideas, keratinocitos, células intestinales y pulmonares, y epitelio oral.

Los receptores NOD1 y NOD2 pueden activarse por componentes bacterianos, reconocen peptidoglicanos DAP (ácido diaminopimérico) y muramil dipéptido (MDP) de bacterias gram positivas y gram negativas, reportándose una mayor afinidad de NOD2 por MDP. NOD2

tiene también la capacidad de activarse en infección no bacteriana al reconocer ARN de cadena simple en infecciones virales, lo que induce una respuesta interferón dependiente.

Los mecanismos inmunológicos relacionados con la activación de los NOD1/2 son: estimulación de inmunidad antibacterial a través del nodosoma, respuesta antiviral por activación de interferón, sinergia con NLRP, estimulación de autofagia y coadyuvante en la inmunidad adaptativa.

En relación con la respuesta antibacterial relacionada con NOD1/2, una vez se produce el reconocimiento de MDP o DAP por NOD1/2 se conforma el complejo proteico denominado nodosoma, este es estabilizado por ubiquitinas y estimula una cascada proteica de mediadores que culminan con la activación del NF- $\kappa$ B (Factor nuclear procesador de cadenas ligeras Kappa de células B), este factor activado es capaz de traslocar al interior del núcleo y controla la transcripción del ADN con la mayor expresión de genes implicados en el desarrollo maduración y proliferación de la respuesta inflamatoria. De manera similar se puede activar el complejo MAPK (Vía de proteína cinasa activada por mitógenos) a través de sus subtipos p38, JNK y ERK, que son proteína cinasas serina/treonina capaces de traslocar al núcleo y regular la transcripción y modular la expresión de genes proinflamatorios. Figura 5

Los receptores NOD2 pueden reconocer ARN viral de cadena simple en el citoplasma celular y estimular el ensamblaje de MAVS (Proteína señalizadora antiviral mitocondrial) en la superficie de la mitocondria, este MAVS secretado en células infectadas permite la secreción de citocinas que estimulan la respuesta inmune y llevan a la muerte de la célula infectada como mecanismo de control de la infección. El mecanismo de acción de MAVS es activar IRF3 (Factor regulador de interferón) que una vez activado trasloca al núcleo y activa la transcripción de interferón  $\alpha$  y  $\beta$ , además de otros genes relacionados con la actividad antiviral del interferón.

Se ha reportado, que la activación de NOD1/2 produce sinergia con otros receptores NLRP específicamente NLRP1 y NLRP12, lo que puede estimular la activación de vías inflamatorias dependientes de inflammasoma. NOD1 y NOD2 activados interactúan con ATG16L1, una proteína reguladora del tráfico intracelular capaz de inducir autofagia mediante la fusión de vacuolas intracelulares con lisosomas para formar autofagosomas capaces de degradar organelos u otros componentes intracelulares y reciclar sus componentes durante periodos de inanición o estrés; en este proceso además se favorece la generación de antígenos que pueden ser presentados por el complejo principal de histocompatibilidad MHC tipo II.

La activación de NOD1 y NOD2 estimula la inmunidad adaptativa por diversos mecanismos: Tanto NOD 1 como NOD2 promueven un mecanismo coadyuvante en la producción de IgG antígeno específica



por la estimulación de Th2 a través de IL4 e IL5. NOD1 puede estimular directamente Th2 para la producción de IgG. NOD 1 y NOD2 estimulan la linfopoyetina en el timo aumentando la generación de esta línea celular, y aumentan además las moléculas coestimuladoras en las células dendríticas. Los NOD1 activados actúan en sinergia con señales estimuladoras de TLR promoviendo el cebado para la activación de Th1, Th2 y Th17.

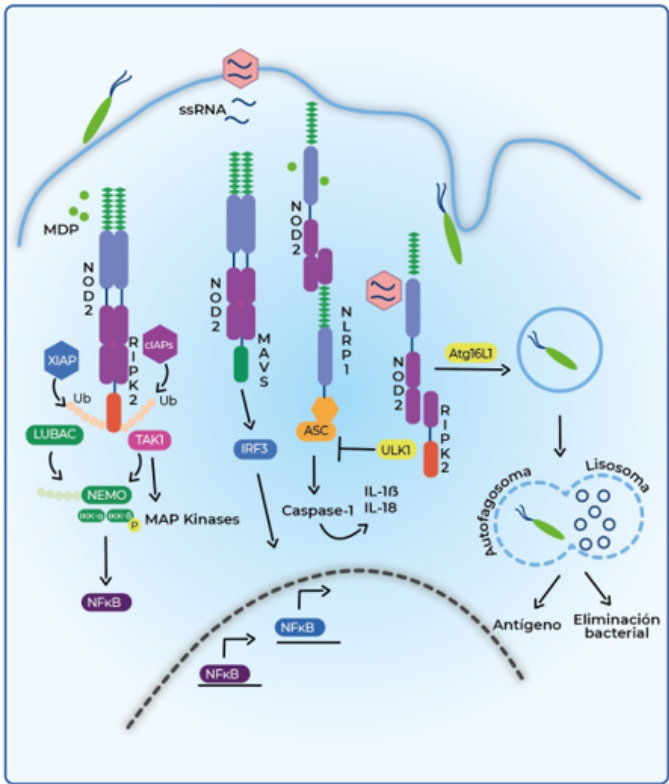


Figura 5: Adaptado de Zhong et al (7). Los receptores NOD1 y NOD2 reconocen los peptidoglicanos bacterianos DAP y MDP, los eventos relacionados con la transducción de señal intracelular llevan a la formación de un complejo nodosoma que es estabilizado por actividad ubiquitina mediada por ligandos que incluyen cIAP1/2, XIAP, LUBAC

e ITCH; estas proteínas sirven como sitio de unión de quinasas efectoras, incluyendo TAK1 y el complejo IKK, estos activan las vías de NF- $\kappa$ B y MAPK. Los NOD2 pueden ser activados por virus RNA de cadena simple y estimulan una respuesta antiviral innata mediante la participación de MAVS e IRF3. El receptor NOD1/2 pueden interactuar con NLR formadores de inflammasoma como NLRP1 y estimular la actividad caspasa 1 sobre IL-1 $\beta$  e IL-18. Además, los receptores NOD1/2 han sido identificados en iniciar la autofagia en asociación con ATG16L1 promoviendo la presentación de antígenos y eliminación de bacterias.

### ***NLRP10***

El NLRP10 es parte de la familia NLRP que tienen un dominio pirina en el extremo amino terminal unido al NACHT, tiene la particularidad que no tiene la zona de repeticiones ricas en leucina (LRR) que sirve de zona de reconocimiento molecular, por este motivo, se ha planteado su función como reguladora de otras vías metabólicas. Se encuentra en células de riñón, testículos, colon y en la piel.

Sus funciones están aún siendo estudiadas y aunque no se han aclarado los mecanismos moleculares específicos se reconoce las siguientes funciones principales:

El NLRP10 tiene una función reguladora negativa sobre la formación de inflammasoma tanto por un bloqueo sobre la proteína ASC dependiente del dominio de pirina y evitando la muerte celular mediada por ASC, como también se observa una disminución de la activación de NF- $\kappa$ B. Lo que sugiere que tanto el NACHT como el PYD de NLRP10 funcionan de forma independiente a diferentes niveles de activación del inflammasoma, esta interacción ha sido evidenciada.

En infecciones bacterianas específicas como infecciones por shigella

flexneri, se demuestra que NLRP10 interactúa con varios componentes de la vía NOD1 mejorando así las respuestas inmunes innatas mediadas por NOD1. No se comprende del todo cómo exactamente NLRP10 mejora las respuestas inmunitarias innatas mediadas por NOD1, aunque se demostró que NLRP10 mejora la liberación de citocinas proinflamatorias desencadenadas a través de la activación de p38 y NF- $\kappa$ B (30).

En modelos experimentales murinos con ausencia de NLRP10 se observa un defecto en la migración de células dendríticas, lo que sugiere una participación de NLRP10 en la motilidad celular basada en actina, aunque su mecanismo moléculas no ha sido explicado.

En modelos experimentales murinos con inactivación de NLRP10 se ha observado una alteración de la inmunidad adaptativa caracterizada por la disminución en la capacidad de generar una efectiva respuesta específica frente a antígenos, a pesar de no encontrarse defectos in-vitro en la función de los linfocitos T y B, se reporta una disminución de la tasa de división celular de linfocitos T, indicando un proceso de presentación de antígenos por la célula dendrítica aparentemente disfuncional.

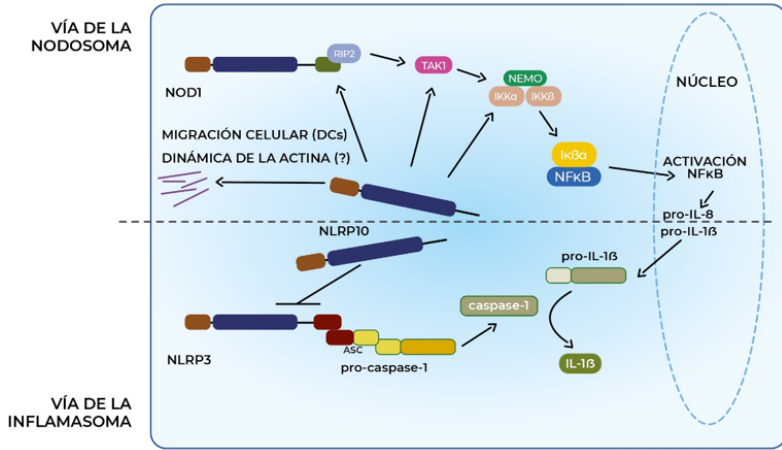


Figura 6: Adaptado de Damm et al (30). Funciones celulares de NRP10. Estudios en líneas celulares muestran que NLRP10 interactúa con varios componentes de la vía NOD-1 de este modo mejora las respuestas inmunes mediadas por NOD-1. Adicionalmente, en modelos particulares NLRP10 afecta la activación del inflamasoma NLRP3. Se sugiere además un rol en la motilidad celular basada en actina en células dendríticas en migración.

## ***NLRX1***

El NLRX1 es un NLR que consta de un LRR en su extremo carboxilo terminal, el dominio NACHT y unido a este una proteína de reciente descubrimiento conocida como secuencia de focalización mitocondrial.

Este receptor se expresa en la superficie mitocondrial y sus funciones se relacionan con la interacción entre la mitocondria y las respuestas inmunitarias.

El NLRX1 se relaciona con la respuesta antiviral mediante varios mecanismos, tanto activadores como inhibidores, principalmente su función es inhibidora tanto por no permitir la unión del PRR RIG-1 al MAV evitando la producción de IFN-1, como también por inducir la

ubiquitinización y degradación del complejo MAV activado evitando también la producción de IFN-1. El tercer mecanismo inhibitor es la disminución de la producción de IFN-1 por una vía MAV independiente a través de la unión y bloqueo de STING (estimulador de genes interferón). Figura 7

Los mecanismos estimuladores de producción de IFN por el NLRX1 son: En los macrófagos, la unión de NLRX1 con la proteína viral PB1-F2 de la influenza, produce estimulación directa de la producción de interferón e inhibe la apoptosis del macrófago. La proteína viral PKR es capaz de ocasionar un bloqueo de síntesis de proteínas del huésped, el NLRX1 se une a PKR bloqueando este efecto, esto promueve la activación de IRF-1 (factor de transcripción regulador de interferón) que aumenta la producción de IFN. Finalmente el NLRX1 interacciona con FAF1 que es un gen que codifica la proteína Factor 1 asociado a FAS que es una ubiquitina capaz de lisar el complejo NLRX1/MAV lo que inhibe el bloqueo de la producción de IFN.

La activación de NLRX1 regula de manera negativa la expresión de NF- $\kappa$ B, esto disminuye la producción de citocinas proinflamatorias. Mediante este mecanismo, durante la respuesta proinflamatoria, NLRX1 previene la exacerbación exagerada de la inflamación evitando el daño tisular.

El NLRX1 es capaz de regular el proceso de autofagia, en células infectadas por virus o tumorales, interacciona con TUFM (factor

de elongación tumoral mitocondrial) que promueve la autofagia; en infecciones bacterias se aprecia al contrario que reduce la formación de autofagosoma. En infecciones fúngicas, el complejo TUFM/NLRX1 facilita la unión de LC3-II una proteína relacionada con la autofagia que promueve la formación del fagosoma. Por un mecanismo de interacción con LC3 es capaz de reclutar autofagosomas a la mitocondria lo que promueve la mitofagia.

En relación a la generación de especies reactivas de oxígeno y la generación de apoptosis, la activación de NLRX1 es capaz de inducir o inhibir la producción de mtROS, regula de forma positiva la apoptosis por la vía de caspasa 8 inducida por  $TNF\alpha$ , se une a DRP1 (Proteína tipo Dinamin-1) que es una GTPasa que regula la fisión mitocondrial, esto inhibe la necrosis celular, pero promueve la apoptosis. NLRX1 se une y promueve la acción de SARM1 una proteína adaptadora TLR presente en gran cantidad en las células del sistema nervioso, que se encuentra también en macrófagos y células T, actúa como sensor de estrés metabólico que desencadena apoptosis.

La activación de NLRX1 produce variaciones metabólicas, a nivel general disminuye el metabolismo de la glutamina, en las células inmunes bloquea glicolisis aerobia, disminuye la entrada de glucosa y promueve fosforilación oxidativa; en las células no inmunitarias y cancerosas se reporta que promueve la producción de componentes de ETC (cadena transportadora de electrones), atenúa la fosforilación oxidativa y aumenta la glucólisis aeróbica.

En general, la estimulación de NLRX1 tiene una actividad variable, con tendencia a la regulación negativa de la inmunidad innata y respuestas celulares, a nivel mitocondrial busca mantener la homeostasis luego de una injuria mitocondrial.

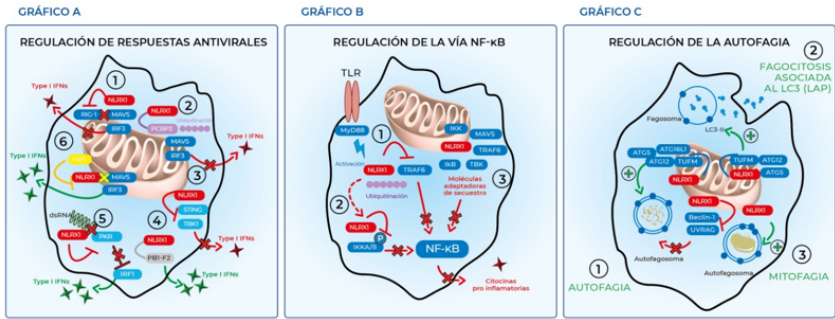


Figura 7: Adaptado de Fekete et al. (31). Receptor NLRX1. El receptor NLRX1 se relaciona con la regulación de las respuestas antivirales, regulación de la vía de NF-κB y regulación de la autofagia.

Gráfico A. Regulación de la respuesta antiviral: 1. NLRX1 inhibe la unión de RIG-I a MAVS impidiendo la respuesta de interferón tipo I. 2. NLRX1 promueve la unión de PCBP2 a MAVS lo que promueve su ubiquitinación y degradación disminuyendo los niveles de IFN tipo I. 3. NLRX1 previene la secreción mediada por TBK1 de IFN tipo I mediante la unión a STING. 4. NLRX1 interactúa con PB1-F2 y promueve la producción de IFN tipo I. 5. NLRX1 compete con PKR por ligarse a RNA de doble cadena y previene el bloqueo de síntesis de proteínas del huésped mediado por PKR, esto promueve la respuesta antiviral temprana de IRF1 y la producción de IFN tipo I. 6. FAF1 interactúa con NLRX1 y bloquea la unión de NLRX1 a MAVS lo que permite la producción de IFN.

Gráfico B. Regulación de las vías NF-κB: 1. En células inactivadas, NLRX1 interactúa con TRAF6 e inhibe la vía de NF-κB. 2. En células activadas, NLRX1 se disocia vía ubiquitinación de TRAF6 y se une al complejo IKK, esto previene la producción proinflamatoria de citocinas por estimulación NF-κB. En injuria aguda, MAVS, TBK1, IKK, IκB y TRAF6 activados son reclutados a la mitocondria donde interactúan con NLRX1, el cual bloquea la actividad NF-κB.

Gráfico C. Regulación de la autofagia: 1. En células tumorales o infectadas por virus, NLRX1 interactúa con TUFM y promueve la autofagia, o puede también de manera inversa en infecciones bacterianas disminuir la autofagia a través de la inhibición de complejo

Beclin1-UVRAG. 2. En caso de infecciones por hongos, se forma un complejo entre NLRX1 y TUFM que ayuda a la fagocitosis asociada a LC3-II facilitando la incorporación de LC3-II a la membrana del fagosoma. 3. Vía interacción con LC3, NLRX1 recluta autofagosomas a la mitocondria y promueve la mitofagia.

## ***NLRC5***

NLRC5 tiene una estructura similar a los demás NLR, aunque el dominio CARD tiene una estructura diferente a los dominios CARD encontrados en otros NLR (7). Las funciones del NLRC5 actualmente identificadas son: regula de manera positiva la presentación de antígenos por el MHC I a los linfocitos CD8, regula la respuesta inflamatoria, tiene un papel en defensa viral y promueve formación de inflammasoma. Figura 8

El NLRC5 activado tiene un rol regulador en la presentación de antígeno dependiente del MHC tipo I, en este proceso el interferon tipo 1 activa la transcripción del factor STAT1 (Tranductor de señal y activador de transcripción) que promueve la expresión de los genes relacionados con la producción de NLRC5, este NLRC5 que incremento en el citoplasma una vez activado ingresa al núcleo de la célula, se une a factores de transcripción y aumenta la expresión de los genes que codifican las proteínas del MHC I. El MHC 1 se une en el retículo endoplásmico a antígenos peptídicos citoplasmáticos procesados y es exportado a la pared celular desde donde presenta el antígeno a los linfocitos TCD8.



El NLRC5 regula la sobreexpresión de la respuesta inflamatoria por dos mecanismos, produce una regulación negativa de TLR4 y RIG1 disminuyendo la respuesta a LPS bacterianos. NLRC5 es un potente regulador negativo de NF- $\kappa$ B, la proteína IKK $\gamma$  se une las subunidades IKK $\alpha$  e IKK $\beta$  promoviendo su fosforilación y actividad quinasa como parte de la cascada de generación de NF- $\kappa$ B, NLRC5 evita este proceso por un mecanismo de competencia con IKK $\gamma$ ; como mecanismo de reversión de este proceso, se reporta que la presencia de TRAF2 y TRAF6 (factores asociados al receptor TNF), que sirven como adaptadores en la señalización de NF- $\kappa$ B, median la ubiquitinación de NLRC5, bloqueando la interacción IKKs-NLRC5 y rescatando la activación de NF- $\kappa$ B.

En estudios de modelos animales en los que se ha inactivado el NLRC5, se aprecia una disminución de los niveles de IFN tipo 1 y una respuesta menos efectiva a las infecciones virales. Esto sugiere que el NLRC5 tiene actividad antiviral incrementando la producción de interferones.

El NLRC5 actúa como un activador sinérgico del inflamasoma NLRP3, esto se ha reportado al observarse a nivel experimental que ante la inactivación de NLRC5 se produce una disminución de la actividad de la caspasa 1 del inflamasoma, lo que lleva a menores niveles de IL-1 $\beta$ . Sin embargo este efecto no se reportó en ciertos grupos celulares como las células dendríticas, lo que se sugiere que la estimulación en la formación de inflamasoma es específico de ciertas células.

Se ha encontrado relación entre los niveles de NLRC5 y cáncer. El mecanismo que favorece la presentación de antígeno dependiente del MHC I ante la estimulación de NLRC5, sugiere teóricamente que la adecuada respuesta del NLRC5 disminuiría la probabilidad de desarrollar cáncer, sin embargo, en los estudios experimentales no se ha podido confirmar esta hipótesis, en tumores linfocitos, melanoma, ca pulmonar y otros tumores sólidos se ha relacionado con disminución de la actividad de NLRC5, en el carcinoma hepatocelular no se encontró relación con NLRC5 y en el carcinoma renal se encontró incrementada la actividad de NLRC5. Estos hallazgos sugieren que la función de NLRC5 en el cáncer puede ser específica en cada tejido.

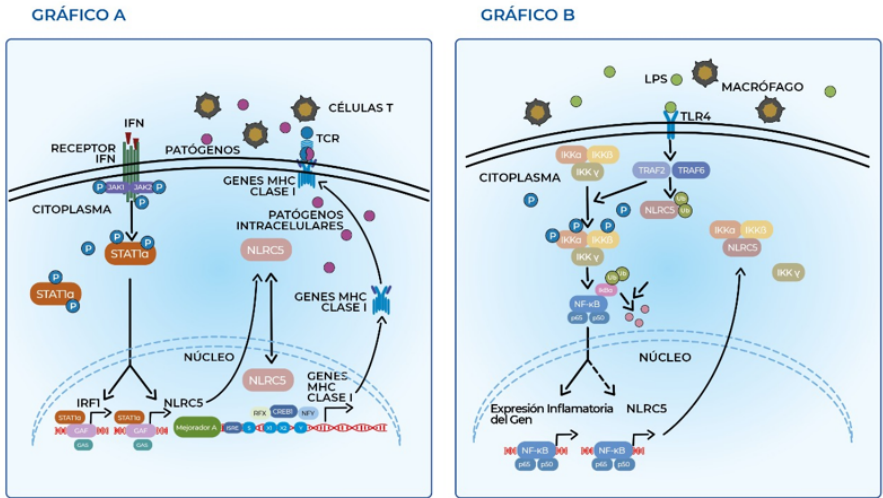


Figura 8: NLRC5: Adaptado de Wu et al. (36)

Gráfico A: Rol regulador de NLRC5 en la presentación de antígenos por MHC tipo I en la defensa del huésped. El interferón tipo I activa la transcripción por factor STAT vía fosforilación, provocando una mayor producción de NLRC5. El NLRC5 pasa del citosol al núcleo y se une con factores de transcripción como RFX y forma un potenciador sobre la región promotora de MHC tipo I, esto promueve la expresión de genes que codifican las proteínas que conforman el MHC tipo I, esto finalmente ayuda a la activación antígeno

específica del linfocito T CD8.

Gráfico B: NLRC5 regula de manera negativa las vías de señalización dependientes de NF- $\kappa$ B. La señalización vía NF- $\kappa$ B es iniciada por LPS u otros factores inflamatorios. Los efectos de fosforilación secundarios inducen la degradación de I $\kappa$ B por medio del mecanismo dependiente de ubiquitininas y proteasoma, esto promueve la migración al núcleo de NF- $\kappa$ B y su activación para regular la transcripción de y expresión de genes inflamatorios. NLRC5 puede competir con IKK $\gamma$  y unirse a IKK $\alpha$ /IKK $\beta$  bloqueando su fosforilación y actividad quinasa. Sin embargo, TRAF2 y TRAF6 que sirven como adaptadores de las señales activadoras de Nf- $\kappa$ B, median la ubiquitinación de NLRC5, bloqueando la interacción de las fracciones de IKKs con NLRC5, esto rescata la activación de NF- $\kappa$ B.

## CITA

El NLR CIITA tiene una estructura en tres zonas principales como los demás NLR, pero se diferencia por tener en el extremo aminoterminal un dominio ácido y un dominio rico en prolina/serina/treonina.

La principal función del receptor CIITA es la estimulación de la expresión de las moléculas de MHC II. Mediante un mecanismo similar al de NLRC5, la estimulación de interferón en la superficie celular promueve un incremento en la transcripción de los genes que codifican las proteínas de CIITA, esto aumenta su contenido a nivel citoplasmático haciendo más efectiva su activación, cuando esto ocurre, se estimula la transcripción de los genes que codifican las MHC II, aumenta la síntesis de estas proteínas en el retículo endoplásmico y se unen a los antígenos proteicos procesados en fagosomas para ser exportados a la superficie celular desde donde son presentados a los linfocitos TCD4. La MHC II se encuentran en células dendríticas, macrófagos y linfocitos B, a diferencia de las MHC I que se expresan en todas las células nucleadas del organismo. La potenciación del

proceso de presentación de antígeno permite una optimización de la expansión clonal de linfocitos TCD4 vírgenes, la respuesta tisular de los linfocitos TCD4 efectoras y la maduración de la afinidad con el cambio de isoforma de la inmunoglobulina por interacción del linfocito T con el linfocito B.

La estimulación de CIITA puede tener una acción antiviral por dos mecanismos, en primer lugar, por la restricción viral que aumenta la inmunidad intrínseca por disminución de la replicación y ensamblaje de los componentes virales, esta respuesta se activa de manera rápida, por lo que es efectiva y predomina en etapas tempranas de la infección. En segunda instancia, se ha reportado un rol inhibitorio de la replicación sobre virus Ebola y SARS Cov2, el mecanismo sugestivo está a favor de la estimulación de MHC II, aunque no está aun claramente identificado.

## CONCLUSIONES

- Los receptores tipo NOD son una clase de receptores de reconocimiento de patrones que se localizan a nivel intracelular, capaces de reconocer moléculas extrínsecas o intrínsecas relacionadas con patógenos o el daño tisular producido por procesos sépticos o asépticos.
- Los NLR tiene una estructura similar con una zona central NOD constante, y con las zonas de unión a ligandos y de activación de las señales intracelulares variable según el subtipo. Una vez activados desencadenan diversos mecanismos anti y proinflamatorios capaces de mantener un delicado equilibrio entre la respuesta a la injuria y evitar el daño tisular innecesario.
- Los mecanismos efectores principales de los NLR los dividen en dos grupos de receptores unos asociados con la formación de inflammasoma, activación de caspasa 1 y mayor expresión de IL-1 $\beta$  e IL-18, y otro grupo relacionado con mecanismos diferentes a la formación de inflammasoma. Los receptores formadores de inflammasoma son NLRP1, NLRP3, NLRP6, NLRP7, NLRP12 Y NLRC4/NAIP. Los receptores inflammasoma independientes son NOD1/2, NLRP10, NLRX1, NLRC5 Y CIITA.
- El receptor NLRP3 puede activarse por PAMPs y DAMPs, sin embargo, predominan los DAMPs y es principal receptor implicado en la activación de la respuesta inflamatoria secundaria a la injuria estéril.

- El inflamasoma es un complejo proteico que esta formado por un NLR, una procaspasa1 y un dominio ASC (excepto el inflamasoma NLRC4/NAIP), que al activarse pueden adquirir una actividad enzimática convirtiéndose en caspasa 1 que convierte a pro IL-1 $\beta$  y a proIL-18 en sus formas activas IL-1 $\beta$  y proIL-18 capaces de incrementar exponencialmente la inflamación. El inflamasoma tiene también la capacidad de activar el proceso de muerte celular programada llamado pirocisis y el proceso de lisis y reciclaje de moléculas intracelulares llamado autofagia.
- Los NLR independientes de inflamasoma tienen funciones opuestas incluso entre los mismos tipos de receptor dependiendo de la célula en la que se encuentren y de la injuria que se presente. Frente a bacterias los receptores NOD1/2 son capaces de formar el complejo nodosoma que estimula la expresión de los factores proinflamatorios NF- $\kappa$ B y MAPK. Frente a virus varios NLR de este grupo, presentan una respuesta estimuladora o inhibidora relacionada con la producción de interferón. Este grupo de receptores pueden sinérgicamente a los receptores formadores de inflamasoma modulando la actividad caspasa 1. Finalmente, los receptores NLRC5 y CIITA modulan de manera positiva la transcripción de los genes que codifican las MHC I y II respectivamente, optimizando el proceso de presentación de antígenos a los LTCD4 y LTCD8.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Singer M, Deutschman CS, Seymour C, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3). *JAMA - J Am Med Assoc.* 2016;315(8):801–10.
- Gyawali B, Ramakrishna K, Dharamoon AS. Sepsis: The evolution in definition, pathophysiology, and management. *SAGE Open Med.* 2019;7:205031211983504.
- Khilnani P. Severe sepsis and septic shock. *ICU Protoc A Stepwise Approach.* 2012;703–7.
- Abbas A, Lichtman A, Pillai S. *Inmunología básica. Funciones y trastornos del sistema inmunitario.* 5th ed. Barcelona: Elsevier Inc.; 2017.
- Doughty L. Pathogen Associated Molecular Patterns, Pattern Recognition Receptors and Pediatric Sepsis. *Open Inflamm J.* 2011;4(1):31–48.
- Kim YK, Shin JS, Nahm MH. NOD-like receptors in infection, immunity, and diseases. *Yonsei Med J.* 2016;57(1):5–14.
- Zhong Y, Kinio A, Saleh M. Functions of NOD-Like Receptors in Human Diseases. *Front Immunol.* 2013;4(October):1–18.
- InvivoGen. Nod-Like Receptors. 2012;1(0):69–71.
- D’Osualdo A, Weichenberger CX, Wagner RN, Godzik A, Wooley J, Reed JC. CARD8 and NLRP1 undergo autoproteolytic processing through a ZU5-like domain. *PLoS One.* 2011;6(11).

- Suárez R, Buelvas N. El inflammasoma: Mecanismos de activación. *Investig Clin.* 2015;56(1):74–99.
- Latz E, Xiao TS, Stutz A. Activation and regulation of the inflammasomes. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2014;23(1):1–7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624763/pdf/nihms412728.pdf>
- Tsu B V., Beierschmitt C, Ryan AP, Agarwal R, Mitchell PS, Daugherty MD. Diverse viral proteases activate the nlrp1 inflammasome. *Elife.* 2021;10:1–76.
- Wen H, Miao EA, P-Y Ting J. New mechanisms of NOD-like receptor-associated inflammasome activation. *Immunity.* 2013;39(3):1–19.
- Li W, Cao T, Luo C, Cai J, Zhou X, Xiao X, et al. Crosstalk between ER stress, NLRP3 inflammasome, and inflammation. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2020;104(14):6129–40.
- Chong WC, Shastri MD, Peterson GM, Patel RP, Pathinayake PS, Dua K, et al. The complex interplay between endoplasmic reticulum stress and the NLRP3 inflammasome: a potential therapeutic target for inflammatory disorders. *Clin Transl Immunol.* 2021;10(2):1–16.
- Franchi L, Warner N, Viani K, Nuñez G. Function of Nod-like. *Immunol Rev.* 2010;227(1):106–28.
- Elinav E, Strowig T, Kau AL, Henao-Mejia J, Thaiss CA, Booth CJ, et al. NLRP6 inflammasome regulates colonic microbial



- ecology and risk for colitis. *Cell*. 2011;145(5):745–57.
- Henao-Mejia J, Elinav E, Jin C, Hao L, Mehal WZ, Strowig T, et al. Inflammasome-mediated dysbiosis regulates progression of NAFLD and obesity. *Nature* [Internet]. 2012;482(7384):179–85. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nature10809>
  - Xu R, Tan C, He Y, Wu Q, Wang H, Yin J. Dysbiosis of Gut Microbiota and Short-Chain Fatty Acids in Encephalitis: A Chinese Pilot Study. *Front Immunol*. 2020;11(August):1–13.
  - Chen G, Liu M, Wang F, Bertin J, Núñez G. A Functional Role for Nlrp6 in Intestinal Inflammation and Tumorigenesis\*. *J Immunol*. 2009;23(1):1–7.
  - Anand P, Malireddi S, Lukens J, Vogel P, Bertin J, Lamkanfi M. NLRP6 negatively regulates innate immunity and host defence against bacterial pathogens. *Nature*. 2012;176(5):139–48.
  - Messaed C, Akoury E, Djuric U, Zeng J, Saleh M, Gilbert L, et al. NLRP7, a nucleotide oligomerization domain-like receptor protein, is required for normal cytokine secretion and co-localizes with golgi and the microtubule-organizing center. *J Biol Chem*. 2011;286(50):43313–23.
  - Allen IC, Wilson JE, Schneider M, Lich JD, Roberts RA, Arthur JC, et al. NLRP12 Suppresses Colon Inflammation and Tumorigenesis through Negative Regulation of Non-canonical NF- $\kappa$ B Signaling and MAP Kinase Activation. *Immunity*. 2012;36(5):742–54.

- Arthur JC, Lich JD, Wilson JE, Ye Z, Allen IC. NLRP12 controls dendritic and myeloid cell migration to affect contact hypersensitivity. *J Immunol*. 2010;23(1):1–7.
- Ceballos-Olvera I, Sahoo M, Miller MA, del Barrio L, Re F. Inflammasome-dependent pyroptosis and IL-18 protect against burkholderia pseudomallei lung infection while IL-1 $\beta$  is deleterious. *PLoS Pathog*. 2011;7(12).
- Broz P, Newton K, Lamkanfi M, Mariathasan S, Dixit VM, Monack DM. Redundant roles for inflammasome receptors NLRP3 and NLRC4 in host defense against Salmonella. *J Exp Med*. 2010;207(8):1745–55.
- Mukherjee T, Hovingh ES, Foerster EG, Abdel-Nour M, Philpott DJ, Girardin SE. NOD1 and NOD2 in inflammation, immunity and disease. *Arch Biochem Biophys* [Internet]. 2019;670:69–81. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.abb.2018.12.022>
- Caruso R, Warner N, Inohara N, Núñez G. NOD1 and NOD2: Signaling, host defense, and inflammatory disease. *Immunity*. 2014;41(6):898–908.
- Hamaoui D, Subtil A. ATG16L1 functions in cell homeostasis beyond autophagy. *FEBS J*. 2021;1–22.
- Damm A, Lautz K, Kufer TA. Roles of NLRP10 in innate and adaptive immunity. *Microbes Infect* [Internet]. 2013;15(6–7):516–23. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micinf.2013.03.008>

- Fekete T, Bencze D, Bíró E, Benkő S, Pázmándi K. Focusing on the cell type specific regulatory actions of NLRX1. *Int J Mol Sci.* 2021;22(3):1–36.
- Nagai-Singer MA, Morrison HA, Allen IC. NLRX1 Is a Multifaceted and Enigmatic Regulator of Immune System Function. *Front Immunol.* 2019;10(October):1–8.
- Lei Y, Wen H, Yu Y, Taxman DJ, Zhang L, Douglas G, et al. The mitochondrial proteins NLRX1 and TUFM form a complex that regulates type I interferon and autophagy. *Immunity.* 2013;36(6):933–46.
- Chu X, Wu S, Raju R. NLRX1 regulation following acute mitochondrial injury. *Front Immunol.* 2019;10(OCT).
- Kobayashi KS, Van Den Elsen PJ. NLRC5: A key regulator of MHC class I-dependent immune responses. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2012;12(12):813–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nri3339>
- Wu Y, Shi T, Li J. NLRC5: A paradigm for NLRs in immunological and inflammatory reaction. *Cancer Lett.* 2019;451(December 2018):92–9.
- Wang J quan, Liu Y ru, Xia Q, Chen R nan, Liang J, Xia Q rong, et al. Emerging roles for NLRC5 in immune diseases. *Front Pharmacol.* 2019;10(November):1–13.
- León Machado JA, Steimle V. The mhc class ii transactivator ciita: Not (quite) the odd-one-out anymore among nlr proteins. *Int J Mol Sci.* 2021;22(3):1–19.



# **LA AUTOFAGIA COMO MECANISMO DE DEFENSA Y ADAPTACION CELULAR**

---

## **Capítulo 4**

Mario Patricio Montalvo Villagómez. MD. MSc.  
Yanira Alejandra Montalvo Lalaleo. Egn Bio. MSc.  
Cristian Andre Montalvo Lalaleo. Egn Bio.

# **LA AUTOFAGIA COMO MECANISMO DE DEFENSA Y ADAPTACION CELULAR**

## **RESUMEN**

La autofagia constituye un mecanismo altamente especializado de adaptación celular que se encarga de degradar y reciclar organelas disfuncionales, para lo que utiliza estructuras especializadas (autofagosoma, autofagolisosoma) con el fin de mantener la homeostasis metabólica, calidad de las organelas citoplasmáticas y una respuesta regulada al estrés cuya finalidad es proteger a la célula, limitando el daño y muerte celular. Existen procesos autofagia selectiva que eliminan organelas específicas como acontece con la mitocondria, recibiendo el nombre de mitofagia que se encarga del control de calidad mitocondrial, selecciona e ingiere mitocondrias dañadas para luego degradarlas impidiendo de esta manera la liberación de patrones de daño molecular (DNA mitocondrial) ya sea hacia el citosol o hacia el espacio extracelular evitando de esta forma respuestas inmunes exageradas.

La autofagia interviene en muchos mecanismos fisiológicos de nuestro organismo por lo tanto la desregulación de este proceso está involucrada en la fisiopatología de un buen número enfermedades que podrían beneficiarse su modulación.

En el presente capítulo se describe los procesos fisiológicos y fisiopatológicos involucrados con la autofagia y mitofagia,

analizaremos el papel que desempeñan en determinadas patologías.

**Palabras clave:** autofagia, mitofagia, canibalismo celular. (Fuente: DeCS-BIREME)

## **ABSTRACT**

Autophagy constitutes a highly specialized mechanism of cellular adaptation that is responsible for degrading and recycling dysfunctional organelles, for which it uses specialized structures (autophagosome, autophagolysosome) in order to maintain metabolic homeostasis, quality of cytoplasmic organelles and a regulated response to stress whose purpose is to protect the cell, limiting damage and cell death. There are selective autophagy processes that eliminate specific organelles as occurs with the mitochondria, receiving the name of mitophagy that is responsible for mitochondrial quality control, selects and ingests damaged mitochondria and then degrades them, thus preventing the release of molecular damage patterns (mitochondrial DNA) either to the cytosol or to the extracellular space, thus avoiding exaggerated immune responses.

Autophagy intervenes in many physiological mechanisms of our body, therefore the dysregulation of this process is involved in the pathophysiology of a good number of diseases that could benefit from its modulation.

This chapter describes the physiological and pathophysiological processes involved with autophagy and mitophagy, we will analyze the role they play in certain pathologies.

**Keywords:** autophagy, mitophagy, cell cannibalism. (Source: MeSH-NLM)

## INTRODUCCIÓN

El término autofagia se deriva de los vocablos griegos “auto” “phagein” cuyo significado es comerse a sí mismo, este es un proceso altamente especializado producto de la evolución característico de las células nucleadas. Constituye un mecanismo de defensa y adaptación celular ante la agresión (de tipo genético, falta de nutrientes, envejecimiento, toxinas ambientales, entre otros) lo cual activa un mecanismo de formación de membranas especializadas que adoptan la forma de vacuolas llamadas autofagosomas encargados de secuestrar componentes intracitoplasmáticos disfuncionales o dañados que posteriormente serán degradados o reciclados en los lisosomas.

La primera descripción de este proceso la realiza Christian de Duve en 1960, identifica a los lisosomas y al autofagosoma. Sin embargo, es el profesor Yoshinori Ohsumi en el año 1992 quien da una descripción detallada de los procesos moleculares de la autofagia en levaduras, a lo que denomino canibalismo celular, describe quince genes responsables de la codificación de las proteínas que intervienen en la caracterización y señalización celular de este proceso.

La caracterización de los elementos de la señalización de la cascada autofágica ha permitido dividirla en seis etapas: 1) inducción. 2) formación del fagóforo. 3) conjugación del fagóforo 4) procesamiento de la membrana del fagóforo. 5) formación del autofagosoma 6)

formación del autofagolisosoma y degradación del sustrato o carga.

Existen tres tipos de autofagia denominadas: macroautofagia, microautofagia y autofagia mediada por chaperona, cuya diferencia radica en la forma como el sustrato ingresa al lisosoma para ser degradado o reciclado, cada una de estas tiene su propia caracterización y utiliza diferentes vías de señalización.

La autofagia puede ser selectiva cuando involucra organelas citoplasmáticas específicas, por ejemplo: si la organela involucrada es la mitocondria se denomina mitofagia, proceso que juega un rol primordial en el mantenimiento de la calidad mitocondrial, así como en la regulación de la respuesta inmunológica.

Este proceso altamente especializado denominado autofagia juega un papel primordial en gran cantidad de eventos fisiológicos dando lugar al mantenimiento de una adecuada adaptación metabólica, una equilibrada respuesta al estrés y un óptimo control de la calidad intracelular, de lo que se desprende que una desregulación de este proceso se vincula con un sinnúmero de enfermedades como el cáncer, trastornos neurodegenerativos, enfermedades cardiovasculares, trastornos inmunológicos, sepsis entre otras.

En el presente capítulo se describen los procesos fisiológicos y fisiopatológicos involucrados con la autofagia y analizaremos el papel que desempeñan en determinadas patologías del paciente crítico.



## ***Definiciones***

### ***Autofagia***

Es un proceso altamente especializado producto de la evolución característico de las células nucleadas. Constituye un mecanismo de defensa y adaptación celular ante la agresión (de tipo genético, falta de nutrientes, envejecimiento, toxinas ambientales, entre otros) lo cual activa un mecanismo de formación de membranas especializadas que adoptan la forma de vacuolas llamadas autofagosomas encargados de secuestrar componentes intra citoplasmáticos disfuncionales o dañados que posteriormente serán degradados o reciclados en los lisosomas.

### ***Autofagia selectiva***

Es aquella que involucra organelas citoplasmáticas específicas, se nombran de acuerdo con el sustrato específico a ser degradado y reciclado:

- *Mitofagia*: encargada de la degradación y reciclaje de las mitocondrias disfuncionales, proceso que juega un rol primordial en el mantenimiento de la calidad mitocondrial no solo porque degrada y recicla las mitocondrias disfuncionales, sino porque además promueve la génesis mitocondrial, interviene en los fenómenos redox y de producción de energía (cadena respiratoria y radicales libres de oxígeno), así como la regulación de la respuesta inmunológica.
- *Lipofagia*: promueve la degradación y eliminación de las gotitas de lípidos.

- Ferritinofagia: permite mantener el equilibrio y homeostasis del hierro.
- Xenofagia: dirigida a la degradación específica de microbios asociado al sistema inmune innato cuyo objetivo es eliminar patógenos.
- Agregofagia: degradación y reciclaje de agregados de proteínas.
- ER-fagia o reticulofagia: cuando el involucrado es el retículo endoplásmico.

Se ha descrito algunos de los procesos de autofagia selectiva más comunes, sin embargo, existen otros que probablemente no resulten tan conocidos se mencionaran algunos de ellos sin extendernos pues no es el objetivo de este capítulo: “glucofagia (glucógeno), lisofagia (lisosomas), nucleofagia (núcleo), pexofagia (peroxisomas), ribofagia (ribosomas)”.

### ***Estructuras que participan en la autofagia***

Antes de adentrarnos en los mecanismos moleculares de la autofagia es necesario familiarizarnos con los términos de las estructuras involucradas en este proceso, con este propósito haremos una descripción que le permita al lector un cabal entendimiento de estas estructuras y la función que cumplen:

*Fagóforo*: es una estructura de doble membrana que participa en el secuestro inicial de la carga o sustrato, constituye el compartimento activo de la autofagia, este se alarga, para luego expandirse y finalmente cerrarse formando el autofagosoma.

*Autofagosoma*: es la estructura de doble membrana producto del alargamiento, expansión y cierre del fagóforo, en cuyo interior se encuentran los sustratos a ser degradados.

*PAS*: es el punto de ensamblaje localizado en el compartimento perivacuolar donde se inicia la nucleación del fagóforo, esto cuando se trata de levaduras, sin embargo, en el mamífero no se ha logrado identificar un equivalente a este punto.

*Cuerpo autofágico*: es la estructura formada por la membrana interna del autofagosoma que se libera hacia el lisosoma durante la fusión, esta estructura en los mamíferos no está presente.

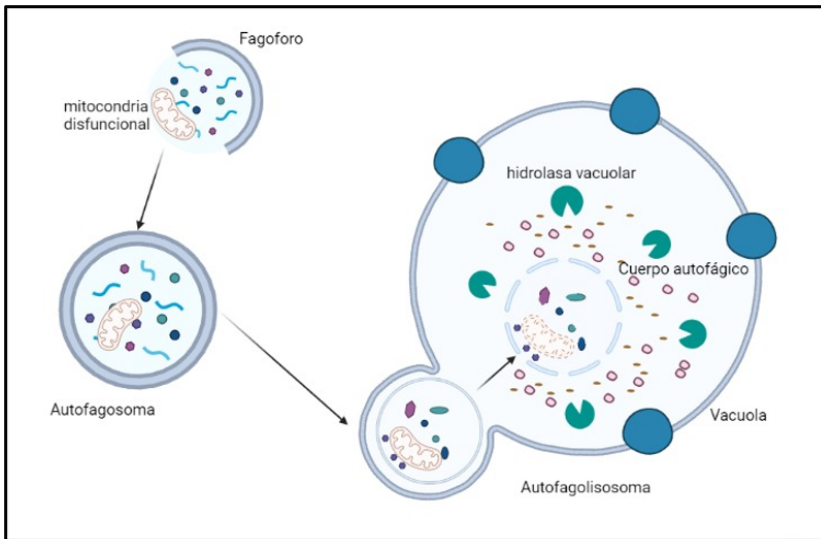


Figura 1. Estructuras que participan en la autofagia. (Modificado de: Feng Y, He D, Yao Z, Kliinsky DJ. The machinery of macroautophagy. Cell Res. 2014;24(1):24–41).

## ***Mecanismos moleculares de la cascada autofágica***

Los hallazgos hechos por el Profesor Yoshinori Ohsumi permitieron dividir a la autofagia en las siguientes fases:

- Fase 1: Inducción dada por la activación del complejo quinasa ULK 1/2.
- Fase 2: Formación del fagóforo (nucleación).
- Fase 3: Conjugación del fagóforo.
- Fase 4: Elongación y procesamiento de la membrana del fagóforo.
- Fase 5: Formación del autofagosoma y captura del sustrato o carga.
- Fase 6: Formación del autofagolisosoma y procesamiento del sustrato.

La cascada autofágica se inicia por la presencia de factores de estrés (inanición, infección, hipoxia, estrés oxidativo, tóxicos, etc.) lo cual va a dar lugar a la participación de una serie de proteínas de señalización conocido como el complejo de iniciación, compuesto por el complejo protein quinasa ULK1/2, ATG 13, RB1CC1 (llamado también ATG11 o FIP200) y ATG101, este recibe dos tipos de señales que convergen en el mTORC1 (objetivo mecanicista del complejo 1 de rapamicina).  
1) Si las señales son dadas por el estímulo de nutrientes (aminoácidos), insulina, mTORC1 se activa e inhibe al ULK1/2 evitando la formación del fagosoma. Si las señales son dadas por injurias, déficit de energía mTORC1 se inactiva permitiendo la activación del ULK1/2 a través

de la protein quinasa activada por AMP (AMPK), provocando la traslocación de este al sitio de iniciación del fagosoma. 2) La segunda señal de iniciación puede estar dada por las cargas o sustratos de organelas citoplasmáticas dañadas como acontece con la mitocondria, estas pueden activar al complejo de iniciación por interacción directa con RB1CC1, ULK1/2 fosforila al complejo fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K) clase III constituido por ATG14, Beclin 1, VPS34, VPS15, generando fosfatidilinositol 3-fosfato (PI3P) dando lugar a la formación de las membranas precursoras autofagosómicas (membranas de aislamiento o fagóforo), donde intervienen además las vesículas ATG9.

Una vez formado el fagóforo se produce el reclutamiento de proteínas de la familia WIPI que interactúan con PI3P y la proteína de transferencia de lípidos ATG 2A/B, las mismas que asociadas a las proteínas de membrana multicapa VPM1 y TMEM41B provenientes del retículo endoplásmico son responsables de la elongación del fagóforo. Finalmente las proteínas WIPI2 reclutan al complejo ATG12-ATG5-ATG16L1 que promueven la conjugación de los componentes de la familia ATG8 (LC3 y GABARAB) y fosfatidiletanolamina (PE) que dan lugar al alargamiento y cierre del fagóforo, transformándose de esta manera en el autofagosoma cuyos bordes se sellan gracias ESCRT (complejo de clasificación endosomal requerido para el transporte), adquiere además proteínas receptoras SNAP (SNARE) como la syntaxina 17 (STX17) y YKT6, las que interactúan con SNAP29

y las proteínas SNARE lisosómicas permitiendo la fusión con los lisosomas, este paso está regulado por el complejo HOPS, EPG5 y PLEKHM1 obteniéndose como producto final el autofagolisosoma cuya función será degradar y reciclar las cargas o sustratos. Mención especial merece la familia de proteínas ATG8 que se encuentran en la membrana interna del autofagolisosoma pues estas reconocen cargas selectivas dando lugar a autofagia selectiva. (mitofagia, ERfagia, lisofagia, etc.)

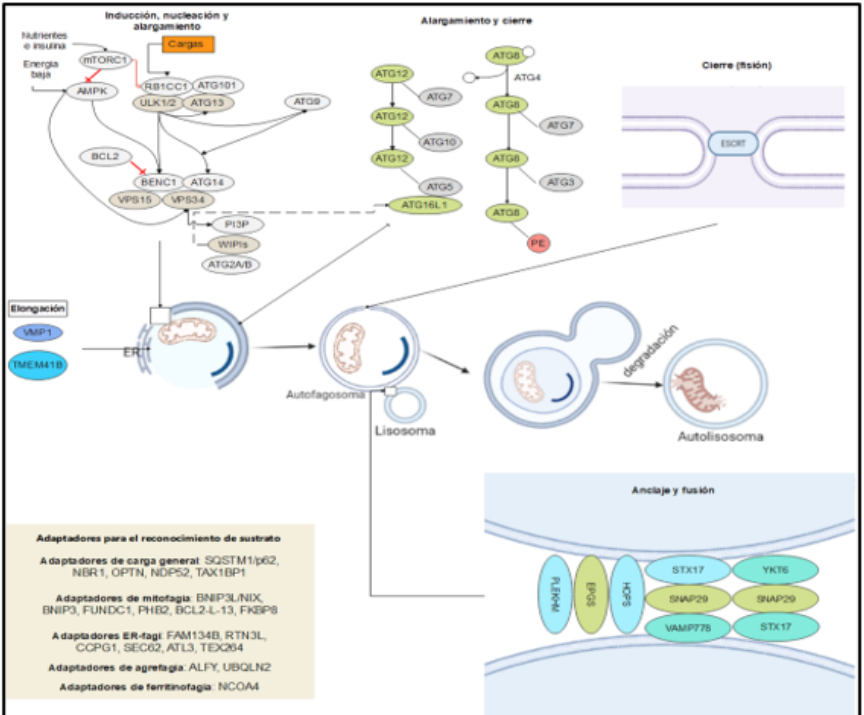


Figura 2. Cascada autofagica (macroautofagia). (Modificado de: Mizushima N, Levine B. Autophagy in Human Diseases. N Engl J Med. 2020;383(16):1564–76).

## ***Tipos de autofagia***

Dependiendo de la forma como se entrega la carga al lisosoma se describen tres tipos de autofagia:

1. **Macroautofagia:** es el proceso de autofagia más estudiado, y la descripción de esta corresponde a lo que ya se ha revisado previamente en los mecanismos moleculares de la cascada autofágica, es una forma regulada de autofagia en respuesta a señales ambientales y fisiológicas, que da lugar a la formación de membranas que finalmente derivará en el autofagosoma que será el encargado de secuestrar y capturar la carga o sustrato para entregarla al lisosoma para su degradación. (Figura 2)
2. **Microautofagia:** en esta forma de autofagia hay absorción directa de una porción del citoplasma por invaginación y protrusión de la membrana lisosomal la misma que una vez que se ha cerrado completamente da lugar a la degradación de la carga o sustrato por hidrolasas lisosomales. (Figura 3)

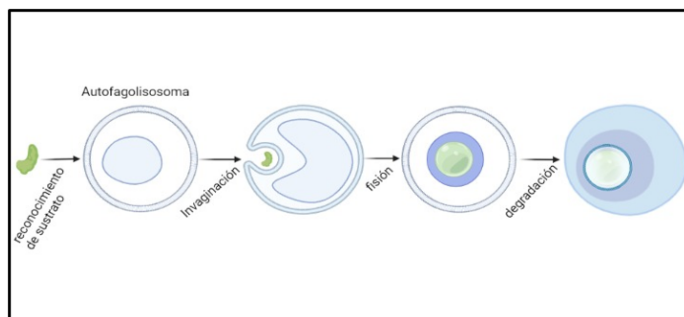


Figura 3. Microautofagia. (Modificado de: Mizushima N, Levine B. Autophagy in Human Diseases. *N Engl J Med.* 2020;383(16):1564–76).

3. Autofagia mediada por chaperonas: este mecanismo esta mediado por el complejo Hsc70 que hace de acompañante o chaperona encargada de reconocer a las proteínas que contienen la secuencia KFERQ, las mismas que son transportadas hacia los lisosomas mediante la unión a la proteína de membrana asociada a los lisosomas (LAMP2A), donde el sustrato o carga es traslocado a través de la membrana e introducido al lisosoma donde es degradado por hidrolasas lisosomales. (Figura 4)

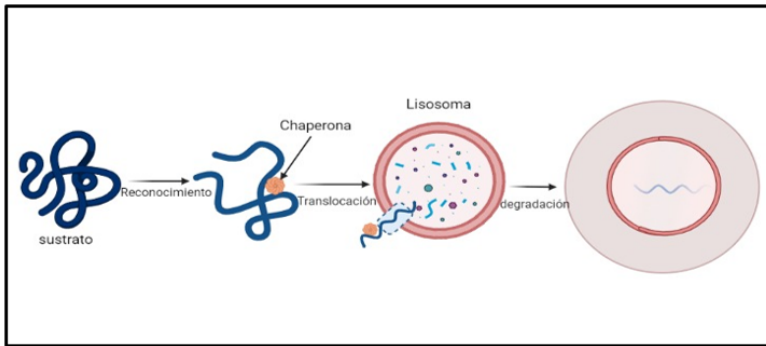


Figura 4. Autofagia mediada por chaperona. (Modificado de: Mizushima N, Levine B. Autophagy in Human Diseases. N Engl J Med. 2020;383(16):1564–76).

### ***Funciones de la autofagia***

Como lo he mencionado ya la autofagia es un proceso altamente especializado, y como tal cumple funciones que son indispensables para el mantenimiento, equilibrio y homeostasis celular. A continuación, me permito hacer un resumen de las funciones básicas de la autofagia.



## ***Metabólica***

Esta es una de las funciones primordiales de la autofagia pues permite la adaptación de las células a las demandas metabólicas, en situaciones específicas como la inanición o el ejercicio aeróbico donde las demandas son incrementadas, esta tiende al alza con el fin de incrementar, mejorar la degradación y síntesis proteica proveyendo de la energía suficiente para el correcto funcionamiento celular. También es indispensable en otros procesos tales como: a) La embriogénesis donde ayuda al procesamiento de las proteínas maternas con el fin de asegurar el adecuado aporte de nutrientes al embrión. b) No menos importante es el papel que desempeña en la génesis y diferenciación de varios tejidos como son: el adiposo, intestino, eritrocitos, corazón, células linfoides, testículos, ovario, entre otros.

## ***Homeostasis***

El mantenimiento de la homeostasis es esencial para la supervivencia celular, en este contexto la autofagia tiene un rol protagónico pues es la encargada de la degradación y eliminación de las organelas citoplasmáticas defectuosas o dañadas, es decir ejerce un control de la calidad de los componentes citoplasmáticos. Dando lugar procesos de autofagia selectiva (mitofagia, lipofagia, ferritinofagia).

Además, la autofagia ayuda a mantener niveles adecuados de algunas proteínas que intervienen en la activación de determinadas vías, por ejemplo: el sustrato SQSTM1 (denominado p62) el cual debe mantenerse en niveles bajos con el fin de inhibir la activación exagerada

de la vía del NRF2 (factor 2 relacionado con el factor nuclear eritroide) que como resultado final puede llevar a fallo hepático y tumorigénesis.

### ***Inmunidad***

La autofagia en la inmunidad ayuda al control de la replicación y eliminación de los patógenos lo que se denomina xenofagia. Papel que lo ejerce mediante la regulación de la respuesta inmune innata, que da lugar a la señalización y producción de determinadas citoquinas, que en definitiva darán lugar a la activación del inflammasoma. Regula también la respuesta inmune adaptativa tanto en lo que es la regulación de los linfocitos B y T así como en la presentación del antígeno.

### ***Otras***

La autofagia mantiene el genoma, reduce el envejecimiento y promueve la longevidad. Permite mantener inactivas a las células madre (hematopoyéticas, intestinales, musculares, neurales, etc.).

### ***Implicaciones clínicas de la autofagia***

La autofagia juega un rol primordial en un sinnúmero de eventos fisiológicos que permiten el mantenimiento de una adecuada adaptación metabólica, una equilibrada respuesta al estrés y un óptimo control de la calidad intracelular, por lo tanto, una desregulación de este proceso determina un sinnúmero de enfermedades tales como: sepsis, cáncer, trastornos neurodegenerativos, enfermedades cardiovasculares, trastornos inmunológicos, entre otras.

A continuación, describiremos algunas de estas patologías:

## ***Bloqueo de la mitofagia en sepsis y su respuesta inflamatoria exagerada***

Recordemos que la mitofagia es un mecanismo de defensa del organismo asociado al sistema inmune innato, su función es fagocitosis selectiva de las mitocondrias dañadas o disfuncionales impidiendo de esta manera la liberación de patrones de daño molecular (DNA mitocondrial) hacia el citosol o fuera de la célula, evitando de esta forma respuestas inmunes exageradas. La disfunción de este mecanismo provoca respuestas inmunes no controladas que determina disfunción multiorgánica y en el peor de los casos la muerte.

Durante la sepsis las mitocondrias sufren daño por diferentes mecanismos (hipoxia); el aclaramiento de estas mitocondrias dañadas no es efectivo por inhibición de la mitofagia, lo que no permite la fusión del autofagosoma con el lisosoma, por lo tanto estas mitocondrias dañadas no son degradadas, liberando DNA mitocondrial ya sea hacia el citosol o hacia el espacio extracelular lo cual activa e induce una cascada de respuestas inflamatorias excesivas por tres vías, tal como se ilustra en la figura 5.

1. Activando al Toll-like-receptor 9 (TLR9).
2. Interactuando con el sistema inmune innato mediado por inflamasoma.

Por estas dos primeras vías la respuesta va a ser la secreción de IL-1 $\beta$  e IL-18, y la expresión de genes proinflamatorios.

3. El ADN mitocondrial citosólico puede también ser liberado

en el espacio extracelular por muerte celular programada mediada por necroptosis. Ya en el espacio extracelular el ADN mitocondrial puede estimular las células inmunes y también las células epiteliales, lo que puede promover la lesión tisular y la inflamación sistémica.

Estudios recientes sugieren que el ADN mitocondrial libre de células puede ser medido y usarse como biomarcador pronóstico de severidad en pacientes sépticos críticos, lo cual podría ampliar estrategias de diagnóstico y tratamiento precoz (30).

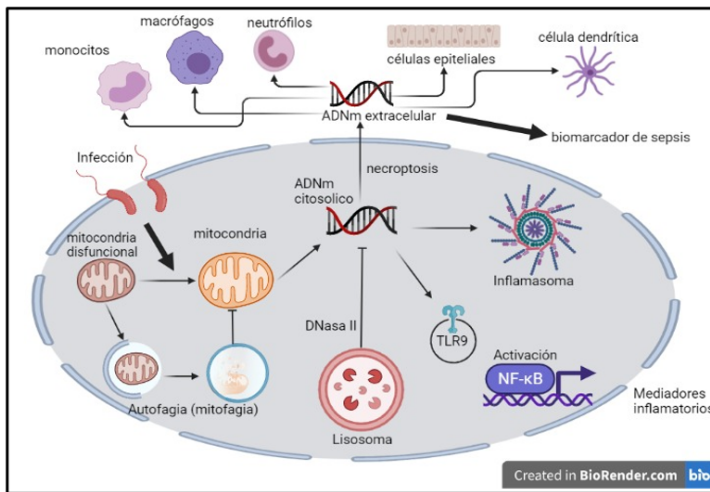


Figura 5. Mitofagia en sepsis. (Modificado de: Harrington JS, Choi AMK, Nakahira K. Mitochondrial DNA in Sepsis. *Curr Opin Crit Care*. 2017;23(4):284–90).

### ***La paradoja de la autofagia en el cáncer***

En el cáncer la función que cumple la autofagia es hasta cierto punto contradictorio y complejo, pues sus funciones pueden ser contrapuestas y depender varios factores como son la etapa evolutiva del cáncer,

el estado mutacional de algunos de las proteínas de señalización. Puede tener actividad antitumoral, recordemos que mantiene estable al genoma, inhibe el estrés oxidativo, suprime la activación de NRF2, inhibe las metástasis, mecanismos estos que se ven favorecidos por la interacción con la inmunidad antitumoral.

Sin embargo, también tiene actividad protumorigénica, es así que estaría implicada en la homeostasis metabólica de la célula cancerosa, pues la autofagia sería la encargada de proveerle de la energía y nutrientes necesarios para él crecimiento tumoral. De tal manera que ejerce un papel protagónico incluso mayor que el papel que desempeña en las células normales. Además, la autofagia puede estimular la actividad protumorigénica por otras vías como son: 1) Disminución de la proteína supresora de tumores p53. 2) Inhibición de la expresión en la superficie de la célula cancerosa del MHC I (complejo mayor de histocompatibilidad clase I) suprimiendo de esta manera la actividad antitumoral del sistema inmune mediada por linfocitos CD8. 3) Incremento en la producción de metástasis.

De todo lo que acabamos de mencionar la pregunta sería ¿La autofagia ayuda o disminuye la producción de tumores? Las respuestas a esta pregunta probablemente serán contradictorias, y a eso me refería sobre el título de la paradoja de la autofagia en el cáncer, sin embargo, para guardar equilibrio en la respuesta se podría decir que la autofagia es uno de los muchos factores que están inmersos en el control de la tumorigénesis.

## ***Desregulación de la mitofagia en las enfermedades neurodegenerativas***

En el año 2006 Iongkyeong y Ming Guo identifican los genes PINK 1 y Parkin asociados a la enfermedad de Parkinson. Youle y su grupo en sus estudios demostraron que la vía PINK 1-Parkin es una vía de señalización clave en el control de la mitofagia de las neuronas.

Estos hallazgos han sido claves pues muchas de las enfermedades neurodegenerativas tales como: el Parkinson, Alzheimer, Huntington tienen como base mutaciones a nivel de los genes PINK 1 y Parkin, por lo tanto, comparten en su fisiopatología disfunción mitocondrial con desregulación de la mitofagia.

A nivel de nervios periféricos también se ha visto enfermedades como: Charcot-Marie-Tooth tipo 2, neuropatías axonales heredadas, asociadas a mutaciones en proteínas que actúan en la función mitocondrial. De lo que se desprende que la mitofagia es indispensable para la homeostasis axonal.

En definitiva, la calidad mitocondrial, así como un correcto funcionamiento de la mitofagia es indispensable para el mantenimiento de las neuronas.

## ***Disfunción mitocondrial en ausencia de autofagia, así es como envejecemos***

Para explicar el ¿por qué envejecemos? Se ha propuesto la teoría de los radicales libres, donde la disfunción mitocondrial es el inicio

de un círculo vicioso donde se libera una importante cantidad de radicales libres de oxígeno (ROS), que provocan mutaciones en el ADN mitocondrial lo cual agrava aún más la disfunción mitocondrial, en este contexto es lógico pensar que la mitofagia desempeña un rol extremadamente importante, pues es la encargada de mantener la calidad mitocondrial, de esto se deduce que una falla o una inhibición de esta, permitirá incremento de mitocondrias dañadas o disfuncionantes con incremento de la liberación de radicales libres de oxígeno que en término final son responsables del envejecimiento. En estudios experimentales con ratones envejecidos se ha observado una desregulación a la baja de la mitofagia en el tejido cerebral, así como reducción en la expectativa de vida. En este contexto es muy posible que la pérdida de funciones de muchos de los órganos relacionada con el envejecimiento responda a una disminución de la mitofagia.

### ***Perspectivas futuras***

A lo largo de este capítulo se ha descrito el rol y las funciones que cumple la autofagia y es lógico pensar que siendo un proceso altamente especializado con participación en muchos de los mecanismos fisiológicos de los cuales depende el mantenimiento de la homeostasis ya sea metabólica, control de calidad de las organelas citoplasmáticas, adecuada respuesta al estrés; su desregulación estaría involucrada en la fisiopatología de un buen número de enfermedades (sepsis, cáncer, neurodegenerativas, envejecimiento entre otras). Las perspectivas que se abren son fascinantes y numerosas. En el caso del cáncer por ejemplo

los estudios apuntan que la regulación a la baja es decir un decremento de la autofagia podría ser beneficiosa. Y en el caso de la sepsis, los trastornos neurodegenerativos, el envejecimiento, probablemente se beneficien del estímulo o modulación de la autofagia. El avance de la genética y el desarrollo de la tecnología para el monitoreo de los procesos celulares y específicamente la autofagia en un futuro muy cercano nos dará muchas sorpresas en el tratamiento de enfermedades que hasta el momento no han podido ser tratadas de manera eficaz.



## **CONCLUSIÓN**

La autofagia es sin duda un proceso que tiene un rol primordial para el mantenimiento de la vida, mientras más conocimiento acumulemos de las funciones que tiene en la salud humana nos permitirá utilizarlo como blanco en las estrategias tanto de diagnóstico como terapéutica en un buen número de enfermedades que hasta hoy no han podido ser tratadas eficazmente. Debemos profundizar mucho más en los aspectos fisiológicos y fisiopatológicos de este proceso y las implicaciones de éste en la salud humana.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ramírez-Sagredo A, Aleman L, Villa M, Chávez MN, García L, Lavandero S. Autofagia en el sistema cardiovascular: pasado, presente y futuro. *Rev Chil Cardiol* [Internet]. 2016;35:1–14. Available from: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rhccardiol/v35n3/art04.pdf>
- Zhang J. Autophagy and mitophagy in cellular damage control. *Redox Biol* [Internet]. 2013;1(1):19–23. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.redox.2012.11.008>
- Deter RL, De Duve C. Influence of glucagon, an inducer of cellular autophagy, on some physical properties of rat liver lysosomes. *J Cell Biol*. 1967;33(2):437–49.
- Mizushima N, Yoshimori T, Ohsumi Y. The role of atg proteins in autophagosome formation. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2011;27:107–32.
- Mizushima N, Levine B. Autophagy in Human Diseases. *N Engl J Med*. 2020;383(16):1564–76.
- Schuck S. Microautophagy – distinct molecular mechanisms handle cargoes of many sizes. *J Cell Sci*. 2020;133(17).
- Kaushik S, Cuervo AM. The coming of age of chaperone-mediated autophagy. *Nat Rev Mol Cell Biol* [Internet]. 2018;19(6):365–81. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41580-018-0001-6>
- Fujiwara Y, Wada K, Kabuta T. Lysosomal degradation of

- intracellular nucleic acids-multiple autophagic pathways. *J Biochem.* 2017;161(2):145–54.
- Karagiannidis I, Kataki A, Glustianou G, Memos N, Papalois A, Alexakis N, et al. Extended cytoprotective effect of autophagy in the late stages of sepsis and fluctuations in signal transduction pathways in a rat experimental model of kidney injury. *Shock.* 2016;45(2):139–47.
  - Giegerich AK, Kuchler L, Sha LK, Knape T, Heide H, Wittig I, et al. Autophagy-dependent PELI3 degradation inhibits proinflammatory IL1B expression. *Autophagy.* 2014;10(11):1937–52.
  - Klionsky DJ, Abdelmohsen K, Abe A, Abedin MJ, Abeliovich H, Arozana AA, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition). *Autophagy.* 2016;12(1):1–222.
  - Feng Y, He D, Yao Z, Klionsky DJ. The machinery of macroautophagy. *Cell Res.* 2014;24(1):24–41.
  - Seglen PO, Gordon PB, Holen I. Non-selective autophagy. *Semin Cell Biol* [Internet]. 1990 [cited 2021 Oct 11];1(6):441–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2103895/>
  - Fimia GM, Stoykova A, Romagnoli A, Giunta L, Di Bartolomeo S, Nardacci R, et al. Ambra1 regulates autophagy and development of the nervous system. *Nature.* 2007;447(7148):1121–5.
  - Dunn WA. Studies on the mechanisms of autophagy: Formation

- of the autophagic vacuole. *J Cell Biol.* 1990;110(6):1923–33.
- He C, Klionsky DJ. Atg9 trafficking in autophagy-related pathways. *Autophagy.* 2007;3(3):271–4.
  - Kim J, Huang WP, Stromhaug PE, Klionsky DJ. Convergence of multiple autophagy and cytoplasm to vacuole targeting components to a perivacuolar membrane compartment prior to de Novo vesicle formation. *J Biol Chem.* 2002;277(1):763–73.
  - Baba M, Ohsumi Y, Osumi M. Analysis of the Membrane Structures Involved in Autophagy in Yeast by Freeze-Replica Method. *Cell Struct Funct.* 1995;20(6):465–71.
  - Salazar-Ramírez K, Molinares-Rodríguez J, Bolívar-González S. Molecular mechanisms of autophagy and its role in cancer development. *Rev Fac Med.* 2016;64(3):529–35.
  - Gatica D, Lahiri V, Klionsky DJ. Cargo recognition and degradation by selective autophagy. *Nat Cell Biol* [Internet]. 2018;20(3):233–42. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41556-018-0037-z>
  - Pohl C, Dikic I. Cellular quality control by the ubiquitin-proteasome system and autophagy. *Science* (80- ). 2019;366(6467):818–22.
  - Wang Z, Zhang H. Phase Separation, Transition, and Autophagic Degradation of Proteins in Development and Pathogenesis. *Trends Cell Biol* [Internet]. 2019;29(5):417–27. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2019.01.008>

- Ueno T, Komatsu M. Autophagy in the liver: Functions in health and disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2017;14(3):170–84. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrgastro.2016.185>
- Levine B, Mizushima N, Virgin HW. Autophagy in immunity and inflammation. *Nature*. 2011;469(7330):323–35.
- Levine B, Kroemer G. Biological Functions of Autophagy Genes: A Disease Perspective. *Cell* [Internet]. 2019;176(1–2):11–42. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.09.048>
- Deretic V, Levine B. Autophagy balances inflammation in innate immunity. *Autophagy*. 2018;14(2):243–51.
- Hansen M, Rubinsztein DC, Walker DW. Autophagy as a promoter of longevity: insights from model organisms. *Nat Rev Mol Cell Biol* [Internet]. 2018;19(9):579–93. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41580-018-0033-y>
- Boya P, Codogno P, Rodriguez-Muela N. Autophagy in stem cells: repair, remodelling and metabolic reprogramming. *Development*. 2018;145(4):1–14.
- Yin X, Xin H, Mao S, Wu G, Guo L. The Role of Autophagy in Sepsis: Protection and Injury to Organs. *Front Physiol*. 2019;10(August).
- Harrington JS, Choi AMK, Nakahira K. Mitochondrial DNA in Sepsis. *Curr Opin Crit Care*. 2017;23(4):284–90.
- Zhang H, Feng YW, Yao YM. Potential therapy strategy:

- Targeting mitochondrial dysfunction in sepsis. *Mil Med Res.* 2018;5(1):1–11.
- Peña-Sanoja MJ, De Sanctis JB. Autofagia y respuesta inmunitaria. *Redalyc.* 2013;54:325–37.
  - White E. The role for autophagy in cancer. *J Clin Invest.* 2015;125(1):42–6.
  - Towers CG, Wodetzki D, Thorburn A. Autophagy and cancer: Modulation of cell death pathways and cancer cell adaptations. *J Cell Biol.* 2020;219(1):1–15.
  - Yamamoto K, Venida A, Yano J, Biancur DE, Gupta S, Sohn ASW, et al. Autophagy promotes immune evasion of pancreatic cancer by degrading MHC-I. 2020;581(7806):100–5.
  - Katheder NS, Khezri R, O’Farrell F, Schultz SW, Jain A, Schink MKO, et al. Microenvironmental autophagy promotes tumour growth. *Nature.* 2017;541(7637):417–20.
  - Um JH, Yun J. Emerging role of mitophagy in human diseases and physiology. *BMB Rep.* 2017;50(6):299–307.
  - Clark IE, Dodson MW, Jiang C, Cao JH, Huh JR, Seol JH, et al. *Drosophila pink1* is required for mitochondrial function and interacts genetically with parkin. *Nature.* 2006;441(7097):1162–6.
  - Park J, Lee SB, Lee S, Kim Y, Song S, Kim S, et al. Mitochondrial dysfunction in *Drosophila* PINK1 mutants is complemented by parkin. *Nature.* 2006;441(7097):1157–61.
  - Rizzo F, Ronchi D, Salani S, Nizzardo M, Fortunato F, Bordoni

A, et al. Selective mitochondrial depletion, apoptosis resistance and increased mitophagy in human charcot-marie-tooth 2A motor neurons. *Oxford journals*. 2016;1–38.

- Palikaras K, Lionaki E, Tavernarakis N. Coordination of mitophagy and mitochondrial biogenesis during ageing in *C. elegans*. *Nature*. 2015;521(7553):525–8.



# **ROL DE LA PIROPTOSIS EN PATOLOGÍA HUMANA**

---

## **Capítulo 5**

Fernando Estaban Jara González



# ROL DE LA PIROPTOSIS EN PATOLOGÍA HUMANA

## RESUMEN

La muerte celular es considerada el proceso principal y programado que genera una renovación constante de elementos claves en los tejidos, incluso ha sido parte de las estrategias de tratamiento en enfermedades degenerativas y el cáncer, pero todos estos datos son aún insuficientes.

Si bien la apoptosis, ha sido el proceso de muerte más estudiado, la piroptosis, toma interés y muestra la importancia de describir un nuevo tema, en el cual los complejos inflamasoma, la gasdermina D, y la respuesta a patrones moleculares asociados a patógeno o daño (PAMPs -DAMPs) juegan un rol importante.

En relación con lo anterior, la piroptosis es un mecanismo regenerador y controlado de muerte celular, que facilita la homeostasis molecular y celular ante eventos adversos, sin embargo, cuando este mecanismo se encuentra mal regulado, se produce un gran número de desórdenes moleculares, que llevan a la presencia de lesiones y enfermedades cardiovasculares, infección por bacterias y virus, siendo esta, la causa de disfunción multiorgánica y muerte.

**Palabras clave:** piroptosis, respuesta inmunológica, sepsis. (Fuente: DeCS-BIREME)

## ABSTRACT

Cell death is considered the main and programmed process that generates a constant renewal of key elements in the tissues, it has even been part of the treatment strategies in degenerative diseases and cancer, but all these data are still insufficient.

Although apoptosis has been the most studied death process, pyroptosis takes interest and shows the importance of describing a new topic, in which the inflammasome complexes, gasdermin D, and the response to molecular patterns associated with pathogens or damage (PAMPs -DAMPs) play an important role.

In relation to the above, pyroptosis is a regenerative and controlled mechanism of cell death, which facilitates molecular and cellular homeostasis in the face of adverse events, however, when this mechanism is poorly regulated, a large number of molecular disorders occur, which lead to the presence of injuries and cardiovascular diseases, infection by bacteria and viruses, this being the cause of multi-organ dysfunction and death.

**Keywords:** pyroptosis, immune response, sepsis. (Source: MeSH-NLM)

## INTRODUCCIÓN

En el año 2018, el comité de nomenclatura sobre Muerte Celular (Nomenclature Committee on Cell Death, NCCD), reclasificó la muerte celular tomando en cuenta los aspectos moleculares, por lo cual, esta puede ser programada y no programada, por lo tanto, se

considera que la muerte celular no programada, ocurre generalmente en condiciones de daño físico del tejido, y en cambio, la muerte celular programada, inicia con señales moleculares precisas.

Tomando en cuenta lo anterior, se sabe, que la muerte puede ser apoptótica o no apoptótica; en la primera se mantiene la integridad de la membrana celular, hay ausencia de inflamación y se activan enzimas con actividad proteolítica; al contrario de esto, en la muerte celular no apoptótica se produce una ruptura de la membrana celular y la liberación de mediadores inflamatorios y del contenido citoplasmático al medio extracelular, lo que por un lado, estimula reflejos de inmunidad que facilita el control del daño inicial y por otro lado, pueden generar procesos inflamatorios exagerados que ocasionan daños orgánicos en el huésped y causan la muerte.

Por lo antes mencionado, este capítulo, intenta describir, los procesos celulares de la piroptosis, desde los estímulos iniciales, (DAMPs – PAMPs), pasando por los procesos moleculares de ensamble proteicos, conocidos como inflamasomas, y los efectos que esta estimulación genera, sobre las caspasas, y las interleucinas inflamatorias (IL-1 $\beta$  e IL-18), que finalmente a través de la gasdermina D y la generación de poros de membrana, provocan la destrucción de la membrana celular y liberación de citocinas activas al medio extracelular, con las consecuencias favorables o catastróficas, según la piroptosis sea regulada o mal regulada.

## *Piroptosis*

Se trata de un tipo de muerte celular inflamatoria, que ocurre después de la detección intracelular de señales de daño o de patógenos.

Así, un evento vascular cerebral, infarto cardíaco o cáncer pueden desencadenarla, pero también las infecciones, principalmente los lipopolisacáridos (LPS) de la cara externa de la pared celular de las bacterias Gram negativas.

Fue identificada por primera vez en los macrófagos en 1992, observándose una lisis rápida después de la infección por *Shigella flexneri*, y el nombre se acuñó en el año 2001.

La piroptosis requiere de dos estímulos, el primero es la activación de la inmunidad innata, Toll-like-4 (TLR4), que a su vez induce la activación del factor nuclear- $\kappa\beta$  (FN- $\kappa\beta$ ), así este factor se transporta al núcleo e induce el aumento en la transcripción de los genes para pro-IL-1 $\beta$  y pro IL-18, y procaspasas, como precursores inactivos de las citocinas inflamatorias (1 $\beta$  y 18) y de las caspasas; en esta activación se genera un aumento de receptores intracelulares tipo Nod (NLRs). El segundo induce la oligomerización de los complejos intracelulares denominados inflamasomas, estos últimos promueven la maduración de la pro-IL-1 $\beta$  y procaspasa-1, a sus formas activas, así la IL-1 $\beta$  induce un estado inflamatorio, y la caspasa -1 rompe la proteína citoplasmática Gasdermina D (GSDMD), esta última se transporta a la membrana y mediante la porción aminoterminal, forma

poros que provocan la muerte celular con salida de los componentes citoplasmáticos.

Por lo antes mencionado, las células piroptóticas presentan hinchamiento, fragmentación del material genético, formación de poros de membrana, ruptura de la membrana plasmática y liberación de mediadores inflamatorios y del contenido citoplasmático al espacio extracelular.

Se han descrito generalmente dos mecanismos moleculares en la piroptosis, la vía dependiente de caspasa-1 (vía canónica) y la vía independiente de caspasa-1 (vía no canónica), que es inducida por caspasa-4/5 humana o por caspasa-11 en ratones.

En la vía canónica los receptores de reconocimiento de patrones intracelulares (PRRs) incluyen receptor tipo Nod (NLR) que contiene 3 dominios pirina (NLRP3), el dominio de activación y reclutamiento de caspasa (CARD) de la familia NLR, que contiene 4 NLRC4, y el dominio pirina de la familia NLR que contiene 1B (NLRP1B), reconocen los estímulos patógenos y se unen a la pro caspasa-1 a través de la proteína adaptadora, proteína tipo punto asociada a apoptosis (ASC), para formar un complejo de múltiples proteínas que activan la caspasa-1.

En la vía no canónica activada por LPS intracelulares, un activador no canónico de inflamomas se liga y activa caspasas -11/4/5 iniciando la piroptosis. Después de que las caspasas son activadas, pro-IL-

1 $\beta$  y pro IL-18 son escindidas para activar IL-1 $\beta$  e IL-18, la cuales son liberadas extracelularmente para reclutar células inflamatorias y mejorar la respuesta inflamatoria.

La conexión entre N terminal y C terminal GSDMD es rápidamente escindida para remover el efecto inhibitorio de C terminal sobre N terminal, la cual se une con el fosfatidilinositol(PI) sobre las membranas celulares, promoviendo la oligomerización y la formación de los “canales de gasdermina”; la formación de numerosos microporos sobre la membrana celular, destruye el balance osmótico, llevando a la hinchazón y disolución de las membranas, seguido por la liberación del contenido celular con incremento de la respuesta inflamatoria.

La estimulación con LPS citosólico induce la escisión dependiente de caspasa-11 del canal de pannexina-1 y la posterior liberación de ATP, que activa el receptor P2X7 para causar pérdida de K<sup>+</sup> intracelular inducida por ATP; la activación del inflamasoma NLRP3 y la secreción de IL-1 $\beta$ . Por lo tanto, el NLRP3 podría ser el puente vital entre las vías canónica y no canónica. (Figura.1)

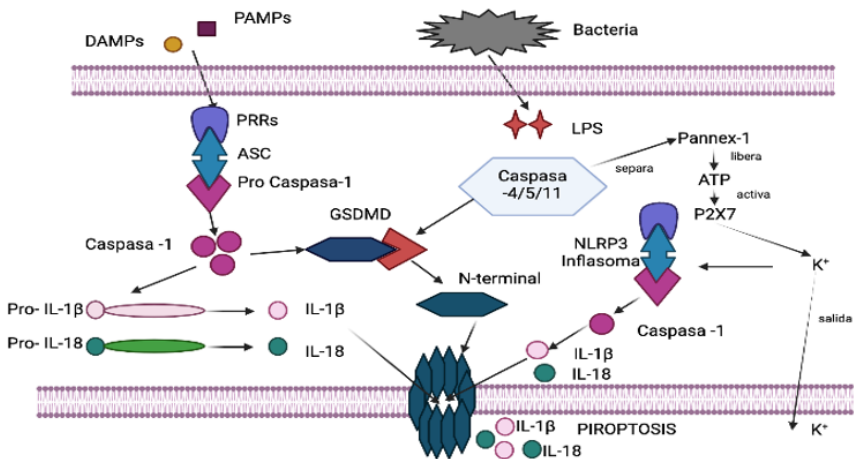


Figura 1. Vías canónica y no canónica de la piroptosis. En la vía canónica, los receptores de reconocimiento de patrones intracelulares (NLRB1, NLRP3, NLRC4) reconocen señales de estímulos patógenos y se unen a la procaspasa-1 a través de la proteína adaptadora, proteína tipo punto asociada a apoptosis (ASC), para formar un complejo, que activa la proteína caspasa-1. En la vía no canónica el LPS intracelular se une y activa la proteína caspasa -11/4/5 para iniciar la piroptosis. Después de activar la caspasa inflamatoria la pro IL-1β y la pro IL -18 se escinden en IL-1β e IL-18 activas. La porción GSDMD que conecta los terminales N y C se escinde para eliminar el efecto inhibitor del terminal C en el terminal N, luego el terminal N se conecta con fosfatidilinositol (PI) en la membrana celular, lo que genera oligomerización y la formación del “canal de gasdermina”; el movimiento de iones destruye el mecanismo osmótico generando hinchazón de la célula, disolución de la membrana, liberación del contenido celular y respuesta inflamatoria. Por otro lado, los LPS del citosol induce escisión dependiente de caspasa-11 del canal de pannexina-1 seguida de la liberación de ATP, que activa el receptor P2X7 para causar pérdida de K<sup>+</sup> intracelular inducida por ATP, activación del inflasoma NLRP3 y secreción de IL-1β

## ***Rol de la piroptosis en diferentes patologías***

### ***Rol de la piroptosis en la enfermedad cardiovascular***

El mantenimiento de la estructura y el normal funcionamiento del sistema cardiovascular requiere un equilibrio entre la formación y la muerte celular en el tejido y órganos del sistema incluyendo:

cardiomiocitos, células endoteliales, células de musculo liso vascular y fibroblastos cardíacos; un exceso de muerte celular lleva a la disfunción de tejidos y órganos.

### ***Piroptosis y aterosclerosis***

Numerosos eventos están involucrados, disfunción endotelial, acumulación y oxidación de proteínas de baja densidad (LDL) reclutamiento de monocitos y linfocitos, migración y proliferación de células del musculo liso, activación de citocinas proinflamatorias, y adherencia de plaquetas. Los estudios realizados revelan que los factores de riesgo para aterosclerosis pueden activar los inflamasomas NLRP3 en las células endoteliales y en macrófagos, estos inflamasomas inician la piroptosis, lo cual se correlaciona con la ruptura de placa y la inflamación vascular, siendo por lo tanto los NLRP3, los que juegan un rol importante en la progresión de la aterosclerosis.

### ***Piroptosis y dislipidemia***

Los cristales de colesterol activan al inflamasoma NLRP3 que induce daño lisosomal y lleva a la liberación de IL-1 $\beta$ , así la activación de NLRP3 induce la activación de la caspasa-1, por lo tanto, se considera el mayor mediador de la piroptosis, siendo los macrófagos los que toman parte en la progresión a la aterosclerosis.

Además, la LDL oxidada (Ox-LDL) es un factor de riesgo para la aterosclerosis, desencadenando el ensamblaje del inflamasoma NLRP3, y posteriormente la caspasa -1 activa la IL-1 $\beta$ , procesada en los macrófagos. Así mismo, altos niveles de triglicéridos activan



al inflamasoma NLRP3, y la hiperlipidemia induce activación de la caspasa-1, mejorando la expresión de moléculas de adhesión en las células vasculares y la selectina E en la aorta, promoviendo reclutamiento de monocitos en ApoE en ratones. Se encontró, por lo tanto, que ox-LDL induce piroptosis celular a través de especies de radicales libres de oxígeno (ROS) en las células endoteliales; esta vía de ROS induce piroptosis en ácidos grasos saturados, así como en el ácido palmítico.

### ***Piroptosis y cardiomiopatía diabética***

Se trata de una cardiopatía que ocurre en los diabéticos sin enfermedad coronaria o hipertensión, se caracteriza por anomalías estructurales y funcionales incluyendo disfunción miocárdica, muerte de células miocárdicas, activación de fibroblastos y desregulación metabólica. Al morir las células miocárdicas se pierden unidades de contractilidad, se presentan disturbios de la conducción, con hipertrofia compensadora de células miocárdicas y fibrosis.

Lo antes mencionado, se ha mostrado mediante microscopia electrónica, en donde las células moribundas tenían fibrillas inflamadas y mitocondrias similares a las características de la piroptosis en el miocardio de ratones y ratas diabéticas, demostrándose que el inflamasoma NLRP3 y caspasa-1, median la piroptosis presente en el miocardio de ratones diabéticos.

Otros estudios, han mostrado que microRNAs (miRNAs) están involucrados en la piroptosis de cardiomiocitos, de ellos miR-30d

ha sido involucrado, con reclutamiento de caspasa; mientras que por otro lado, el miR-9 inhibe la piroptosis inducida por hiperglucemia en cardiomiocitos humanos, por lo que podría tener un efecto protectorio.

### ***Piroptosis y falla cardíaca***

La falla cardíaca es considerada el estadio final de la enfermedad cardiovascular; las causas que generan este deterioro son varias, sin embargo, la miocarditis, infarto del miocardio, cardiomiopatías, hipertensión, fibrilación auricular, enfermedad vascular, abuso de alcohol y otras infecciones, son determinantes de este fracaso.

Como hemos visto en las patologías previas, los inflamomas NLRP3 están involucrados, y con ello, la escisión de caspasa-1, generan hipertrofia cardíaca y dilatación ventricular. Se ha descubierto además que la ablación genética de NLRP3 o un antagonista del receptor de IL-1, atenúa la inflamación cardíaca y la disfunción sistólica.

Además, de las patologías previas, las infecciones causadas por bacterias, estimulan los LPS involucrados en la piroptosis, lo que contribuye a la disfunción miocárdica en sepsis, ya que estimulan al inflamoma NLRP3 en los fibroblastos cardíacos y miofibroblastos(20). Otro factor importante es la fibrilación auricular (FA), que ha sido catalogada como un proceso inflamatorio que lleva a la falla cardíaca con niveles de IL-1 $\beta$  e IL-18 incrementados, lo cuales se han relacionado con la progresión y persistencia de FA. Se considera que la activación del NLRP3 en los cardiomiocitos auriculares, inducen una liberación anormal del calcio desde el retículo sarcoplásmico lo

que promueve la FA; por ello se han probado, en ratones, inhibidores del inflammasoma NLRP3 como MCC950 y modificaciones genéticas en el inflammasoma, que han demostrado prevenir el desarrollo de FA.

### ***Piroptosis e isquemia miocárdica, reperusión.***

La reperusión es el tratamiento definitivo para el infarto agudo de miocardio (IM), sin embargo este proceso acarrea consigo un potencial daño tisular “isquemia/reperusión”, dado principalmente por el estrés oxidativo, sobrecarga de calcio, poros de transición de permeabilidad mitocondrial e inflamación.

Los estudios han mostrado que el inflammasoma NLRP3 y la piroptosis están fuertemente asociados con el IM, ya que, favorecen a la ruptura de placa y la liberación de IL-1 $\beta$  que contribuye a la inflamación en IM. Así mismo, en el corazón isquémico se puede demostrar un aumento en la expresión de NLRP3 y la producción de IL-1 $\beta$  e IL-18 con activación de la caspasa-1; por otro lado, está la activación del NLRP3, estimulado por ROS, jugando un rol representativo en la respuesta inflamatoria de IM en ratas diabéticas(26). Ver figura 2.

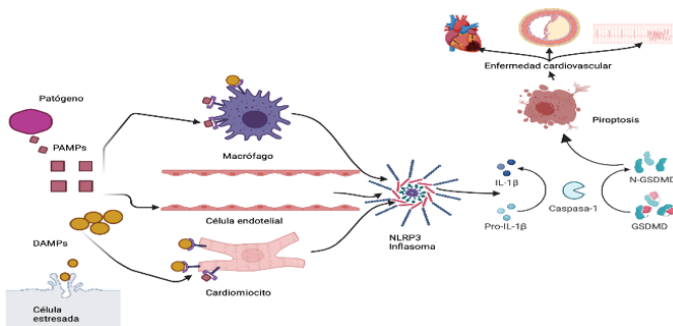


Figura 2. La activación de diversos patrones moleculares asociados a daño o patógenos, (PAMPs y DAMPs) inducen enfermedad cardiovascular, dada por la activación del NLRP3

inflamoma; esta activación induce piroptosis, teniendo como resultado, la formación de poros en las membranas de las células y la consiguiente enfermedad cardiovascular: isquemia, aterosclerosis, arritmias.

### ***Piroptosis y virus***

#### ***Piroptosis y miocarditis viral***

El coxsackie virus B3 (CVB3) es considerado el agente viral más importante de los 20 virus que han sido relacionados con la miocarditis en humanos. Wang et al reportaron que la activación del inflamoma NLRP3 estaba involucrado en la miocarditis inducida por CVB3. Por lo tanto, al inhibir el proceso inflamatorio, se mejoran los índices serológicos de creatina cinasa CK-MB, y además, el inhibidor de la caspasa-1 mejoró la fracción de eyección y fracción de acortamiento del ventrículo izquierdo.

#### ***SARS Cov2 y piroptosis***

En pacientes con COVID-19 grave, monocitos/macrófagos, podrían ser la fuente de mediadores proinflamatorios no controlados, como factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) e IL-6 en tracto respiratorio y sangre periférica.

Como sabemos, en COVID-19 grave, la tormenta de citocinas se asocia con altos niveles de daño tisular lo cual se manifiesta con un considerable incremento de lactato deshidrogenasa (LDH) y dímero D en plasma. Estos niveles elevados de LDH y leucopenia señalan que las células blancas han perdido la integridad de la membrana plasmática. La muerte lítica celular puede ser disparada por piroptosis o necroptosis en monocitos/ macrófagos, este fenómeno exagera la inflamación,

porque libera patrones moleculares asociados a daño intracelulares, con la posterior activación de la caspasa-1 y con ello la activación de gasdermina D para la formación de poros.

Por lo tanto, se encontró que SARS Cov2 involucra inflammasomas y piroptosis en monocitos humanos; estos eventos se asociaron con la activación de la caspasa -1, la producción de IL-1 $\beta$ , la escisión de GSDMD, con la consiguiente desregulación de la liberación de citosinas, así se encontró, que SARS Cov-2, induce la escisión de pro caspasa-1 de manera similar a los LPS de las bacterias Gram Negativas. Ver figura 3

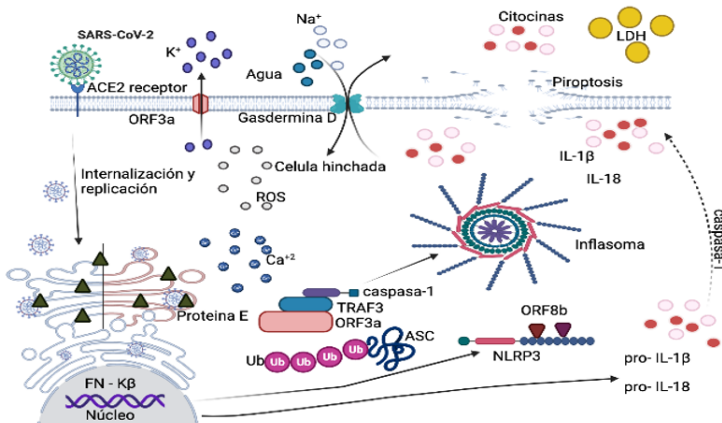


Figura 3. Activación de NLRP3 inflammasoma. La proteína E, induce la liberación del Ca<sup>++</sup> hacia el citosol desde el aparato de Golgi, mientras que ORF3 induce la salida de potasio a través de la membrana hacia el espacio extracelular; este desequilibrio iónico y el daño mitocondrial producen además ROS, que van a activar el inflammasoma NLRP3. El ensamble del inflammasoma está dado también por el ORF3a a través de TRAF3 mediante ubiquitinación de ASC. ORF8b activa de forma independiente al inflammasoma sin el proceso de los canales de iones. La activación del inflammasoma induce formación de poros de Gasdermina D en la membrana, causando liberación de interleucinas IL-1 $\beta$  e IL-18, con paso de agua y sodio que llevan a la hinchazón celular y la ruptura.

### ***Piroptosis y sepsis***

La sepsis se conoce como una respuesta no regulada del huésped a la infección, así una excesiva piroptosis puede llevar a una respuesta negativa del huésped a la infección y por consiguiente a la falla orgánica. En los estadios tempranos de la sepsis, el huésped activa la respuesta inmune innata, con lo que induce una muerte programada de células, sin embargo cuando la piroptosis está fuera de control, se activan reacciones inflamatorias en células y tejidos, lo que exagera la lesión inflamatoria, convirtiéndola en sistémica y luego es la causa de insuficiencia orgánica y choque séptico.

Aunque inicialmente fue considerada como un mecanismo de daño a las células del huésped, hoy se sabe que la piroptosis moderada es un mecanismo de defensa del huésped, que conduce a la eliminación de patógenos intracelulares. Ambas vías canónica y no canónica, estimulando la caspasa-1 así como la caspasa-4/5/11 están involucradas en el aclaramiento de patógenos intracelulares; estas destruyen el compartimento citosólico, dificultando la vida del patógeno, con lo cual se inhibe el crecimiento y la replicación, acelerando su excreción, como resultado, los patógenos son reconocidos y eliminados por las células de inmunidad, sin embargo, cuando la piroptosis es descontrolada, la reacción inflamatoria se vuelve intensa y acelera los procesos sépticos, que conllevan a un mal pronóstico.

Con relación a la sepsis, se conoce que el Toll-like receptor-4 (TLR 4) es clave para comprender las respuestas de la inmunidad innata

y específicas, relacionadas con las enfermedades infecciosas, principalmente en la sepsis. Sin embargo se ha puesto mayor interés en el rol que juega la caspasa, (vía de activación no canónica) independiente del TLR-4 en la activación y escisión de pro interleucinas, pro caspasa, inflamomas, mediante los LPS citosólicos que activan la caspasa-11(38). Los LPS están unidos al dominio de activación y reclutamiento de caspasa (CARD).

Los inflamomas, que son complejos moleculares compuestos de tres unidades de proteínas básicas:

- Molécula sensora, la cual puede incluir: NLRP1, NLRP2, NLRP3, NLRC4, AIM2 o pirina
- El adaptador ASC (proteína tipo punto asociada a la apoptosis que contiene un dominio de reclutamiento de caspasas o CARD), este adaptador, está asociado con todos los inflamomas y su función es reclutar pro-caspasa-1 en el inflamoma, siendo el ASC, fundamental para la activación y la perpetuación de la inflamación.
- Pro-caspasa-1. Caspasa-1 es una proteína proteasa que provoca inflamación y muerte celular. Se sintetizan como zimógenos inactivos que se activan por la activación proteolítica. La activación de la caspasa-1 está regulada por la autoactivación dependiente de la señal del complejo inflamoma para el procesamiento de IL, como IL-1 $\beta$  e IL-18.

La caspasa-11 ha sido considerada como la principal defensa contra la infección bacteriana intracelular, principalmente contra bacterias Gram negativas intracelulares. Luego de la activación por DAMPs y PAMPs; los primeros derivados de las células del huésped que incluye células tumorales, células moribundas o muertas, o son liberados desde las células en respuesta a la hipoxia; los segundos son derivados desde microorganismos provocando inflamación en respuesta a infección, siendo el LPS de la pared externa de las bacterias Gram negativas bien conocidos; varias caspasas (caspasa 1/4/5/-11) activan inflamomas (caspasa-1) y las otras reconocen directamente los LPS, lo cual favorece la piroptosis..

### ***Enfoque traslacional***

Aunque existen varios procesos moleculares que se vienen estudiando, la inhibición en la activación de los inflamomas, específicamente en la activación de las moléculas sensoras NLRP3, se ha sido tomados en consideración, principalmente porque estos, están relacionados con diversos desordenes inflamatorios como diabetes tipo1, artritis reumatoidea, esclerosis múltiple, enfermedad de Crohn's entre otros; por ello se han buscado mecanismos para inhibición con anticuerpo IL-1 $\beta$ , receptor antagonista recombinante IL-1 $\beta$ . Inhibidores de NLRP3 tales como:

### ***MCC950***

Es una molécula que inhibe el inflamoma NLRP3, inhibe ambas, la vía canónica y no canónica, evitando la secreción de IL-1 $\beta$ , o IL 18,



esto lo realiza al prevenir la oligomerización de ACS inducida por NLRP3. No tiene efectos sobre NLRC4, NLRP1, se ha considerado en modelos animales para el tratamiento del Parkinson.

### ***CY-09 y OLT1177***

CY-09, inhibe al inflamasoma NLRP3 en ubiquinación, este anula la unión al ATP de NLRP3, inhibiendo así la actividad de NLRP3 ATPasa, la activación de esta última, es crucial para la oligomerización de NLRP3 y su activación. CY-09, tiene un buen perfil farmacológico, seguro, estable, y con biodisponibilidad oral y bloquea la activación del inflamasoma NLRP3.

### ***Tranilast***

Es un análogo del triptófano, reconocido como antialérgico, y usado para tratar enfermedades inflamatorias; muestra un importante efecto inhibitor del NLRP3 pero no de los inflasomas NLRC4 o AIM2, sus estudios se han dado principalmente en ratones, y ha mostrado buenos resultados en el tratamiento de la gota, diabetes tipo 2.

### ***Oridonin***

Medicina herbal para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria, puede suprimir la activación del FN-kB, su mecanismo de acción suprime la liberación de citoquinas inflamatorias dependientes de inflamasoma, específicamente el NLRP3 Ha tenido buenos efectos terapéuticos en neuroinflamación, sepsis y colitis.

## **FC11A-2**

Estudiado en ratones, a quienes se les indujo colitis, luego se demostró que el FC11A-2 tuvo alta efectividad para inhibir el inflamasoma NLRP3 y con ello la liberación de IL-1 $\beta$ , o IL 18, así como también reduce la cantidad de caspasa 1 activada, por una vía independiente de la activación de FN-kB.

Así mismo, otras aplicaciones en la inhibición del inflamasoma se han visto en el cáncer, ya que se ha considerado que la inflamación mediada por virus u otros microbios juegan un rol crucial en la tumorigénesis. Varias drogas han sido estudiadas, de ellas talidomida y anakinra son las que han dado mejor evidencia, estas drogas inhiben la producción y activación de inflamasomas asociada a moléculas como P2X7R, IL-1, FN-kB y caspasa-1, así como también la regulación de factores de crecimiento vascular que suprimen la proliferación del tumor, metástasis y angiogénesis.

En la siguiente tabla, se describen algunos de los tratamientos que se han utilizado el sitio de acción y el tipo de cáncer o enfermedad en el cual su actividad ha sido mejor. (Ver tabla 1).

Tabla 1: se consideran las diversas drogas en estudio y como estas actúan inhibiendo los inflamasomas o lugares específicos de la activación, y con ello las respuestas tanto de activación o inhibición; aunque muchos de estos fármacos se encuentran en estudio, han sido probados en modelos animales y podrían ser efectivos en el tratamiento de varias enfermedades inflamatorias y cáncer como se describe. Ver figura 4.

Droga	Objetivo	Enfermedades
Talidomida	Caspasa-1	Mieloma Cáncer de Próstata

Anakinra	Antagonista del receptor de IL-1	Artritis reumatoide Mieloma
Drogas en estudio		
Antagonistas de P2X7R	P2X7R	Cáncer de próstata Adenocarcinoma pancreático ductal Carcinoma escamoso de cuello y cabeza Cáncer colorectal Papiloma Osteosarcoma Mieloma múltiple
Parthenolide	Inhibición del FN-kB	Cáncer gástrico Adenocarcinoma pancreático Cáncer colorectal Carcinoma Nasofaringeo
Canakinumab	Anticuerpo monoclonal humano dirigido a IL-1 $\beta$	Síndromes periódicos asociados a criopirina Adenocarcinoma de pulmón Cáncer de células grandes pobremente diferenciado

Andrografólido	TLR4/FN-kB	Insulinoma Cáncer colorectal Cáncer de mama Mieloma múltiple
	Drogas potenciales antitumor	
Gliburida	Bloqueador NLRP3	Inflamación placentaria Podría causar hipoglicemia
16673-34-0	Bloqueador NLRP3	Infarto del miocardio Menos hipoglicemia
MCC950/ CRID3	Bloqueador NLRP3  Inhibe IL-1 $\beta$ y caspasa-1.  GSTO1 interactúa con ASC	Enfermedad colónica
VX740/ Pralnacasan	Caspasa-1 IL-18mRNA	Osteoartritis Artritis reumatoide
VX-765/belnacasan	Inhibe la caspasa-1	Convulsiones Alzheimer Infarto de miocardio

Ac-YVAD-CHO	Inhibe activación de caspasa-1  Disminuye secreción IL-1 $\beta$ , o IL 18	Carcinoma de células pancreáticas
-------------	--	-----------------------------------

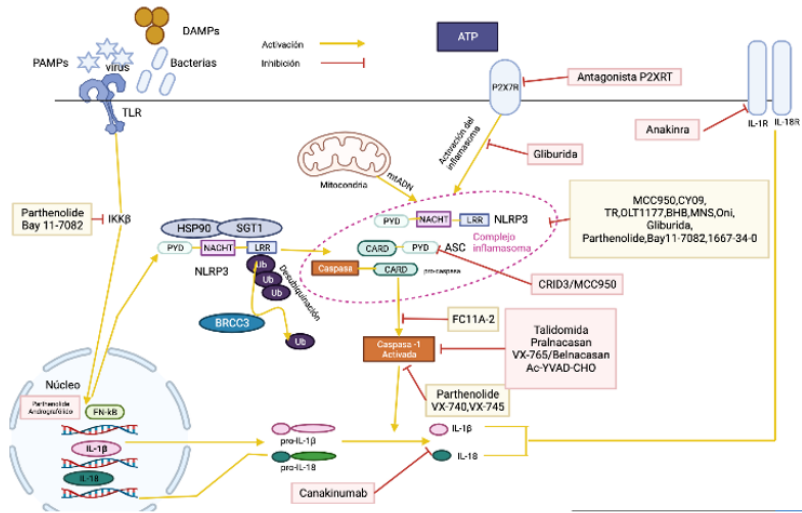


Figura 4. Vía de señalización e inhibición del inflamasoma. La activación del inflamasoma se inicia con el reconocimiento de PAMPs o DAMPs que median la activación del FN-kB; la activación de este, induce la producción de NLRP3 y la generación de pro IL -1 $\beta$  y pro IL-18, después de la desubiquitinación y combinación con mtADN, NLRP3 interactúa con ASC y caspasa-1 formando el complejo inflamasoma. El inflamasoma se activa mediante el reconocimiento de P2X7R, lo que conduce a la escisión de la caspasa-1. La caspasa-1 activa promueve la secreción de IL -1 $\beta$  e IL-18, claves para inducir la inflamación. Los inhibidores del inflamasoma dirigen sus moléculas corriente arriba a o abajo en la vía de señalización del inflamasoma, las flechas amarillas indican los efectos activadores mientras las líneas rojas las dianas inhibidas.

## CONCLUSIÓN

Un mecanismo interesante de muerte celular, un proceso inflamatorio con fines regulados de homeostasis celular e intracelular que puede llegar a desregularse como sucede en gran parte de los procesos inmunes. La exageración de su presentación, secundaria a la activación por DAMPs o PAMPs, dejan en evidencia, las consecuencias del daño causado a nivel celular y de los tejidos por la activación de interleucinas inflamatorias que perpetúan la señalización y agravan el proceso de piroptosis, activado por inflamasomas, lo cual termina en la destrucción de las paredes celulares, con eliminación de material citoplasmático al exterior, lo que lleva a la falla orgánica múltiple en unos casos y en otros a la generación de enfermedades degenerativas. Finalmente, los trabajos se centran en el bloqueo del inflamasoma, una vez, que este y en especial el NLRP3, ha sido el causante de la mayoría de las investigaciones, con el fin de bloquearlo; es necesario aclarar, que hacen falta más estudios para comprobar y utilizar, estos fármacos de bloqueo, en las enfermedades antes mencionadas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, Abrams JM, Adam D, Agostinis P, et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death Differ.* marzo de 2018;25(3):486-541.
- Frank D, Vince JE. Pyroptosis versus necroptosis: similarities, differences, and crosstalk. *Cell Death Differ.* enero de 2019;26(1):99-114.
- Bergsbaken T, Fink SL, Cookson BT. Pyroptosis: host cell death and inflammation. *Nat Rev Microbiol.* febrero de 2009;7(2):99-109.
- Nyström S, Antoine DJ, Lundbäck P, Lock JG, Nita AF, Högstrand K, et al. TLR activation regulates damage-associated molecular pattern isoforms released during pyroptosis. *EMBO J.* 9 de enero de 2013;32(1):86-99.
- Zychlinsky A, Prevost MC, Sansonetti PJ. *Shigella flexneri* induces apoptosis in infected macrophages. *Nature.* 9 de julio de 1992;358(6382):167-9.
- Cookson BT, Brennan MA. Pro-inflammatory programmed cell death. *Trends Microbiol.* marzo de 2001;9(3):113-4.
- Shi J, Zhao Y, Wang K, Shi X, Wang Y, Huang H, et al. Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death. *Nature.* octubre de 2015;526(7575):660-5.
- Jorgensen I, Miao EA. Pyroptotic cell death defends

against intracellular pathogens. *Immunol Rev.* mayo de 2015;265(1):130-42.

- Abderrazak A, Syrovets T, Couchie D, El Hadri K, Friguet B, Simmet T, et al. NLRP3 inflammasome: from a danger signal sensor to a regulatory node of oxidative stress and inflammatory diseases. *Redox Biol.* 2015;4:296-307.
- Broz P, Dixit VM. Inflammasomes: mechanism of assembly, regulation and signalling. *Nat Rev Immunol.* julio de 2016;16(7):407-20.
- Latz E, Xiao TS, Stutz A. Activation and regulation of the inflammasomes. *Nat Rev Immunol.* junio de 2013;13(6):397-411.
- Shi J, Zhao Y, Wang Y, Gao W, Ding J, Li P, et al. Inflammatory caspases are innate immune receptors for intracellular LPS. *Nature.* 9 de octubre de 2014;514(7521):187-92.
- He W, Wan H, Hu L, Chen P, Wang X, Huang Z, et al. Gasdermin D is an executor of pyroptosis and required for interleukin-1 $\beta$  secretion. *Cell Res.* diciembre de 2015;25(12):1285-98.
- Kovacs SB, Miao EA. Gasdermins: Effectors of Pyroptosis. *Trends Cell Biol.* septiembre de 2017;27(9):673-84.
- Frustaci A, Kajstura J, Chimenti C, Jakoniuk I, Leri A, Maseri A, et al. Myocardial cell death in human diabetes. *Circ Res.* 8 de diciembre de 2000;87(12):1123-32.
- Yu W, Wu J, Cai F, Xiang J, Zha W, Fan D, et al. Curcumin Alleviates Diabetic Cardiomyopathy in Experimental Diabetic



Rats. PLOS ONE. 14 de diciembre de 2012;7(12):e52013.

- Luo B, Li B, Wang W, Liu X, Xia Y, Zhang C, et al. NLRP3 gene silencing ameliorates diabetic cardiomyopathy in a type 2 diabetes rat model. PLoS One. 2014;9(8):e104771.
- Jeyabal P, Thandavarayan RA, Joladarashi D, Suresh Babu S, Krishnamurthy S, Bhimaraj A, et al. MicroRNA-9 inhibits hyperglycemia-induced pyroptosis in human ventricular cardiomyocytes by targeting ELAVL1. Biochem Biophys Res Commun. 18 de marzo de 2016;471(4):423-9.
- Bracey NA, Beck PL, Muruve DA, Hirota SA, Guo J, Jabagi H, et al. The Nlrp3 inflammasome promotes myocardial dysfunction in structural cardiomyopathy through interleukin-1 $\beta$ . Exp Physiol. febrero de 2013;98(2):462-72.
- Boza P, Ayala P, Vivar R, Humeres C, Cáceres FT, Muñoz C, et al. Expression and function of toll-like receptor 4 and inflammasomes in cardiac fibroblasts and myofibroblasts: IL-1 $\beta$  synthesis, secretion, and degradation. Mol Immunol. junio de 2016;74:96-105.
- Luan Y, Guo Y, Li S, Yu B, Zhu S, Li S, et al. Interleukin-18 among atrial fibrillation patients in the absence of structural heart disease. Europace. diciembre de 2010;12(12):1713-8.
- Yao C, Veleva T, Scott L, Cao S, Li L, Chen G, et al. Enhanced Cardiomyocyte NLRP3 Inflammasome Signaling Promotes Atrial Fibrillation. Circulation. 13 de noviembre de 2018;138(20):2227-42.

- Shi J, Gao W, Shao F. Pyroptosis: Gasdermin-Mediated Programmed Necrotic Cell Death. *Trends Biochem Sci.* abril de 2017;42(4):245-54.
- Yi Y-S. Caspase-11 non-canonical inflammasome: a critical sensor of intracellular lipopolysaccharide in macrophage-mediated inflammatory responses. *Immunology.* octubre de 2017;152(2):207-17.
- Lin J, Shou X, Mao X, Dong J, Mohabeer N, Kushwaha K kumar, et al. Oxidized Low Density Lipoprotein Induced Caspase-1 Mediated Pyroptotic Cell Death in Macrophages: Implication in Lesion Instability? *PLOS ONE.* 25 de abril de 2013;8(4):e62148.
- Qiu Z, Lei S, Zhao B, Wu Y, Su W, Liu M, et al. NLRP3 Inflammasome Activation-Mediated Pyroptosis Aggravates Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury in Diabetic Rats. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:9743280.
- Grist NR, Reid D. Organisms in myocarditis/endocarditis viruses. *J Infect.* marzo de 1997;34(2):155.
- Esfandiarei M, McManus BM. Molecular biology and pathogenesis of viral myocarditis. *Annu Rev Pathol.* 2008;3:127-55.
- Wang Y, Gao B, Xiong S. Involvement of NLRP3 inflammasome in CVB3-induced viral myocarditis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 15 de noviembre de 2014;307(10):H1438-1447.
- Man SM, Karki R, Kanneganti T-D. Molecular mechanisms

and functions of pyroptosis, inflammatory caspases and inflammasomes in infectious diseases. *Immunol Rev.* mayo de 2017;277(1):61-75.

- Ferreira AC, Soares VC, de Azevedo-Quintanilha IG, Dias S da SG, Fintelman-Rodrigues N, Sacramento CQ, et al. SARS-CoV-2 engages inflammasome and pyroptosis in human primary monocytes. *Cell Death Discov.* 1 de marzo de 2021;7(1):43.
- Yap JKY, Moriyama M, Iwasaki A. Inflammasomes and Pyroptosis as Therapeutic Targets for COVID-19. *J Immunol.* 15 de julio de 2020;205(2):307-12.
- Aglietti RA, Dueber EC. Recent Insights into the Molecular Mechanisms Underlying Pyroptosis and Gasdermin Family Functions. *Trends Immunol.* abril de 2017;38(4):261-71.
- Aziz M, Jacob A, Yang W-L, Matsuda A, Wang P. Current trends in inflammatory and immunomodulatory mediators in sepsis. *J Leukoc Biol.* marzo de 2013;93(3):329-42.
- Aziz M, Jacob A, Wang P. Revisiting caspases in sepsis. *Cell Death Dis.* 20 de noviembre de 2014;5:e1526.
- Schroder K, Muruve DA, Tschopp J. Innate immunity: cytoplasmic DNA sensing by the AIM2 inflammasome. *Curr Biol.* 24 de marzo de 2009;19(6):R262-265.
- Jorgensen I, Rayamajhi M, Miao EA. Programmed cell death as a defence against infection. *Nat Rev Immunol.* marzo de 2017;17(3):151-64.

- Kayagaki N, Wong MT, Stowe IB, Ramani SR, Gonzalez LC, Akashi-Takamura S, et al. Noncanonical Inflammasome Activation by Intracellular LPS Independent of TLR4. *Science*. 13 de septiembre de 2013;341(6151):1246-9.
- Tang D, Kang R, Coyne CB, Zeh HJ, Lotze MT. PAMPs and DAMPs: signal 0s that spur autophagy and immunity. *Immunol Rev*. septiembre de 2012;249(1):158-75.
- Mogensen TH. Pathogen recognition and inflammatory signaling in innate immune defenses. *Clin Microbiol Rev*. abril de 2009;22(2):240-73, Table of Contents.
- Gao Y-L, Zhai J-H, Chai Y-F. Recent Advances in the Molecular Mechanisms Underlying Pyroptosis in Sepsis. *Mediators of Inflammation*. 7 de marzo de 2018;2018:e5823823.
- Gordon R, Albornoz EA, Christie DC, Langley MR, Kumar V, Mantovani S, et al. Inflammasome inhibition prevents  $\alpha$ -synuclein pathology and dopaminergic neurodegeneration in mice. *Sci Transl Med*. 31 de octubre de 2018;10(465):eaah4066.
- Huang Y, Jiang H, Chen Y, Wang X, Yang Y, Tao J, et al. Tranilast directly targets NLRP3 to treat inflammasome-driven diseases. *EMBO Mol Med*. abril de 2018;10(4):e8689.
- Wang S, Zhang Y, Saas P, Wang H, Xu Y, Chen K, et al. Oridonin's therapeutic effect: Suppressing Th1/Th17 simultaneously in a mouse model of Crohn's disease. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2015;30(3):504-12.

- Liu W, Guo W, Wu J, Luo Q, Tao F, Gu Y, et al. A novel benzo[d]imidazole derivate prevents the development of dextran sulfate sodium-induced murine experimental colitis via inhibition of NLRP3 inflammasome. *Biochem Pharmacol.* 15 de mayo de 2013;85(10):1504-12.
- Balkwill F, Coussens LM. Cancer: an inflammatory link. *Nature.* 23 de septiembre de 2004;431(7007):405-6.
- Xu S, Li X, Liu Y, Xia Y, Chang R, Zhang C. Inflammasome inhibitors: promising therapeutic approaches against cancer. *Journal of Hematology & Oncology.* 26 de junio de 2019;12(1):64.
- Zahid A, Li B, Kombe AJK, Jin T, Tao J. Pharmacological Inhibitors of the NLRP3 Inflammasome. *Front Immunol.* 25 de octubre de 2019;10:2538.



# **IMPORTANCIA DE LA RUTA DE SEÑALIZACIÓN JAK/STAT EN LA SEPSIS**

---

## **Capítulo 6**

Daniel Alfonso Torres-Carpio MD. MSc.

Fernando Enrique Rueda-Barragán MD.

Enrique Santiago Lanas-Mendoza MD.

# IMPORTANCIA DE LA RUTA DE SEÑALIZACIÓN JAK/STAT EN LA SEPSIS

## RESUMEN

El transductor de señal Janus-Kinasa y la vía de activación de la transcripción conocida como JAK/STAT es una ruta de señalización principal para la transducción de información en muchas citocinas inflamatorias implicadas durante la sepsis. Se ha demostrado que la vía JAK/STAT está fuertemente relacionada con el fallo multiorgánico, además que muchas citocinas pueden ejercer sus efectos biológicos a través de esta ruta. En los últimos años, se ha logrado un progreso significativo en la comprensión de las funciones de este complejo, sin embargo, su rol en la sepsis como objetivo terapéutico permanece en experimentación.

En esta revisión se describen las funciones específicas de la vía JAK/STAT, su rol en la sepsis y presentamos un enfoque traslacional respecto a la perspectiva terapéutica para inhibir esta ruta de señalización durante la sepsis y su interacción con enfermedades inflamatorias como la COVID-19.

**Palabras clave:** Janus Kinasa, vía de señalización JAK/STAT, sepsis, citocinas, inflamación. (Fuente: DeCS-BIREME)

## ABSTRACT

The Janus-Kinase signal transducer and transcription activation pathway known as JAK / STAT is a major signaling pathway for

the transduction of information in many involved inflammatory cytokines during sepsis. The JAK / STAT pathway has been shown to be strongly related to multi-organ failure, and many cytokines can exert their biological effects through this pathway. In recent years, significant progress has been made in understanding the functions of this complex, however, its role in sepsis as a therapeutic target remains under experimentation. This review describes the specific functions of the JAK / STAT pathway, its role in sepsis, and presents a translational approach to the therapeutic perspective to inhibit this signaling pathway during sepsis and its interaction with inflammatory diseases such as COVID-19.

**Keywords:** Janus Kinase, JAK/STAT signaling pathway, sepsis, cytokine, inflammation. (Source: MeSH-NLM)

## **INTRODUCCIÓN**

En la actualidad, sabemos que las citocinas, moléculas de 30 kda, tienen una función de mensajeras que se encargan de llevar información desde una célula a otra. Participan en procesos de inmunidad innata como adquirida por lo que se ha postulado que las mismas citocinas pueden generar una respuesta inmunológica desregulada, caracterizando muchas enfermedades autoinmunes que podrían constituir una de las bases fisiopatológicas de la exagerada respuesta inflamatoria que se desarrolla durante la sepsis y, más recientemente, en la infección por SARS-CoV-2.



Para que estas citocinas puedan interactuar con la célula y ejercer su trabajo, tienen que interactuar con receptores intracelulares de citocinas. En los últimos 20 años, se han generado nuevos conocimientos y más avances en este campo, es así que, se ha identificado uno de los receptores más importante en relación con la patogenia de las enfermedades inmunes, tal es el caso del receptor tipo I/II de citoquinas que usa el sistema Janus Kinasa - transducción de señales y activación de la transcripción (JAK STAT) para su funcionamiento.

Las Janus Kinasa (JAK) son un conjunto de enzimas citoplasmáticas que hacen de mensajeras facilitando la transmisión de señales desde la superficie celular al interior de esta. Estas enzimas fueron descritas por primera vez en 1990 y, hasta el momento en mamíferos, se han descrito cuatro componentes de esta familia como el JAK1, JAK2, JAK3, TyK2. El primero en describirse fue el componente TyK2, posteriormente se fueron descubriendo el resto de componentes del sistema.

El sistema de transducción de señales y activación de la transcripción (STAT) fue descrito en 1992 y, desde entonces, se ha descubierto que en mamíferos existen siete proteínas: STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5a, STAT5b, STAT6.

En la presente revisión, se hará la descripción desde la fisiología del sistema JAK/STAT, su mecanismo en ciertas enfermedades, su relación con la sepsis y, por último, la atractiva interacción que tiene

la enfermedad por COVID-19 en este campo para, finalmente, poder establecer un enfoque traslacional aplicados en el enfermo crítico.

### ***Vía jak-stat: un camino por la fisiología***

La vía JAK-STAT, ha sido utilizada por más de 500 millones de años, siendo un camino para transmitir señales desde los receptores extracelulares al núcleo. Esta vía clásicamente ha sido activada por citocinas y hormona del crecimiento.

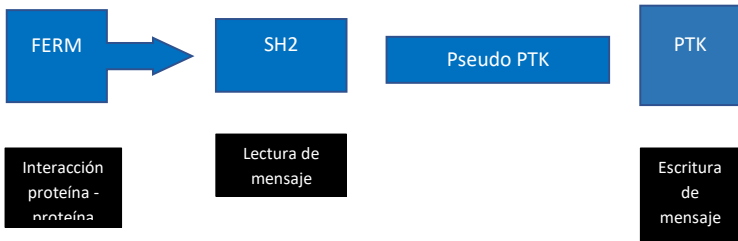
Para poder entender cómo funciona este sistema, es importante conocer en primer lugar su conformación. Clásicamente, en el núcleo del sistema JAK-STAT se han identificado 3 dominios proteínicos :

- Proteína tirosin-kinasa (PTK): fosforila los residuos de tirosina, escribe el código de información.
- Src-homóloga 2 (SH2): se une a los residuos de fosfotirosina alrededor de la tirosina, lo que permite leer el código.
- Proteína tirosin-fosfatasa (PTP): permite la desfosforilación de la fosfotirosina lo que borra el código de información.
- Además de estos 3 componentes, el sistema JAK-STAT consta de otros dominios que proporcionan funciones accesorias:
- Dominio FERM: consiste en tres subdominios (F1, F2, F3) que tienen una estructura similar con la ubiquitina; la función de este dominio permite mediar las interacciones proteína-proteína
- Caja SOCs: media las interacciones con los componentes de la vía de degradación proteasomal, particularmente ubiquitina-ligasas, regulando así la vida media de las proteínas.

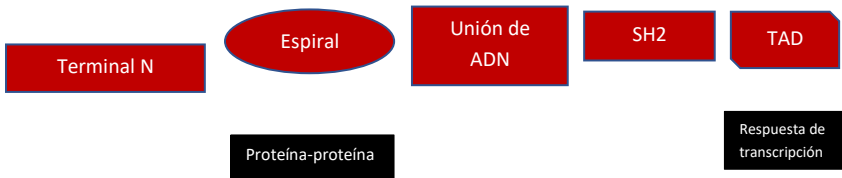
- Dominio de Unión de ADN: Presente en la porción STAT que se encarga de mediar la interacción con el ADN
- Dominio espiral: involucrado en interacciones proteína-proteína.
- Dominio de transactivación (TAD): es importante para el reclutamiento de cofactores y las respuestas transcripcionales.

Todos estos dominios se integran para formar la ruta JAK-STAT. (figura 1).

### JAK



### STAT



### SOCS



Figura 1. Anatomía y función de los diferentes componentes de la vía JAK/STAT

Toda la señal se inicia cuando las citocinas se unen a sus receptores I/II. Estos receptores, cuando se unen a las citocinas, se oligomerizan lo que permite la separación de las subunidades intracelulares del receptor de cinasa, activando el sistema JAK. Una vez activado, se fosforilan a sí mismos y a la porción intracelular de sus receptores, creando sitios de unión para los dominios homólogos a Src2: SH2. (12). Además, este paso sirve como sitio de acoplamiento para los factores de transcripción STAT.

Una vez activado los STAT, logran la translocación del núcleo donde actúan como factores de transcripción para regular la expresión génica.

Podemos explicar la vía JAK STAT (figura 2 y 3) de la siguiente manera:

- Primer paso: Unión de la citoquina a su receptor, permitiendo fosforilación de las proteínas JAK que fosforilan a los restos tirosina, las cuales reclutan a las proteínas STAT
- Segundo paso: Fosforilación de las proteínas STAT que se dimerizan y se translocan al núcleo
- Tercer paso: ya en el núcleo estas proteínas STAT activan la transcripción de los genes, que muchas veces tienen que ver con la acción del sistema inmunitario.

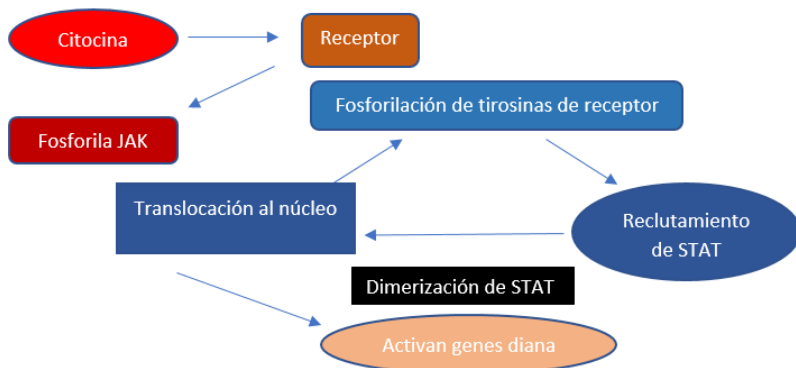


Figura 2. Activación del sistema JAK/STAT por citocinas.

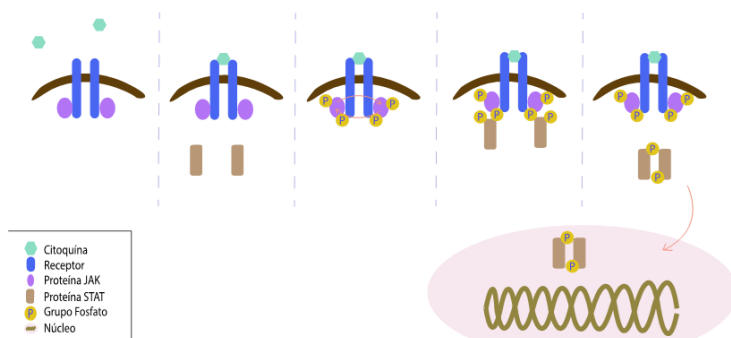


Figura 3. Esquema de activación del sistema JAK/STAT.

La vía del JAK/STAT tiene algunos reguladores negativos que modulan la respuesta. Estos moduladores son:

- Proteína tirosina fosfatasa (PTP): facilita la desfosforilación.
- Supresores de la señalización de citocina (SOCS).
- Inhibidores de proteínas activadas (PIA): proteínas que pueden unirse a dímeros STAT activados y evitar que se unan al ADN.

Haremos una especial mención a las SOCS, tras ser demostrado que inhiben este proceso por dos mecanismos: el primero es unirse a las tirosinas fosforiladas, lo que hace que compita con el reclutamiento de STAT (inhibición competitiva), permitiendo que las moléculas STAT no se unan. El segundo mecanismo es la inhibición que se establece sobre las moléculas JAK, lo que inhibe la fosforilación y el bloqueo de STAT al componente residual de tirosina fosforilada. Por lo tanto, los SOCS pueden facilitar la ubiquitinación, cuyo objetivo es disminuir la estabilidad del sistema preparándolos para la degradación proteosomal.

### ***Implicaciones de la vía jak stat en la inflamación y su relación con enfermedades autoinmunes***

Se ha demostrado que tanto el factor de crecimiento hematopoyético, incluido eritropoyetina, trombopoyetina, den su señal a través del JAK 2. Por lo tanto, una mutación de este, se ha relacionado con policitemia vera, trombocitopenia esencial y mielofibrosis.

Otra de las alteraciones importantes son las mutaciones y pérdida de función a nivel del JAK subtipo TYK2, donde el cuerpo, al parecer, es más susceptible a infecciones de tipo viral debido a la pobre respuesta al interferón. Una pérdida en la función del JAK 3 causa una inmunodeficiencia severa, afectando las acciones de células T y natural killers (NK) con sus consecuencias sobre la respuesta inmune. Llama la atención que pacientes con inmunodeficiencia combinada grave autosómica recesiva, asociada a cambios en el receptor JAK 3, no sean afectados por las manifestaciones extra inmunitarias de la

enfermedad, lo que sugiere que el bloqueo del JAK 3 es una posible terapia inmunosupresora.

Así mismo, mutaciones en la proteína STAT, permite que el paciente padezca de infecciones por micobacterias, debido a que este defecto no se relacione con respuesta alguna al interferón. Mutaciones en la proteína STAT2, podrían desencadenar infecciones de tipo viral, generando un síndrome parecido a la sepsis después de haber recibido una vacuna con virus atenuados. Mutaciones en el STAT 3 se han relacionado con enfermedades autoinmunes de inicio temprano, tales como diabetes neonatal y enfermedad autoinmune linfoproliferativa.

Dentro de la constelación de enfermedades asociadas a cambios en el sistema JAK/STAT se han filiado a la artritis reumatoide, psoriasis y enfermedad intestinal, por lo que, al final de los años 90, la FDA aprobó fármacos llamados ‘Jakinibs’ para bloquear esta vía.

### ***Ruta de señalización jak-stat asociada a la sepsis***

La sepsis, como inductor de fallo multiorgánico, tiene un papel fundamental en la mortalidad dependiendo de la severidad con que se presente cada una de sus fases. El síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) seguido de un estadio de inmunosupresión inducida por sepsis o respuesta antiinflamatoria compensatoria (CARS), tienen como finalidad equilibrar la secreción de citocinas pro y antiinflamatorias. Tanto SIRS como CARS, introducen a la Janus Kinasa o proteína JAK además de transductores y activadores de señal de transcripción o proteína STAT.

En cuanto a la función de las proteínas JAK-STAT en la sepsis, existen múltiples mecanismos por los cuales se puede desencadenar una respuesta desregulada del huésped. La SIRS está mediada principalmente por STAT1 y STAT4, mientras que el CARS predominan STAT3 y STAT6, con la participación de JAK1-2 y tirosina quinasa 2 para ambos casos.

Asociado a la proliferación celular y apoptosis, las proteínas JAK y STAT se han visto incluidas en el proceso de hematopoyesis de emergencia y disfunción orgánica que surge en un paciente séptico, lo cual es indicativo de que el dirigir la terapéutica a la vía de JAK/STAT pudiera significar cambios clínicos a favor del paciente con sepsis.

Las proteínas JAK y STAT desempeñan funciones muy relevantes durante la sepsis, a través de la defensa del huésped contra los distintos patógenos y a la par, con la regulación de la inmunidad. Recalcando la importancia que tiene el reconocimiento de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) por los receptores de reconocimiento de patógenos (PRR), que activan el sistema inmunitario innato durante la sepsis, los cuales van a necesitar de dichas vías de señalización para cumplir su objetivo.

Estas vías incluyen a los receptores del factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), proteína inflamatoria de macrófagos tipo 2 (también llamada ligando 2 de quimiocina CXC, CXCL2), citocinas de tipo I, incluidas las interleucinas (IL-4, IL-6, IL -10, IL-12 e IL-



13) y citocinas de tipo II, incluidos los interferones (IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$  e IFN- $\gamma$ ).

Por lo tanto, JAK y STAT están implicadas en la señalización de citocinas tanto proinflamatorias (IFN- $\gamma$ , IL-12 e IL-27) como antiinflamatorias (IL-4, IL-10 e IL-13), lo que a su vez, revela la capacidad de varios miembros de la familia STAT para regular diferencialmente el equilibrio de las células T helper (Th) 1 / Th2, que desempeñan un papel fundamental dentro de la sepsis.

En la Tabla 1 se detalla el rol que desempeña cada uno de los miembros de la familia JAK y STAT en la respuesta del huésped contra la sepsis bacteriana en base a cada tipo de célula efectora.

Tabla 1 Funciones respectivas de los miembros de la familia JAK y STAT en la respuesta del huésped contra la sepsis bacteriana.

STATs	Tipo de Citoquina	JAK	Célula efectora	Respuesta a infección bacteriana
STAT1	IFN- $\gamma$	J A K 1 , JAK2	Monocitos, Macrófagos	Th1 Proinflamatorio
	IFN- $\alpha/\beta$	J A K 1 , TYK2		
	IL - 2 7 , IFN- $\lambda$			
STAT2	IFN- $\alpha/\beta$	J A K 1 , TYK2	Monocitos, Macrófagos, Neutrófilos	Th1 Proinflamatorio

STAT3	IL-6	JAK 1/2, TYK2	Monocitos, Macrófagos MDSC	Proinflamatorio Th17 (IL-6)
	IL-10	JAK 1, TYK2		Inmunoregulatorio Th2 (IL-10)
	G-CSF	JAK 1/2, TYK2		Granulopoiesis de Emergencia
STAT4	IL-12	JAK 2, TYK2	Linfocitos, Células Natural Killer, Células dendríticas	Th1 Proinflamatorio
STAT5a	IL-2, IL-3	JAK2	Linfocitos (CD4)	Inmunoregulatorio Th2 (IL-2,3)
STAT5b	IL-7	JAK1/3	Linfocitos (CD4)	Células de supervivencia (IL-7)
	G M - CSF	JAK1/2	Célula Mieloide	Granulopoiesis de Emergencia
STAT6	IL-4	JAK 1, JAK3	Linfocitos (Células B y T)	Inmunoregulatorio Th2
	IL-13	JAK1/2, TYK2		

La presencia de STAT en los distintos tipos de receptores, permite una señalización parcialmente restringida a cada tipo de célula en respuesta a las citocinas. De esta manera, la activación de macrófagos

está regulada principalmente por citocinas que utilizan STAT1, que participan en la expresión inducible de óxido nítrico sintasa (iNOS) y en las vías de señalización de STAT3. Por otro lado, los neutrófilos requieren STAT2 que mejoran la actividad de superóxido dismutasa. Los linfocitos, a su vez, están regulados principalmente por STAT4 y STAT6 para las respuestas proinflamatorias Th1 e inmunorreguladoras Th2, respectivamente. Las proteínas STAT4 también son requeridas usualmente para respuestas mediadas por IL-12 de células Natural Killer y células dendríticas. Aunque las vías JAK-STAT son de gran importancia para la inmunidad innata, tienen su contraparte al participar en la hiperinflamación e inmunosupresión que siguen a la sepsis. (figura 3).

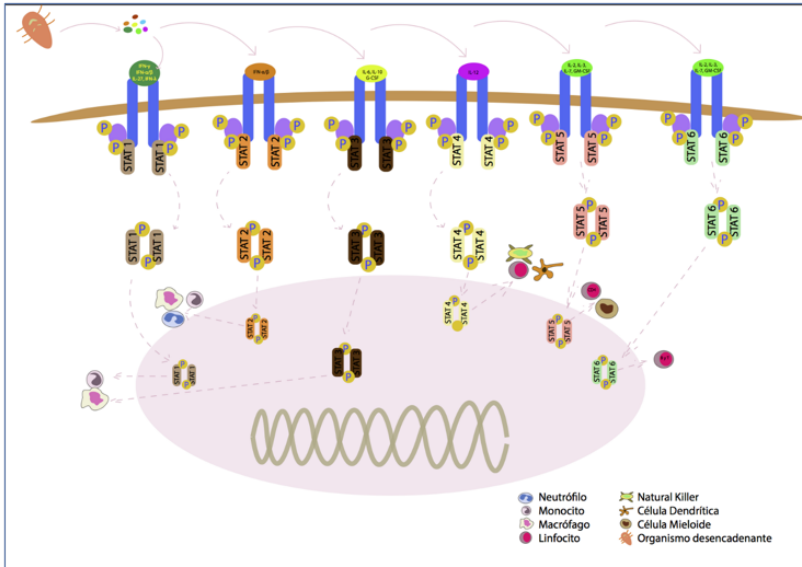


Figura 4. Papel de las vías de señalización JAK-STAT durante la sepsis. Elaborado por Santiago Lanás.

Al realizar un análisis sobre como la vía de estas proteínas inducen un proceso hiperinflamatorio y, a su vez, tiende a incrementar la mortalidad en los pacientes sépticos, podemos ver que son estas mismas vías de señalización JAK/STAT las que inducen la producción de moléculas proinflamatorias que requieren especialmente STAT1, STAT4, TYK2 y JAK2, así como en la mielopoyesis de emergencia, la cual no es otra cosa, que la producción rápida y masiva de células inmunitarias, necesaria para la lucha contra los patógenos bacterianos, siendo un proceso fundamental que acompaña a la respuesta inmune durante la sepsis. STAT3 es fosforilado por JAK1/2 y TYK2 durante la mielopoyesis de emergencia y juega un papel importante en este proceso, debido a que la proteína STAT 3 fosforilada regula de forma ascendente la transcripción de los genes que codifican MIP-2 (CXCL2) y su receptor (receptor de quimiocina del C-X-C, CXCR2).

Como es bien conocido, el estado hiperinflamatorio resultante mediado por JAK-STAT durante el choque séptico, contribuye a la mortalidad por daño tisular y síndrome de fallo multiorgánico, lo que obliga al huésped a generar mecanismos de compensación antiinflamatorios. Este estado, conocido como CARS, involucra predominantemente a STAT3 y STAT6, recalcando que es este el mecanismo de regulación que inicia desde el comienzo del choque séptico debido a la necesidad de proteger las células y a los tejidos de una respuesta inmune inflamatoria excesiva durante la enfermedad.

Ahora bien, existen varios receptores de citocinas antiinflamatorias como la IL-10 que regula negativamente los genes proinflamatorios inducidos por IFN suprimiendo la fosforilación de STAT1 e iniciando la respuesta antiinflamatoria Th2 mediada por STAT3 que, en su estado activo, limita la producción de TNF e IL-6.

Los STAT activados inducen la transcripción de genes SOCS, que forman parte de un mecanismo de control, de esa manera, las proteínas SOCS se dirigen a STAT o JAK facilitando su degradación mediada por ubiquitina, previniendo su fosforilación y, por ende, el ingreso al núcleo para producir el estado hiperinflamatorio. Así, el SOCS3 contribuye al control de la hiperinflamación inhibiendo STAT1, STAT4 y STAT5, mientras que SOCS1 interactúa con TYK2 y STAT1. Los miembros de la familia PIAS implicados en estos circuitos de retroalimentación negativa incluyen PIAS1 y PIASx que inhiben STAT1 y STAT4, respectivamente.

Teniendo en cuenta que la sepsis se caracteriza por un cuadro de disfunción endotelial que causa una parálisis vasomotora, coagulopatía de consumo, fuga capilar y daño multiorgánico, la proteína JAK3 se expresa en células endoteliales vasculares, especialmente cuando es estimulado por LPS, TNF, IL-1 $\beta$  e IFN- $\gamma$ . A través de la fosforilación de STAT3 y la activación de NF- $\kappa$ B, la proteína JAK3 impulsa la sobreexpresión de las moléculas de adhesión endotelial y molécula de adhesión intercelular (ICAM) -1, molécula de adhesión de células vasculares (VCAM) -1 y molécula de adhesión de células

endoteliales plaquetarias (PECAM) - 1, lo que permite la unión de leucocitos y plaquetas al endotelio y su trans migración a los tejidos periféricos.

Mientras que la expresión de PECAM-1 mediada por STAT3 mantiene la integridad endotelial, la ICAM1 promueve la trans migración de leucocitos mediada por STAT3 y aumenta la permeabilidad microvascular general, que es el inicio de la fuga capilar inducida por sepsis. En contraposición, STAT2 controla la salida celular excesiva mediada por ICAM-1, lo cual pudiera contribuir a una mayor letalidad por un mecanismo centrado en la disfunción endotelial incrementada, en conjunto con la sobreexpresión de ICAM-1 y la trans migración celular que conlleva a ello.

La respuesta proinflamatoria STAT1 y STAT2 (Th1) está mediada por el factor génico estimulado por interferón 3 (ISGF-3), que es un complejo de factor de transcripción heterotrimérico que asocia STAT1, STAT2 y el factor regulador de interferón 9 (IRF-9). STAT4 a su vez, ejerce efectos patógenos al promover las respuestas inmunitarias Th1 involucradas en fallas renales y hepáticas agudas e inflamación pulmonar que conduce inclusive a desarrollar el típico síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA).

Por otra parte, STAT6 media la respuesta Th2 y actúa de dos formas diferentes:

1. Restringiendo directamente la inflamación hepática

2. Comprometiendo el aclaramiento bacteriano mediado por Th1 y exacerbando la lesión renal aguda y la inflamación pulmonar.

La vía JAK3/STAT3 también se asocia con insuficiencia miocárdica directa e indirectamente al promover la disfunción endotelial, la cual estará mediada por STAT3 con importante fuga capilar, vasoplejía y coagulopatía intravascular diseminada (CID), lo que, a su vez, exagera la hipoxia tisular observada en el choque séptico, considerando que este tipo de lesiones tisulares son responsables de la generación de DAMP, que son los que van a reforzar la respuesta proinflamatoria.

En un análisis global sobre el mecanismo fisiopatológico de la sepsis, todo empieza con el ingreso del microorganismo y sus demás componentes, los cuales van a desatar en el individuo cuatro respuestas principales: (figura 5).

La primera, aunque no es de forma cíclica ni en orden jerárquico, tiene que ver con la activación del factor VII o también llamado factor hageman, lo cual va a activar la vía intrínseca de coagulación, con un consecuente estado procoagulante donde se generará aumento del factor tisular, trombina, exposición del factor Von Willebrand, TAFI o factor inhibidor de la fibrinólisis con disminución de sus contrapartes, fundamentalmente TFPI, trombomodulina y proteína C, estableciendo un estado procoagulante.

Otro mecanismo, es mediante la activación del complemento, con sus tres principales vías: la vía alterna, en la cual interviene directamente

el microorganismo; la vía clásica a través de anticuerpos; la vía de las lectinas mediante la lectina ligadora de manosas.

Un tercer mecanismo se da mediante la activación y daño endotelial y, finalmente, un cuarto mecanismo es por medio de la activación directa de leucocitos, estos dos últimos, mediados por la producción inicial de ICAM-1, VCAM-1, PECAM-1, que es fundamentalmente donde influirá la vía JAK-STAT.

A su vez, el complemento también va a permitir la activación y lesión endotelial que, de igual manera, conlleva un estado procoagulante con mayor liberación del factor Von Willebrand asociado a otras dos grandes respuestas. Una de ellas es un estado antifibrinolítico, con incremento de PAI-1 y, a la par, se genera la liberación de IL-6, IL-8, óxido nítrico y factor activador de plaquetas (PAF), prostaglandinas y especies reactivas de oxígeno (ERO) que, a su vez, permitan que la proteína JAK-1 y JAK-2, generen fosforilación de STAT3, teniendo como desenlace la liberación de monocitos y macrófagos MDSC con 3 tipos de respuesta fundamentalmente proinflamatoria, secundario a Th17, mediado por IL-6, Inmunoregulatoria Th2, debido a IL-10 y Granulopoiesis de emergencia.

Ya en el estado procoagulante, asociado a un cuadro antifibrinolítico, se va a desencadenar lo que conocemos como CID, o coagulación intravascular diseminada. Este estado de CID, generará consumo de plaquetas, consumo de factores de coagulación, desencadenando un estado de hemorragia e isquemia tisular.



A su vez, la activación de los leucocitos, inicialmente en una fase temprana, van a liberar IL-1, TNF y en estados más avanzados y conforme va progresando la enfermedad, liberará interferón gamma, IL-12, IL-23 y, en una fase tardía, HMGB-1 conocida como proteína de alta movilidad. Mediante la proteína JAK2 y TYK-2, fosforilarán a STAT4, con la consecuente liberación de linfocitos, células NK y células dendríticas, con una respuesta de tipo Th1 proinflamatoria, generando la liberación de interleuquinas reguladoras como la IL-10.

Estas interleuquinas también, desencadenan un estado de vasodilatación, con aumento de permeabilidad, generando clínicamente edema, disminución de la perfusión y con ello menor flujo sanguíneo, hipotensión arterial e hipoxemia, con redistribución de flujo, disminuyendo sobre todo en áreas no vitales para distribuirlo a órganos blancos.

Dentro de los efectos sistémicos tenemos principalmente la alteración de la frecuencia cardíaca, que inicialmente responde con un aumento y progresivamente va a ir disminuyendo, se asocia en una fase temprana episodios de fiebre, estado de caquexia, aumento de reactantes de fase aguda, liberación de glucocorticoides y catecolaminas, resistencia a insulina y por ende hiperglicemia asociado a una alteración de la GLUT-4. Estos efectos sistémicos, en conjunto con las interleuquinas reguladoras, llevarán al individuo a un estado de inmunosupresión. Esta alteración afecta a múltiples órganos, apareciendo compromiso pulmonar con el concomitante síndrome de distrés respiratorio,

alteración del medio interno e hiperlactatemia tipo A que, inclusive, compromete la funcionalidad renal por hipoflujo sanguíneo en una fase tardía.

Conforme exista mayor progresión de la enfermedad, esta situación conducirá a un estado de insuficiencia multiorgánica, por lo tanto, si no existe una adecuada intervención, llevará al individuo hacia la muerte.

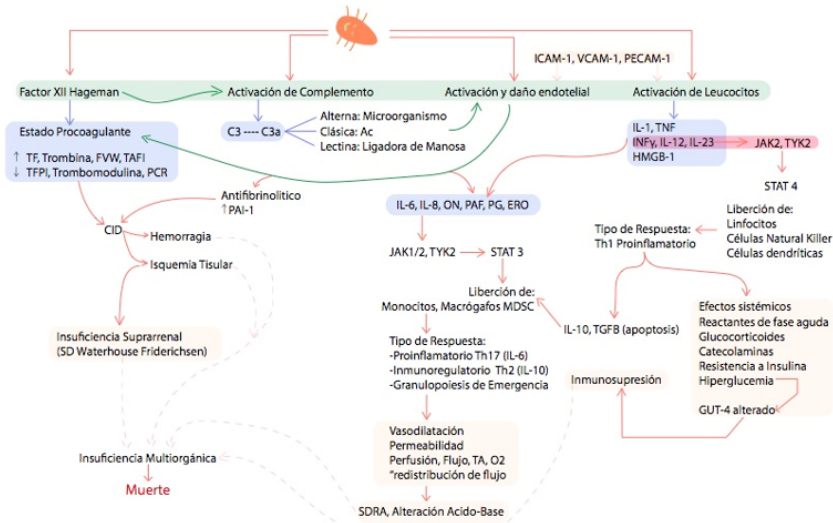


Figura 5. Asociación SEPSIS-JAK/STAT. Elaborado por Santiago Lanás.

### *Enfoque traslacional y posibles estrategias terapéuticas dirigidas a la vía jak/stat en sepsis*

La evidencia actual sugiere que la proteína STAT2 y STAT3 controlan la expresión de moléculas de adhesión endotelial, iniciando su disfunción durante la sepsis progresando en fases tardías hacia la vasoplejia, coagulopatía y fallo multiorgánico.

Estudios recientes sobre el desarrollo de mielopoyesis emergente, un proceso fundamental que acompaña a la respuesta inmune durante la sepsis, demuestra que la proteína STAT3 controla la expresión de los genes C/EBP $\beta$  y Fanconi C (FANCC), los cuales son factores importantes en el proceso de inmunoparálisis; por lo tanto, la inhibición de la vía de señalización JAK/STAT podría reducir el fallo multiorgánico y la inmunosupresión. Todo esto, debido a las recientes y exitosas terapias realizadas en pacientes oncológicos y hematológicos, brindando nuevas oportunidades para tratar a los pacientes con sepsis, sin embargo, muchas de estas estrategias terapéuticas aún están en fase de experimentación.

Como se analizó previamente, la sepsis es una enfermedad progresiva que involucra muchos tejidos y tipos de células, iniciada por una respuesta hiperinflamatoria seguida por el agotamiento de células inmunes. Ambas son responsables de la tasa de mortalidad elevada por esta condición.

Es importante destacar que la característica común entre otros tipos de células y sus disfunciones inmunitarias es su requerimiento de la vía JAK/STAT. Esto nos ha llevado a considerar el interés potencial de los inhibidores de JAK para modular la sepsis utilizando terapias orientadas al tiempo y a los órganos.

Los inhibidores de JAK, también llamados ‘jakinibs’, son una nueva clase de fármacos que han establecido su mayor utilidad en los últimos

años. Estas moléculas inhiben una o más proteínas JAK, evitando así la fosforilación y activación de las proteínas STAT correspondientes. Entre ellos, los más estudiados en la actualidad son el ruxolitinib, tofacitinib y baricitinib. El ruxolitinib, que fue el primer inhibidor no selectivo de JAK1 Y JAK2 aprobado, se desarrolló para el tratamiento de las neoplasias mieloproliferativas. Además, en estudio en ratones se observó que el Ruxolitinib podría mejorar el pronóstico de la sepsis por *Candida*. Los resultados obtenidos con este fármaco demostraron que al administrar una dosis de 6.25 mg/kg/día un día después del inicio de la infección mejora la supervivencia, por lo cual, la hiperinflamación se autoregula sin aumentar la carga de patógenos.

Diferentes estudios experimentales han demostrado la eficacia de los inhibidores de JAK2 y confirman que el mejor momento de su administración es 24 horas después del inicio de la sepsis al disminuir la expresión de mediadores proinflamatorios como TNF, IL-6 y HMGB-1.

Durante la fase aguda de la sepsis (fase hiperinflamatoria), utilizar los inhibidores de JAK/STAT puede resultar complicado. Aunque el ruxolitinib es capaz de mejorar la supervivencia durante la sepsis por *Candida* en ratones, se observó un riesgo de infección del 2.6% en seres humanos. Como se mencionó anteriormente, las dosis de ruxolitinib y el momento de administración influyen en gran medida en el estado inmunitario, la eliminación del patógeno y el riesgo de supervivencia. Además, se describe un síndrome de abstinencia cuando los pacientes

interrumpen el tratamiento con ruxolitinib, el cual puede provocar una tormenta de citocinas perjudicando el pronóstico en la sepsis. Es por esto que, la administración sistémica de estos fármacos, es un arma de doble filo, en la que el tiempo real de inicio de la infección puede ser desconocido con mayor variabilidad del patógeno ofensor, de su carga inicial y de la respuesta inmune. Tales efectos inmunosupresores hacen que su administración sistémica sea riesgosa, lo que nos lleva a sugerir estrategias alternativas.

Estas estrategias se basan en una encapsulación de nanopartículas de moléculas terapéuticas. Es técnicamente posible y se han desarrollado varias opciones. Las nanopartículas tienen un ligando que permite dirigirse a células o tejidos específicos que van desde un órgano determinado hasta subtipos de células inmunitarias como macrófagos, células B o células T. Su objetivo principal es alcanzar un tejido altamente implicado en la fisiopatología del choque séptico, como el endotelio vascular en donde existe disfunción de las proteínas JAK3 Y STAT3 con repercusiones en el tejido miocárdico. Esta acción permite integrar un anti-STAT3 o anti-JAK3 (decernotinib) para reducir la disfunción endotelial. Además, otro objetivo sería alcanzar un tipo de célula inmunitaria específica involucrada en la hiperinflamación como los macrófagos.

No menos importante, el impacto de la pandemia por la COVID-19 en el sistema de salud ha sido devastador en muchos países y existe una necesidad clínica insatisfecha de tratamientos o intervenciones

terapéuticas eficaces. Con base en lo anterior, se están desarrollando más de 10 ensayos clínicos randomizados incluyendo el uso de ruxolitinib para tratar diferentes estadios de la infección por SARS-CoV-2, los cuales prometen resultados alentadores teniendo en cuenta el perfil de seguridad del fármaco y su beneficio sobre la interleuquina 6 además de citocinas proinflamatorias y antiinflamatorias que inducen una modulación inmunitaria global. La corta vida media del fármaco (4-6h) ofrece una ventaja significativa sobre cualquier anti-IL6, ya que cualquier posible daño debido a la inmunosupresión debería revertirse fácilmente después de la interrupción del fármaco. Melatiadis et al propusieron que el fármaco ruxolitinib tendría un efecto benéfico en pacientes con diagnóstico de COVID-19, bloqueando la IL-6 entre otras citocinas inflamatorias, generando una respuesta inmunomoduladora que regule los genes controlados por interferón. Sin embargo, existen algunos inconvenientes teóricos que pueden tener importantes implicaciones clínicas. El proceso de señalización JAK/STAT regula positivamente los genes controlados por interferón, una vía que con frecuencia es inhibida por productos virales, lo que da como resultado un aumento de virulencia. Por lo tanto, dicha inhibición podría facilitar la replicación viral, así como la reactivación del SARS-CoV-2 (si esto se confirma) u otros virus latentes como los virus del herpes simple o del herpes zóster.

Finalmente, al entender la urgente necesidad de esquemas terapéuticos para las manifestaciones clínicas de la sepsis, consideramos que la

administración de agentes inmunosupresores debería implementarse solo en el contexto de ensayos clínicos aleatorizados controlados que establezcan el momento y la dosis adecuada de su administración indicando sus potenciales efectos adversos previa a su comercialización.

## CONCLUSIONES

La vía de señalización JAK/STAT es la principal ruta que controla la producción de citocinas en la sepsis, afectando las respuestas antiinflamatorias y proinflamatorias que desencadenan finalmente en fallo multiorgánico. Esta ruta se ha relacionado con la liberación de múltiples citocinas y mediadores inflamatorios como IL-6, IL-10, iNOS, HMGB1, entre otros, los cuales participan ampliamente en la respuesta inmune durante la sepsis. Al mismo tiempo, la vía JAK/STAT está involucrada en el choque de endotoxinas, daño orgánico y permeabilidad vascular del músculo miocárdico.

Por lo tanto, sugerimos que la vía JAK/STAT puede guiar hacia un excelente objetivo terapéutico en la sepsis. Futuras investigaciones deben ser realizadas para establecer potenciales efectos inhibidores en esta vía.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- William Rojas. (2007). *Inmunología de Rojas*. Colombia: Corporación para Investigación Biológica.
- Banerjee, S., Biehl, A., Gadina, M. et al. JAK–STAT Signaling as a Target for Inflammatory and Autoimmune Diseases: Current and Future Prospects. *Drugs* 77, 521–546 (2017). <https://doi.org/10.1007/s40265-017-0701-9>
- Serra López-Matencio JM, et al. Inhibidores de la vía de señalización JAK-STAT en el tratamiento de las enfermedades inmunomediadas. *Med Clin (Barc)*. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2018.10.020>
- Krolewski JJ, Lee R, Eddy R, Shows TB, Dalla-Favera R. 1990. Identification and chromosomal mapping of new human tyrosine kinase genes. *Oncogene* 5:277– 82
- Cai B, Cai JP, Luo YL, Chen C, Zhang S. The Specific Roles of JAK/STAT Signaling Pathway in Sepsis. *Inflammation*. 2015 Aug;38(4):1599-608. doi: 10.1007/s10753-015-0135-z. PMID: 25676437.
- Wilks AF, Harpur AG, Kurban RR, Ralph SJ, Zurcher G, Ziemiecki A. 1991. Two novel protein-tyrosine kinases, each with a second phosphotransferase-related catalytic domain, define a new class of protein kinase. *Mol. Cell. Biol.* 11:2057– 65
- HarpurAG, AndresAC, Ziemiecki A, Aston RR, Wilks AF. 1992. JAK2, a third member of the JAK family of protein tyrosine kinases. *Oncogene* 7:1347–53

- Fu XY. 1992. A transcription factor with SH2 and SH3 domains is directly activated by an interferon alpha-induced cytoplasmic protein tyrosine kinase(s). *Cell* 70:323–35
- Liongue C, Ward AC. Evolution of the JAK–STAT pathway. *JAK–STAT*. 2013;2(1):e22756. doi:10.4161/jkst.22756.
- Kile BT, Schulman BA, Alexander WS, Nicola NA, Martin HM, Hilton DJ. The SOCS box: a tale of destruction and degradation. *Trends Biochem Sci* 2002; 27:235-41; PMID:12076535; [http://dx.doi.org/10.1016/S0968-0004\(02\)02085-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0968-0004(02)02085-6)
- Horvath CM. STAT proteins and transcriptional responses to extracellular signals. *Trends Biochem Sci* 2000; 25:496-502; PMID:11050435; [http://dx.doi.org/10.1016/S09680004\(00\)01624-8](http://dx.doi.org/10.1016/S09680004(00)01624-8)
- Valle Mendiola, A., & Soto Cruz, I. (2013). VÍA JAK-STAT: UNA VISIÓN GENERAL. *Vertientes. Revista Especializada en Ciencias de la Salud*, 8(1–2). Recuperado de <http://www.revistas.unam.mx/index.php/vertientes/article/view/32945>
- Sehgal PB. STAT-signalling through the cytoplasmic compartment. Consideration of a new paradigm. *Cellular signaling* 2000 12: 525-535.
- Rawlings, J.S., K.M. Rosler, and D.A. Harrison. 2004. The JAK/STAT signaling pathway. *Journal of Cell Science* 117(Pt 8): 1281–1283. doi:10.1242/jcs.00963.
- Yoshimura, A., H. Nishinakamura, Y. Matsumura, and T. Hanada.

2005. Negative regulation of cytokine signaling and immune responses by SOCS proteins. *Arthritis Research & Therapy* 7(3): 100– 110. doi:10.1186/ar1741.
- Liongue, C., and A.C. Ward. 2013. Evolution of the JAK-STAT pathway. *Jak-Stat* 2(1): e22756. doi:10.4161/jkst.22756.
  - Clark JD, Flanagan ME, Telliez JB. Discovery and development of Janus kinase (JAK) inhibitors for inflammatory diseases. *J Med Chem*. 2014;57(12):5023–38. doi:10.1021/jm401490p.
  - Basquiera AL, Soria NW, Ryser R, et al. Clinical significance of V617F mutation of the JAK2 gene in patients with chronic myeloproliferative disorders. *Hematology*. 2009;14(6):323–30. doi:10.1179/102453309X12473408860226.
  - Levine RL. JAK-mutant myeloproliferative neoplasms. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2012; 355:119–33. doi:10.1007/82\_2011\_170.
  - Sohn SJ, Barrett K, Van Abbema A, et al. A restricted role for TYK2 catalytic activity in human cytokine responses revealed by novel TYK2-selective inhibitors. *J Immunol*. 2013;191(5):2205–16. doi:10.4049/jimmunol.1202859.
  - Clark JD, Flanagan ME, Telliez JB. Discovery and development of Janus kinase (JAK) inhibitors for inflammatory diseases. *J Med Chem*. 2014;57(12):5023–38. doi:10.1021/jm401490p.
  - O’Shea JJ, Schwartz DM, Villarino AV, et al. The JAK–STAT pathway: impact on human disease and therapeutic

- intervention. *Ann Rev Med.* 2015; 66:311–28. doi:10.1146/annurev-med-051113-024537.
- Hambleton S, Goodbourn S, Young DF, et al. STAT2 deficiency and susceptibility to viral illness in humans. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013;110(8):3053–8. doi:10.1073/pnas.1220098110.
  - Flanagan SE, Haapaniemi E, Russell MA, et al. Activating germline mutations in STAT3 cause early-onset multi-organ autoimmune disease. *Nat Gen.* 2014;46(8):812–4. doi:10.1038/ng.3040.
  - Serra López-Matencio JM, et al. Inhibidores de la vía de señalización JAK-STAT en el tratamiento de las enfermedades inmunomediadas. *Med Clin (Barc).* 2018. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2018.10.020>
  - Clark JD, Flanagan ME, Telliez JB. Discovery and development of Janus kinase (JAK) inhibitors for inflammatory diseases. *J Med Chem.* 2014; 57:5023–38.
  - Papp KA, Krueger JG, Feldman SR, Langley RG, Thaci D, Torii H, et al. Tofacitinib, an oral Janus kinase inhibitor, for the treatment of chronic plaque psoriasis: Long-term efficacy and safety results from 2 randomized phase-iii studies and 1 open-label long-term extension study. *J Am Acad Dermatol.* 2016; 74:841–50.
  - Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020; 395:497e506.

- Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med* 2020; 382:727e33.
- Meletiadiis, J., Tsiodras, S. & Tsirigotis, P. Interleukin-6 Blocking vs. JAK-STAT Inhibition for Prevention of Lung Injury in Patients with COVID-19. *Infect Dis Ther* 9, 707–713 (2020). <https://doi.org/10.1007/s40121-020-00326-1>
- Raphaël Clere-Jehl,<sup>1,2</sup> Alexandre Mariotte,<sup>2</sup> Ferhat Meziani,<sup>1</sup> Seiamak Bahram,<sup>2</sup> Philippe Georgel,<sup>2</sup> and Julie Helms. JAK–STAT Targeting Offers Novel Therapeutic Opportunities in Sepsis. *Trends in Molecular Medicine*, Month 2020, Vol. xx, No. xx. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2020.06.007>
- Alison J. Carey, Chee K. Tan and Glen C. Ulett. Infection-induced IL-10 and JAK-STAT, A review of the molecular circuitry controlling immune hyperactivity in response to pathogenic microbes. *Landes Bioscience. JAK-STAT* 1:3, 159–167; July/August/September 2012. <http://dx.doi.org/10.4161/jkst.19918>
- Villarino, A. V. et al. Mechanisms and consequences of Jak-STAT signaling in the immune system. *Nat. Immunol.* 18, 374–384. 2017. 17; doi:10.1038/ni.3691
- Rhodes, A. et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock: *Crit. Care Med.* 45, 486–552. 2016.
- Ben A. Croker, Hiu Kiu, and Sandra E. Nicholson. SOCS Regulation of the JAK/STAT Signalling Pathway. *Semin*

Cell Dev Biol. 2008 August; 19(4): 414–422. doi: 10.1016/j.semcdb.2008.07.010

- Can Ince et al. The Endothelium in Sepsis. Shock. 2016 March ; 45(3): 259–270. doi:10.1097/SHK.0000000000000473
- V. Tomicic Flores, Y J. Guerrero Peralta. Endotelio y sepsis. Med Intensiva.2005;29(3):142-50. DOI: 10.1016/S0210-5691(05)74221-2
- Maya Cancino et al. Disseminated intravascular coagulation in the patient with sepsis. Revista Médica Sinergia. Vol. 5 Num. 7. Julio 2020, e388. <https://doi.org/10.31434/rms.v5i7.388>.
- Martín-Ramírez et al. Sepsis. Med Int Méx 2014;30:159-175. <https://www.medigraphic.com/pdfs/medintmex/mim-2014/mim142g.pdf>
- Tapia-Jurado et al. Molecular bases of sepsis. Rev Med Hosp Gen Méx 2013;76(2):93-103. <https://www.elsevier.es/en-revista-revista-medica-del-hospital-general-325-articulo-bases-moleculares-sepsis-X0185106313082913>.



# **MICROBIOTA Y SEPSIS**

---

## **Capítulo 7**

Pablo Andrés Vélez. MD.

Fernanda Elizabeth López. MD.

# MICROBIOTA Y SEPSIS

## RESUMEN

La sepsis es la respuesta desregulada del organismo a la infección, se caracteriza por un daño a los órganos muchas veces irreversible y mortal. El microbioma intestinal regula una serie de mecanismos homeostáticos en el huésped como la función inmunológica y la protección de la barrera intestinal, la pérdida de la estructura y función microbiana intestinal normal, se ha asociado con el inicio de enfermedades de características diversas. La evidencia reciente ha demostrado un nexo entre el microbioma intestinal y la sepsis, la alteración del microbioma intestinal se caracteriza por aumentar la susceptibilidad a la sepsis a través de mecanismos varios como la expansión de bacterias intestinales patógenas, respuesta proinflamatoria marcada y disminución de la producción de productos microbianos beneficiosos como los ácidos grasos de cadena corta.

Una vez establecida la sepsis, la alteración del microbioma intestinal empeora y aumenta la susceptibilidad a la disfunción del órgano terminal. Hay pruebas limitadas de que las terapias basadas en microbiomas, esto incluye a probióticos y a la descontaminación digestiva selectiva, pueden disminuir el riesgo de sepsis y mejorar sus resultados en poblaciones de pacientes seleccionadas, pero las preocupaciones sobre la seguridad, generan una aceptación limitada. Si bien gran parte de la evidencia que vincula el microbioma intestinal y la sepsis se ha establecido en estudios preclínicos, falta evidencia clínica en muchas áreas.



**Palabras clave:** sepsis, microbioma intestinal, probióticos, trasplante de microbiota fecal

## **ABSTRACT**

Sepsis is the unregulated response of the body to infection, it is characterized by damage to the organs that is often irreversible and fatal. The intestinal microbiome regulates a series of homeostatic mechanisms in the host, such as immune function and the protection of the intestinal barrier, the loss of normal intestinal microbial structure and function, and has been associated with the onset of diseases of diverse characteristics. Recent evidence has shown a link between the intestinal microbiome and sepsis, the alteration of the intestinal microbiome is characterized by increasing susceptibility to sepsis through various mechanisms such as the expansion of pathogenic intestinal bacteria, marked pro-inflammatory response and decreased production beneficial microbial products such as short chain fatty acids.

Once sepsis is established, the alteration of the gut microbiome worsens and the susceptibility to end-organ dysfunction increases. There is limited evidence that microbiome based therapies, this includes probiotics and selective digestive decontamination, can decrease the risk of sepsis and improve its outcomes in selected patient populations, but safety concerns generate limited acceptance. While much of the evidence linking the gut microbiome and sepsis has been established in preclinical studies, clinical evidence is lacking in many areas.

**Keywords:** sepsis, gut microbiome, probiotics, fecal microbiota transplantation

## **INTRODUCCIÓN:**

La sepsis es la respuesta desregulada del organismo a la infección, se caracteriza por un daño a los órganos muchas veces irreversible, lo que le convierte en una entidad potencialmente mortal. En EE.UU. la sepsis afecta aproximadamente a 1.7 millones de personas, con mortalidad hasta del 50%. Pese a los avances en su diagnóstico y manejo, aún no se dispone de un tratamiento claro, sin embargo, se ha demostrado que el uso racional y dirigido de antibióticos más medidas de soporte de fallos orgánicos, es esencialmente clave en su pronóstico.

En la actualidad, se ha marcado el importante papel del tracto gastrointestinal en la fisiopatología de la sepsis al ser un promotor del fallo multiorgánico mediante procesos de permeabilidad intestinal aumentada, esto conlleva a eventos de translocación bacteriana a sitios estériles que exacerbaban la respuesta inflamatoria y por ende el mal pronóstico.

En condiciones fisiológicas, existe una simbiosis muy interesante entre el microambiente intestinal con su diversidad de bacterias y el huésped, con beneficios claros para ambas partes siempre y cuando se conserve la integridad de la pared intestinal, con lo cual, permanecen reguladas las respuestas inflamatorias y antiinflamatorias, sin embargo, cuando se colapsa este equilibrio en la sepsis, predomina la respuesta inflamatoria desregulada con el posterior fallo orgánico, de esta manera,

el intestino desempeña un papel importante en la mediación de la sepsis intraabdominal y también basa su protagonismo en la propagación de la sepsis extra abdominal. Cabe mencionar que, las intervenciones terapéuticas habituales durante la sepsis, como el uso de antibióticos, inhibidores de la bomba de protones y la nutrición parenteral, son potencialmente factores que alteran la composición microbiana y el entorno gastrointestinal mediante procesos aun no bien dilucidados. Esta revisión tiene como objetivo, comprender la compleja función del microbioma intestinal en la sepsis y su importancia en el desarrollo, tratamiento y pronóstico de esta entidad.

### ***Microbioma***

El término microbioma se refiere a todos los microbios que viven dentro del huésped, incluida la luz intestinal que contiene el microbioma intestinal, una población de aproximadamente 40 billones de células bacterianas. Históricamente, se pensaba que el huésped y las bacterias comensales pese a que comparten el mismo escenario geográfico, tenían comportamientos individuales sin conexión de ningún tipo entre ellos, sin embargo, a medida que crece la comprensión del microbioma, se ha hecho evidente la simbiosis existente y las perturbaciones que en esta relación desempeñan un papel muy importante en la fisiopatología de algunas enfermedades agudas y crónicas.

La microbiota humana contiene más de 1,000 especies diferentes que residen dentro de la luz intestinal. La diversidad dentro de esto es muy interesante, con el microbioma que contiene más de dos millones de

genes microbianos. El primer contacto entre el huésped humano y el microbioma ocurre a la salida del recién nacido por el canal de parto y, como tal, los microbios vaginales son la fuente original de las bacterias comensales que finalmente compondrán el microbioma.

Aun no se comprende completamente, pero se conoce que las primeras interacciones entre los microbios y el sistema inmunológico del recién nacido inician el desarrollo de una relación simbiótica que permite que ocurra la aceptación de los microorganismos comensales. La inmunoglobulina A (IgA) presente en la leche materna, limita la activación inmune en respuesta a antígenos extraños y oligosacáridos y permite la expansión de ciertas poblaciones de bacterias beneficiosas. Se cree que la interrupción de este proceso está asociada con el desarrollo de enfermedades que marcan una disfunción de la barrera epitelial, como el asma. La composición del microbioma en la primera infancia, se ve alterada por una variedad de factores que incluyen a la composición de la leche materna, la introducción de alimentos sólidos y la exposición temprana a antibióticos; sin embargo, entre los 2 y 3 años de edad, la composición del microbioma se vuelve estable.

Hay cuatro filos dominantes que comprenden todo el microbioma humano, pero la mayoría de las bacterias intestinales se encuentran dentro de dos: Firmicutes y Bacteroidetes. De acuerdo a la edad, estos dos filos están sujetos a importantes alteraciones. En los ancianos se encuentra un aumento de Firmicutes en comparación con Bacteroidetes, se cree que probablemente sea secundario a la dieta y a

otros factores ambientales. Un aumento en la proporción de Firmicutes a Bacteroidetes también se ha asociado con el desarrollo de síndromes metabólicos, incluida la diabetes tipo 2 y la obesidad.

### ***Capa de moco intestinal***

El moco intestinal es de vital importancia para la defensa contra bacterias, la acción de enzimas digestivas y otras sustancias tóxicas que pueden dañar el epitelio intestinal. Su acción está basada en sus propiedades hidrófobas que derivan de glicoproteínas cargadas negativamente y que son liberadas por células epiteliales de tipo caliciformes que repelen a toxinas cargadas positivamente, manteniendo de esta forma la integridad del epitelio. Originalmente se trató a la capa de moco intestinal como una estructura estática, concepto que ha sido abandonado en la actualidad, ahora se sabe que es una estructura de funcionamiento dinámico y que puede ser alterada por variedad de factores.

El desarrollo y las propiedades de la capa de moco epitelial difieren mucho de acuerdo a su ubicación dentro del tracto gastrointestinal. La capa mucosa del intestino delgado está compuesta solo por una capa semipermeable, lo que permite el paso de algunos péptidos antibacterianos. La eliminación de moléculas más grandes y potencialmente patógenas, se produce a través del desprendimiento de moco, que luego se excreta en la materia fecal. Por el contrario, en el colon, el moco consta de dos capas distintas, la externa de similares características con la del intestino delgado y la interna

que es completamente impermeable a las bacterias luminales. Se ha evidenciado en ratones genéticamente alterados que carecen del gen *Muc2*, un gen que regula la producción de glicoproteínas de mucina, estos no poseen esta capa interna libre de bacterias y están propensos a desarrollar inflamación intestinal espontánea, lo que demuestra cuán importante es el moco en la regulación de la homeostasis intestinal.

### ***Inmunidad intestinal***

- Microbioma y su relación con el sistema inmunológico intestinal.

El sistema inmunológico intestinal es de vital importancia dentro de la última línea de defensa del organismo frente a la invasión de patógenos entéricos. La interacción entre el microbiota y el sistema inmunológico encierra un conjunto de reacciones y mecanismos de naturaleza muy compleja, pero vital, para lograr una inmunidad adecuada del huésped, cuando se altera este fino equilibrio, ocurren una serie de acontecimientos que conllevan a posibles eventos de índole patológico como translocación bacteriana e infección intestinal, que pueden desencadenar en resultados nefastos para el huésped.

- Microbiota intestinal e inmunidad innata.

La inmunidad innata es de vital importancia dentro del sistema inmunitario intestinal, su función radica en la capacidad de mantener un equilibrio entre la tolerancia a microorganismos comensales y la protección ante patógenos oportunistas, además, tiene la capacidad de restringir la proliferación excesiva de patobiontes regulando su crecimiento. (16)

El aparato celular inmune innato, conformado por macrófagos, células dendríticas, neutrófilos, entre otras, responde de manera inmediata mediante el reconocimiento y fagocitosis de los patógenos invasores que han superado la barrera mucosa y epitelial, previniendo de esta forma el proceso de migración bacteriana a la luz intestinal y órganos distantes.

Los productos derivados de la translocación bacteriana, activa la respuesta inmune por células innatas, mediante vías de reconocimiento de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP), lo que desencadena una respuesta inflamatoria sistémica marcada con la presencia excesiva de neutrófilos activados en el intestino, que desencadenan mayor daño de la mucosa, a esto se añade, la desregulación del microambiente entérico por el tratamiento médico usual con crecimiento importante de patógenos oportunistas y una pérdida marcada de bacterias comensales, reacciones que se tornan más evidentes y potenciadas en el enfermo crítico. La disbiosis de la microbiota, marca la gravedad de la disfunción inmunitaria de la mucosa y por ende de la translocación bacteriana expresada en reacciones que culminarán en infección intestinal y sepsis.

No solo las células inmunitarias clásicas conforman la primera línea de defensa innata intestinal, varios componentes antimicrobianos generados a partir de células de Paneth, caliciformes y enterocitos, han sido identificados como responsables de la inmunidad innata, destacamos en este conjunto celular a las defensinas, mucinas,

fosfolipasa A2 secretora, catelicidinas y lisozima, caracterizadas por su gran acción microbicida, además, ciertas moléculas, algo distintas como el butirato, promueven también la liberación de mucina, lo que aporta en el mantenimiento de la homeostasis intestinal.

La infección por *Clodtridium difficile* (CDI) y la diarrea asociada a *Clostridium difficile* (CDAD), son objeto de estudio dentro de la relación entre la microbiota intestinal y la inmunidad innata. Se conoce que, en la infección por CDI, la disbiosis y la composición diversa de la microbiota fecal, se relacionan con cuadros infecciosos graves y refractarios a la terapia antibiótica. Las alteraciones del metabolismo de los ácidos biliares, del metabolismo fermentativo y de la producción de sustancias antimicrobianas, explican el papel de la microbiota en la infección dependiente de la toxina de CDI. La inmunidad innata representada por macrófagos, células dendríticas, monocitos y mastocitos intestinales, es activada ante la presencia de toxinas de CDI, esto se lleva a cabo mediante vías de señalización y reconocimiento inmunitario que emplea sensores superficiales e intracelulares donde destacan los receptores tipo toll (TLR) en especial el TLR 4, TLR5 y el receptor tipo NOD1, el resultado de la activación de estas vías es la producción de citocinas proinflamatorias como interleucinas (IL) en especial la IL-18, IL-12, IL-1 $\beta$ , interferón gama (IFN- $\gamma$ ) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) y quimiocinas (MIP-1a, MIP-2, IL-8, leptina), que evidentemente son los responsables de los daños inflamatorios asociados con el CDI, sin dejar de mencionar a



reacciones como el aumento de la permeabilidad de la mucosa, el edema, la desgranulación de los mastocitos, la infiltración neutrofílica local intensa y la muerte de las células epiteliales que contribuyen a un daño intestinal más severo.

- Microbiota intestinal y la inmunidad adaptativa de las mucosas. Hemos visto la importante función de la inmunidad innata sobre la microbiota intestinal, sin embargo, el sistema inmunológico también ha desarrollado en el intestino una forma de defensa más especializada mediada por la inmunidad adaptativa, cuya importante función radica en la defensa cuando los patógenos han superado la primera barrera de la inmunidad innata. Una vez que los patógenos cruzan el epitelio, las células especializadas en la inmunidad adaptativa representadas en su mayoría por los linfocitos T intraepiteliales y los linfocitos de la lámina propia, son activados mediante la acción de células presentadoras de antígeno como son los macrófagos y células dendríticas, de esta forma, se produce una serie de eventos encaminados a erradicar el microorganismo estableciendo una inmunidad más duradera y de memoria, es por esto, que una pérdida de estas valiosas células de linaje T en la mucosa intestinal, derivaría en un importante déficit de protección contra la patología entérica por alteración de la integridad de la barrera intestinal, llevando al individuo a complicaciones infecciosas muy graves como la sepsis.

Un tipo de células T algo distintas pero muy importantes en su función son los linfocitos T  $\gamma\delta$ , estos son reconocidas por un receptor de

células T (TCR) algo distinto, y cuya función se basa en controlar la respuesta inmune adaptativa de una amplia gama de microorganismos patógenos mediante la secreción de citocinas después de una agresión a la mucosa intestinal. De igual forma, la ausencia de estas células T  $\gamma\delta$  intraepiteliales, puede inducir el cambio de comportamiento de tipos bacterianos intestinales no invasivos hacia tipos mucho más invasivos, que logren establecer una translocación bacteriana con paso a la circulación sistémica. En pacientes críticos con sepsis, las células T  $\gamma\delta$  en sangre periférica se reducen significativamente, lo que se traduce en un aumento significativo de la mortalidad.

Otra función importante de la microbiota intestinal tiene que ver con la modulación de la producción de IgA secretora, enfocándose principalmente contra los comensales entéricos y sus antígenos. En ausencia de IgA, las bacterias comensales intestinales pueden ingresar más fácilmente entrar en la lámina propia y en el tejido submucoso, lo que conduce a la translocación bacteriana entérica.

Cabe mencionar que, en pacientes con trasplante de intestino delgado, las complicaciones infecciosas están mediadas por el deterioro severo de la barrera intestinal y por el agotamiento de linfocitos en el epitelio intestinal, el motivo de este agotamiento puede estar inducido por el uso de anticuerpos monoclonales como el Alemtuzumab, dato a ser considerado durante el tratamiento de este tipo de pacientes.

Con lo enunciado, observamos la complejidad existente entre la relación microbiota intestinal y sistema inmunológico, hemos destacado sus funciones principales en la defensa contra microorganismos patógenos, sin embargo, aún es necesario establecer un estudio más profundo que aclare más el panorama dentro de su ardua tarea en el organismo.

### ***Alteración del microbioma intestinal en la sepsis***

- Alteración intestinal en la sepsis

La insuficiencia intestinal es un trastorno común en la unidad de cuidados intensivos, el paciente crítico por lo general desarrolla algunos síntomas intestinales relacionados al manejo global de su enfermedad, por citar algunos de ellos, tenemos a la diarrea, distensión abdominal, vómito, motilidad intestinal disminuida, ulceración por estrés con hemorragia gastrointestinal resultante e hipertensión intraabdominal, en forma conjunta, con tres o más de ellos, se establece un aumento de la mortalidad en este tipo de pacientes, de igual forma, la gravedad de la enfermedad, se puede estimar mediante biomarcadores de insuficiencia intestinal como las proteínas de unión a ácidos grasos intestinales elevadas, que expresan daño de los enterocitos y la citrulina disminuida, un marcador de la masa de los enterocitos. Durante la sepsis, se produce una pérdida del medio intestinal homeostático adaptativo, lo que conduce a una serie de perturbaciones locales, que pueden conducir rápidamente a la propagación sistémica de la enfermedad.

- Permeabilidad intestinal en la sepsis.

Un trastorno muy importante dentro de la fisiopatología de la sepsis es la disfunción significativa en la barrera intestinal con hiperpermeabilidad resultante para contenidos lumbinales como microbios y sus productos microbianos que son capaces de causar lesiones locales y distantes. En estudios preclínicos, se ha observado que las alteraciones en las uniones estrechas ocurren de manera temprana y la hiperpermeabilidad intestinal persiste durante al menos 48 horas desde el inicio de la sepsis. El moco también ejerce un papel crucial en la defensa del huésped, evita que las bacterias y las enzimas digestivas entren en contacto directo con el epitelio intestinal, en la enfermedad crítica, esta capa de moco se afecta, induciendo una disfunción de las células epiteliales. Es muy común en el paciente crítico, encontrar una reperusión intestinal reducida que puede disminuir la hidrofobicidad de la capa mucosa y alterar la permeabilidad intestinal.

En el paciente séptico, los defectos epiteliales como el deterioro de la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) como el butirato, afecta en gran medida a la barrera epitelial debido a la apoptosis epitelial, lo que resulta en una mala absorción de nutrientes y sobre todo a translocación de patógenos. Sin embargo, se ha descrito en ratones con enfermedad de injerto contra huésped, que cuando se ingieren cepas bacterianas que producen grandes cantidades de AGCC, disminuye la gravedad de la enfermedad, hecho explicado por las altas concentraciones intestinales de butirato que mejoran las

uniones intercelulares, disminuyendo la apoptosis celular.

- Disbiosis

La composición del microbioma se altera drásticamente en la sepsis como resultado del aumento de la permeabilidad y la apoptosis. Tres factores determinan el contenido microbiano en el intestino: la introducción de especies bacterianas a través de la orofaringe, la eliminación de microbios a través de la materia fecal y la regulación y proliferación de especies bacterianas dentro del tracto gastrointestinal, momentos de estrés, uso de antibióticos e inhibidores de la bomba de protones, inevitablemente cambian la composición del microbioma, con posterior destrucción o alteración de las bacterias comensales.

La transición en la que el microbioma se convierte en patobioma se denomina disbiosis, donde ocurre una pérdida de diversidad microbiana, predominio de microorganismos patógenos como *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Enterococcus*, *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella* y alteraciones en bacterias presentes para volverse más patógenas.

Se conoce que factores en el entorno del huésped indujeron a los microbios a volverse más nocivos, una posible explicación de esto la encontramos en el papel central del fosfato. El fosfato es un importante nutriente implicado en la proliferación y el crecimiento bacteriano, la depleción del fosfato en el intestino ocurre con frecuencia en escenarios de malabsorción, nutrición parenteral o insuficiencia hepática, y se ha asociado con la presencia de cepas más infectantes de *Pseudomona*

aeruginosa. La restauración de fosfato a través de polímeros de polietilenglicol, administrados mediante enema rectal, se asocia con la preservación del microbioma.

Los opioides, producidos de forma endógena como administrados de forma exógena, pueden alterar el microbioma en pacientes críticos con sepsis, se ha demostrado que la dinorfina, un opioide endógeno liberado en el microambiente intestinal durante momentos de estrés, puede interactuar sobre todo con *Pseudomona aeruginosa*, promoviendo un fenotipo más agresivo. De igual forma, se conoce una mayor patogenicidad de *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus coagulasa negativo* con exposición a opioides.

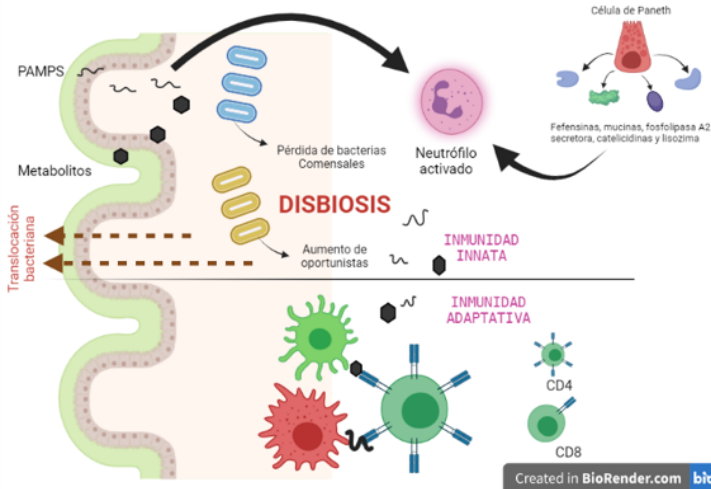


Figura 1. Mecanismo de translocación bacteriana como producto de disbiosis y alteración en la inmunidad innata y adaptativa. PAMPS: Patrones moleculares asociados a patógenos. (Autoría propia)

### *Apoptosis del epitelio intestinal en la sepsis*

La apoptosis de manera basal en el intestino ocurre tanto en la cripta intestinal como en la punta de las vellosidades, este proceso de muerte celular programada, está regulada al alza en la sepsis tanto en pacientes como en modelos preclínicos de sepsis, donde se ha evidenciado que este proceso reduce en gran medida la eficacia de la barrera intestinal, creando un medio inflamatorio local. Modelos murinos de sepsis han demostrado una regulación positiva de la muerte de las células epiteliales activada por las vías del receptor de la muerte y las mitocondriales. La sepsis inducida por neumonía, ha aumentado la apoptosis del epitelio intestinal incrementando la expresión de proteínas proapoptóticas Bid y Bax y la proteína antiapoptótica Bcl-xL en la vía mitocondrial, así como un aumento del ligando Fas y disminución de Fas, FADD, pFADD, TNF-R1. y TRADD en la vía mediada por receptores. Por el contrario, mientras que la neumonía por *Pseudomonas aeruginosa* induce un aumento similar en la apoptosis del epitelio intestinal, esto se asocia con un aumento de Bcl-2 y TNF-R1 y una disminución de Fas. En particular, la prevención de la apoptosis epitelial intestinal inducida por sepsis en ratones transgénicos mediante la sobreexpresión de la proteína antiapoptótica Bcl-2, conduce a una ventaja de supervivencia marcada después de una neumonía por CLP y *Pseudomonas aeruginosa*. En particular, la edad parece jugar un papel significativo en la apoptosis intestinal en la sepsis. Los modelos murinos de sepsis, han demostrado una mortalidad significativamente

mayor en ratones envejecidos en comparación con animales más jóvenes. La administración de factor de crecimiento epidérmico (EGF), es otra estrategia que se ha demostrado beneficiosa para mejorar los resultados en estudios preclínicos, su administración sistémica mejora la supervivencia tanto en CLP como en neumonía, incluso si se inició 24 horas después del inicio de la sepsis. A diferencia de Bcl-2, que es puramente una proteína anti-apoptótica, EGF tiene múltiples efectos sobre la integridad intestinal ya que normaliza la apoptosis epitelial intestinal, provoca una normalización de la proliferación de criptas comúnmente disminuidas en la sepsis y mantiene la longitud adecuada de las vellosidades. El EGF también mejora la permeabilidad intestinal a través de una disminución en la claudina 2, mediador de la unión estrecha que forma los poros.

### ***Opciones terapéuticas dirigidas a restaurar el microbioma***

De acuerdo a la base y al entendimiento de los trastornos del microbioma, se despliegan algunas opciones terapéuticas destinadas a tratar de reconstituir el ambiente comensal intestinal, su espectro terapéutico va desde el trasplante de un microbioma exógeno completo de donantes sanos, continua con la administración de bacterias sanas y/o estimulación de la producción de bacterias buenas por el huésped, hasta la decontaminación selectiva del aparato digestivo. Cada uno de estos enfoques se ha mostrado prometedor en la sepsis, sin embargo, tienen limitaciones que les impiden ser el tratamiento estándar de manejo.



### ***Trasplante de microbioma fecal***

El uso a menudo inadecuado de antibióticos en el paciente crítico es la causa más común de aparición de patógenos resistentes y por ende de alteración del microbioma. Con esto, la incidencia de *Clostridium difficile* ha incrementado su frecuencia en la UCI convirtiéndola en una infección cada vez más grave y potencialmente mortal. Las guías más recientes sobre infección por *Clostridium difficile* y trasplante de microbiota fecal (TMF), recomiendan al TMF como el tratamiento de primera elección en adultos o niños con recurrencias múltiples, independientemente de la gravedad si bien el tratamiento de este microorganismo se basa en el uso de vancomicina o metronidazol por vía oral, se han descrito crecientes casos recurrentes y fracasos al tratamiento; para que un TMF tenga éxito, los pacientes no deberían recibir antibióticos, ya que la terapia antimicrobiana continua altera el microbioma trasplantado. Esto ha limitado el uso del trasplante de microbiota fecal en la unidad de cuidados intensivos a unos pocos informes de casos en pacientes con diarrea intratable. Por lo tanto, determinar el papel del trasplante de microbiota fecal en pacientes críticamente enfermos representa una estrategia experimental en la sepsis que requiere más estudios rigurosos para determinar su papel en el tratamiento futuro de esta entidad.

### ***Uso de probióticos***

El uso de probióticos y en menor grado prebióticos y simbióticos en la unidad de cuidados intensivos han demostrado ser útiles de

manera significativa. Metanálisis recientes de más de 2000 pacientes demuestran que hay una reducción en la tasa de neumonía e infecciones asociadas al ventilador en pacientes críticamente enfermos con el uso de probióticos, sin diferencias en la mortalidad; de igual forma, se redujo la duración de la estancia hospitalaria o la duración de la ventilación mecánica. Cabe destacar que, estas conclusiones están limitadas por la evidencia de baja calidad marcada por una heterogeneidad importante del diseño del estudio. En 2016, un estudio multicéntrico aleatorizado, analizó el uso de probióticos, en especial, aquellos que contienen *Bacillus subtilis* y *Enterococcus faecalis* vivos por sonda nasogástrica en pacientes ventilados. Los pacientes que recibieron terapia con probióticos tuvieron una reducción estadísticamente significativa en la tasa de neumonía asociada al ventilador en comparación con los que no la recibieron (49). Pese a estos hallazgos, todavía se requieren ensayos bien diseñados con evidencia fuerte que avale antes una adopción más amplia de probióticos en la unidad de cuidados intensivos.

### ***Descontaminación selectiva del tracto digestivo***

Por último, un método controvertido para atacar el patobioma es la descontaminación selectiva del tracto digestivo, esta estrategia consiste en la aplicación tópica de antimicrobianos no absorbibles en la orofaringe e intestino, con el objetivo de prevenir o erradicar el transporte orofaríngeo e intestinal de microorganismos patógenos, sin afectar negativamente el microbioma restante del paciente. Los datos que justifican la descontaminación selectiva del tracto digestivo

son convincentes de acuerdo con un metanálisis de 29 ensayos que demuestran una disminución en la mortalidad, con una razón de probabilidades de 0,73 (IC del 95%: 0,64 a 0,84) (50). Sin embargo, aún existen muchas preocupaciones de carácter teórico sobre el desarrollo de resistencia a los antimicrobianos con esta estrategia, lo que ha limitado su uso casi exclusivamente a un pequeño número de países con bajas tasas de resistencia basal.

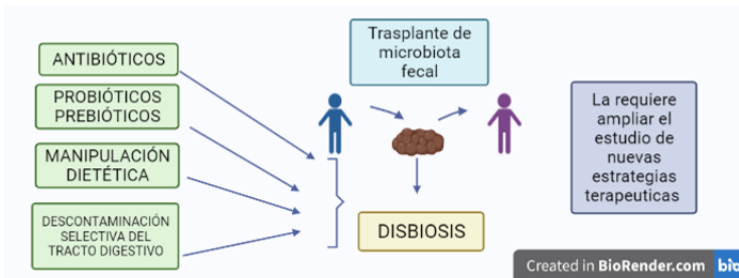


Figura 2. Opciones terapéuticas en estudio dirigidas a reconstituir la microbiota intestinal. (Autoría propia)

## CONCLUSIONES

La interconexión entre el epitelio, el microbioma intestinal y el sistema inmunológico local, es esencial para mantener una simbiosis adecuada.

La sepsis, es una entidad capaz de alterar el microambiente intestinal, genera un estado disbiótico caracterizado por hiperpermeabilidad, apoptosis de células epiteliales e hiperinflamación, este estado, puede marcar un claro dominio de bacterias patógenas que puede progresar a infección y muerte.

El enfoque para un tratamiento útil se basa en el restablecimiento de un microambiente intestinal homeostático, mediante alternativas que, pese a que han mostrado cierta utilidad, aún tienen limitaciones que requieren ser superadas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. Vol. 45, *Critical Care Medicine*. 2017. 486–552 p.
- Kadri SS, Rhee C, Strich JR, Morales MK, Hohmann S, Menchaca J, et al. Estimating Ten-Year Trends in Septic Shock Incidence and Mortality in United States Academic Medical Centers Using Clinical Data. *Chest* [Internet]. 2017;151(2):278–85. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chest.2016.07.010>
- Cabrera-Perez J, Badovinac VP, Griffith TS. Enteric immunity, the gut microbiome, and sepsis: Rethinking the germ theory of disease. *Exp Biol Med*. 2017;242(2):127–39.
- Round JL, Lee SM, Li J, Tran G, Jabri B, Chatila TA, et al. The toll-like receptor 2 pathway establishes colonization by a commensal of the human microbiota. *Science* (80- ). 2011;332(6032):974–7.
- Dickson RP. The microbiome and critical illness. *Lancet Respir Med*. 2016;4(1):59–72.
- Kitsios GD, Morowitz MJ, Dickson RP, Huffnagle GB, Mcverry BJ, Morris A, et al. Dysbiosis in the ICU: Microbiome science coming to the bedside HHS Public Access. *J Crit Care*. 2017;38:84–91.
- Ackerman J. The ultimate social network. *Sci Am*.

2012;306(6):36–43.

- Belkaid Y and TH. Role of the Microbiota in Immunity and inflammation Yasmine. *Cell*. 2015;157(1):121–41.
- Fay KT, Ford ML, Coopersmith CM. The intestinal microenvironment in sepsis. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis*. 2017;1863(10):2574–83.
- Lobo LA, Benjamin CF, Oliveira AC. The interplay between microbiota and inflammation: lessons from peritonitis and sepsis. *Clin Transl Immunol [Internet]*. 2016;5(7):e90. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/cti.2016.32>
- Qin X, Sheth SU, Sharpe SM, Dong W, Lu Q, Xu D, et al. The mucus layer is critical in protecting against ischemia-reperfusion-mediated gut injury and in the restitution of gut barrier function. *Shock*. 2011;35(3):275–81.
- Anderson, Deborah K., Liang JW and CL. HHS Public Access. *Physiol Behav*. 2017;176(5):139–48.
- Van der Sluis M, De Koning BAE, De Bruijn ACJM, Velcich A, Meijerink JPP, Van Goudoever JB, et al. Muc2-Deficient Mice Spontaneously Develop Colitis, Indicating That MUC2 Is Critical for Colonic Protection. *Gastroenterology*. 2006;131(1):117–29.
- Maynard CL, Elson CO, Hatton RD, Weaver CT. Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system. *Nature*. 2012;489(7415):231–41.
- Round JL, Mazmanian SK. The gut microbiota shapes intestinal

- immune responses during health and disease. *Nat Rev Immunol*. 2009;9(5):313–23.
- Thaïss CA, Zmora N, Levy M, Elinav E. The microbiome and innate immunity. *Nature*. 2016;535(7610):65–74.
  - Levy M, Kolodziejczyk AA, Thaïss CA, Elinav E. Dysbiosis and the immune system. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2017;17(4):219–32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nri.2017.7>
  - Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*. 2006;124(4):783–801.
  - Lankelma JM, van Vught LA, Belzer C, Schultz MJ, van der Poll T, de Vos WM, et al. Critically ill patients demonstrate large interpersonal variation in intestinal microbiota dysregulation: a pilot study. *Intensive Care Med*. 2017;43(1):59–68.
  - Ostaff MJ, Stange EF, Wehkamp J. Antimicrobial peptides and gut microbiota in homeostasis and pathology. *EMBO Mol Med*. 2013;5(10):1465–83.
  - Johansson MEV, Hansson GC. Immunological aspects of intestinal mucus and mucins. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2016;16(10):639–49. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nri.2016.88>
  - Johansson MEV, Sjövall H, Hansson GC. The gastrointestinal mucus system in health and disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2013;10(6):352–61.

- Wang C, Li Q, Ren J. Microbiota-immune interaction in the pathogenesis of gut-derived infection. *Front Immunol.* 2019;10(AUG):1–14.
- Delano MJ, Ward PA. The immune system's role in sepsis progression, resolution, and long-term outcome. Vol. 274, *Immunological Reviews.* 2016. 330–353 p.
- Honda K, Littman DR. The microbiota in adaptive immune homeostasis and disease. *Nature.* 2016;535(7610):75–84.
- Ismail AS, Severson KM, Vaishnava S, Behrendt CL, Yu X, Benjamin JL, et al.  $\Gamma\delta$  Intraepithelial Lymphocytes Are Essential Mediators of Host-Microbial Homeostasis At the Intestinal Mucosal Surface. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(21):8743–8.
- Andreu-Ballester JC, Tormo-Calandín C, Garcia-Ballesteros C, Pérez-Griera J, Amigó V, Almela-Quilis A, et al. Association of  $\gamma\delta$  T cells with disease severity and mortality in septic patients. *Clin Vaccine Immunol.* 2013;20(5):738–46.
- Wei M, Shinkura R, Doi Y, Maruya M, Fagarasan S, Honjo T. Mice carrying a knock-in mutation of *Aicda* resulting in a defect in somatic hypermutation have impaired gut homeostasis and compromised mucosal defense. *Nat Immunol* [Internet]. 2011;12(3):264–70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/ni.1991>
- Li Q, Wang C, Tang C, He Q, Li J. Lymphocyte depletion after



alemtuzumab induction disrupts intestinal fungal microbiota in cynomolgus monkeys. *Transplantation*. 2014;98(9):951–9.

- Reintam Blaser A, Poeze M, Malbrain MLNG, Björck M, Oudemans-Van Straaten HM, Starkopf J. Gastrointestinal symptoms during the first week of intensive care are associated with poor outcome: A prospective multicentre study. *Intensive Care Med*. 2013;39(5):899–909.
- Piton G, Capellier G. Biomarkers of gut barrier failure in the ICU. *Curr Opin Crit Care*. 2016;22(2):152–60.
- Yoseph BP, Klingensmith NJ, Liang Z, Breed ER, Burd EM, Mittal R, et al. Mechanisms of Intestinal Barrier Dysfunction in Sepsis. *Shock*. 2016;46(1):52–9.
- Qin X, Caputo FJ, Xu DZ, Deitch EA. Hydrophobicity of mucosal surface and its relationship to gut barrier function. *Shock*. 2008;29(3):372–6.
- McDonald D, Ackermann G, Khailova L, Baird C, Heyland D, Kozar R, et al. *Critical Illness*. 2016;1(August):1–6.
- Mathewson ND, Jenq R, Mathew A V., Koenigsknecht M, Hanash A, Toubai T, et al. Gut microbiome-derived metabolites modulate intestinal epithelial cell damage and mitigate graft-versus-host disease. *Nat Immunol*. 2016;17(5):505–13.
- Wischmeyer PE, McDonald D, Knight R. Role of the microbiome, probiotics, and “dysbiosis therapy” in critical illness. *Curr Opin Crit Care*. 2016;22(4):347–53.

- Lamarche MG, Wanner BL, Crépin S, Harel J. The phosphate regulon and bacterial virulence: A regulatory network connecting phosphate homeostasis and pathogenesis. *FEMS Microbiol Rev.* 2008;32(3):461–73.
- Zaborin A, Defazio JR, Kade M, Deatherage Kaiser BL, Belogortseva N, Camp DG, et al. Phosphate-containing polyethylene glycol polymers prevent lethal sepsis by multidrug-resistant pathogens. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(2):966–77.
- Zaborina O, Lepine F, Xiao G, Valuckaite V, Chen Y, Li T, et al. Dynorphin activates quorum sensing quinolone signaling in *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS Pathog.* 2007;3(3).
- Zaborin A, Smith D, Garfield K, Quensen J, Shakhsheer B, Kade M, et al. Membership and behavior of ultra-low-diversity pathogen communities present in the gut of humans during prolonged critical illness. *MBio.* 2014;5(5):1–14.
- Macia L, Tan J, Vieira AT, Leach K, Stanley D, Luong S, et al. Metabolite-sensing receptors GPR43 and GPR109A facilitate dietary fibre-induced gut homeostasis through regulation of the inflammasome. *Nat Commun.* 2015;6.
- Guery B, Galperine T, Barbut F. *Clostridioides difficile*: Diagnosis and treatments. *BMJ.* 2019;366.
- Allegretti JR, Mullish BH, Kelly C, Fischer M. The evolution of the use of faecal microbiota transplantation

- and emerging therapeutic indications. *Lancet* [Internet]. 2019;394(10196):420–31. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)31266-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(19)31266-8)
- Italiano H, Aires DB, Aires B, Salud S De, Aires B, Austral HU, et al. ICD Consenso intersociedades Medicina 2020. *Medicina (B Aires)*. 2020;80:1–32.
  - Waldbaum C, Antelo P, Sordá J. Infección severa y complicada por *Clostridium difficile* resuelta con trasplante de microbiota. *Acta Gastroenterol Latinoam*. 2017;47(3):211–5.
  - Li Q, Wang C, Tang C, He Q, Zhao X, Li N, et al. Successful treatment of severe sepsis and diarrhea after vagotomy utilizing fecal microbiota transplantation: A case report. *Crit Care*. 2015;19(1):1–12.
  - Wei Y, Yang J, Wang J, Yang Y, Huang J, Gong H, et al. Successful treatment with fecal microbiota transplantation in patients with multiple organ dysfunction syndrome and diarrhea following severe sepsis. *Crit Care* [Internet]. 2016;20(1):1–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13054-016-1491-2>
  - Manzanares W, Lemieux M, Langlois PL, Wischmeyer PE. Probiotic and synbiotic therapy in critical illness: A systematic review and meta-analysis. *Crit Care* [Internet]. 2016;20(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13054-016-1434-y>
  - Zeng J, Wang CT, Zhang FS, Qi F, Wang SF, Ma S, et al. Effect of probiotics on the incidence of ventilator-associated pneumonia

in critically ill patients: a randomized controlled multicenter trial. *Intensive Care Med.* 2016;42(6):1018–28.

- Price R, MacLennan G, Glen J. Selective digestive or oropharyngeal decontamination and topical oropharyngeal chlorhexidine for prevention of death in general intensive care: Systematic review and network meta-analysis. *BMJ.* 2014;348(March).

## ACERCA DE LOS AUTORES

### JORGE LUIS VÉLEZ PÁEZ



Doctor en Medicina y Cirugía, Universidad Central del Ecuador. Doctor en Medicina, Universidad Peruana Cayetano Heredia. Máster en Ciencias de la Investigación Clínica y Epidemiológica, Universidad San Francisco de Quito. Especialista en Medicina Crítica, Universidad San Francisco de Quito. Cursando Máster en Inmunología Básica y Clínica, Universidad Peruana Cayetano Heredia. Diplomado en Inmunología, Universidad Autónoma Benito Juárez-México. Diplomado en Bioestadística, Instituto Universitario Tomas Larrigue Masaryk-México. Diplomado en Epidemiología Hospitalaria, Universidad San Luis Gonzaga – Perú. Formación avanzada en manejo del software estadístico SPSS y EXCEL- Universidad Politécnica Nacional – Instituto Superior del Pacífico Lima. Posgrado en Medicina Crítica en Hospital Carlos Andrade Marín de 2005 a 2010. Médico especialista y actual jefe de servicio en la Unidad de Terapia Intensiva del Hospital Pablo Arturo Suárez de Quito de 2010 hasta la actualidad. Profesor Titular Agregado 3 de la Cátedra de Medicina Interna en

la Universidad Central del Ecuador. Profesor Titular Agregado 3 de la Cátedra de Inmunología en la Universidad Central del Ecuador. Profesor y Tutor del Posgrado de Medicina Crítica y Terapia Intensiva de la Universidad Central del Ecuador. Profesor y Tutor del Posgrado de Medicina de Emergencias y Desastres de la Universidad Central del Ecuador. Profesor y Tutor del Posgrado de Medicina Crítica y Terapia Intensiva de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

## MARIO PATRICIO MONTALVO VILLAGÓMEZ



Doctor en Medicina y Cirugía, Universidad Central del Ecuador. Especialista en Medicina Crítica y Cuidados Intensivos, Universidad Central del Ecuador. Máster Profesional en Epidemiología y Salud Colectiva, Universidad Andina Simón Bolívar. Cursando Máster en Inmunología Básica y Clínica, Universidad Peruana Cayetano Heredia. Médico Intensivista, Cuidado del Paciente Crítico / Hospital Pablo Arturo Suárez, 2015/05/04 hasta la actualidad. Médico Intensivista, Cuidado del Paciente Crítico, Manejo Postoperatorio Cardíaco / Hospital Carlos Andrade Marín, 2012/10/01 hasta 2015/04/27. Médico Intensivista, Cuidado del Paciente Crítico/Nueva Clínica Internacional. Quito, 2016/04/24 Hasta la Actual. Médico Intensivista, Cuidado de Pacientes en Post Operatorio de Cirugía Cardíaca, Cuidado Paciente Crítico / Hospital Carlos Andrade Marín “IESS”, 2011/09/01 Hasta 2012/08/11. Médico Intensivista, Cuidado de Paciente Crítico Gineco-Obstétrico / Hospital Gineco Obstétrico Isidro Ayora, 2009/11/16 hasta 2011/08/31.

Médico Intensivista, Cuidado del Paciente Crítico / Hospital Carlos Andrade Marín “IESS” , 2009/07/01 hasta 2009/10/30. Médico Intensivista, Cuidado del Paciente Crítico / Hospital de Clinicas Pichincha, 2006/11/16 hasta 2012/08/11. Médico Intensivista, Cuidado del Paciente Crítico / Hospital San Vicente de Paul “Ibarra”, 2006/03/20 hasta 2009/03/20. Profesor Docente para el Instituto Superior de Postgrado de La Universidad Central del Ecuador Módulo de Respiratorio para el Postgrado de Medicina Crítica y Cuidados Intesivos. Residentes 1 y 2 / Universidad Central Del Ecuador, 2020/01/04 hasta la actualidad. Profesor Docente para El Instituto Superior de Postgrado de la Universidad Central del Ecuador Módulo de Casos Especiales: Para El Post Grado de Emergencias y Desastres. Residentes 4. / Universidad Central Del Ecuador, 2017/06/01 Hasta hasta la actualidad. Profesor Docente para el Instituto Superior de Postgrado de La Universidad Central del Ecuador Módulo de Medicina Crítica y Cuidados Intensivos: Cardiología y Neurología Crítica, / Universidad Central Del Ecuador, 2010/01/04 hasta 2014/05/19.



## FERNANDO ESTEBAN JARA GONZÁLEZ



Doctor en Medicina y Cirugía, Universidad Nacional de Loja. Especialista en Medicina Crítica y Cuidados Intensivos, Universidad Central del Ecuador. Máster en Ultrasonografía Clínica para Emergencia y Cuidados Críticos - Universidad Cardenal Herrera - España, Máster en Educación con Mención en Entornos Digitales Universidad Indoamérica - Ecuador. Médico tratante de la Unidad de Terapia intensiva de Clínica Santa María (hasta la actualidad). Médico tratante de la Unidad de Terapia Intensiva del Hospital Pablo Arturo Suárez, del Ministerio de Salud Pública del Ecuador. (hasta la actualidad). Médico tratante de la Unidad de Terapia intensiva del Hospital Oncológico Solón Ayala Espinoza (SOLCA) Quito. (hasta la actualidad). Médico tratante del área de Terapia Intensiva del Hospital Carlos Andrade Marín de la Ciudad de Quito. Residente del Postgrado de Medicina Crítica y Terapia Intensiva Hospital Carlos Andrade Marín de la ciudad de Quito.

Profesor Docente para El Instituto Superior de Postgrado de la Universidad Central del Ecuador Módulo de Ultrasonido Crítico para El Posgrado de Medicina Crítica y Cuidados Intesivos. Residentes 1 y 2 / Universidad Central del Ecuador, 2019/09/01 hasta la actualidad.

Profesor Docente Para El Instituto Superior de Postgrado de La Universidad Central del Ecuador Modulo De Ultrasonografia Critica: Para El Post Grado De Emergencias Y Desastres. Residentes 4. / Universidad Central del Ecuador, 2019/09/01 hasta la actualidad.

Universidad San Francisco de Vitoria -España, Instructor de Simulación Médica, 2019/12/01 Hasta Actual. Instructor Certificado de Winfocus (Red Mundial de Ultrasonografía Crítica Enfocada), Director de La Primera Unidad de Entrenamiento en Ecuador, 2018/10/01 hasta la actualidad..

## **SANTIAGO XAVIER AGUAYO MOSCOSO**



Doctor en Medicina y Cirugía, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Especialista en Medicina Crítica, Universidad San Francisco de Quito. Posgrado en Medicina Crítica en Hospital Carlos Andrade Marín de 2008 a 2012. Médico tratante en la Unidad de Terapia Intensiva del Hospital Pablo Arturo Suárez de Quito desde 2014 hasta la actualidad. Médico Intensivista en la Nueva Clínica Internacional Quito-Ecuador. Profesor del Posgrado de Medicina de Emergencias y Desastres de la Universidad Central del Ecuador. Sociedad Ecuatoriana de Medicina Crítica. Miembro fundador de Grupo de Producción Científica e Investigación “Latitud 0”. Miembro fundador del Centro de Investigación Clínica UTI-HPAS.

## PABLO ANDRÉS VÉLEZ PÁEZ



Médico, Universidad Central del Ecuador. Especialista en Medicina Crítica y Terapia Intensiva, Universidad Central del Ecuador. Cursando Máster en Inmunología Básica y Clínica, Universidad Peruana Cayetano Heredia. Diplomado en Bioestadística Instituto Universitario Tomas Larrigue Masaryk-México. Posgrado en Medicina Crítica y Terapia Intensiva de 2016 a 2020. Médico especialista en la Unidad de Terapia Intensiva del Hospital General Ibarra de 2021 hasta la actualidad. Docente de Inmunología Clínica en la Universidad Central del Ecuador.

## PEDRO RENÉ TORRES CABEZAS



Doctor en Medicina y Cirugía, Universidad Central del Ecuador. Especialista en Medicina Crítica y Terapia Intensiva, Universidad Central del Ecuador. Cursando Máster en Ecografía Clínica para Emergencias y Cuidados Críticos, Universidad Tecnológica TECH. Máster Universitario en Cuidados Intensivos, Universidad Católica de Valencia San Vicente Mártir. Diplomado en Cuidados Intensivos, Universidad Católica de Chile. Diplomado en Inmunodeficiencias y VIH, Universidad Estatal de Guayaquil. Curso Superior de Docencia en Salud, Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra. Posgrado en Medicina Crítica Beca IESS Hospital San Francisco de Quito de 2013 a 2017. Médico especialista Unidad de Terapia Intensiva, Hospital General Ibarra IESS desde 2017 hasta la actualidad. Médico especialista y actualmente Jefe de la Unidad de Cuidados Intensivos, Hospital Clínica Metropolitana Ibarra desde 2018 a la actualidad. Docente de la Cátedra de Fisiología humana en la Universidad Técnica del Norte. Docente de la Catedra de Inmunología en la Universidad Técnica del Norte.

## DANIEL ALFONSO TORRES CARPIO



Médico, Universidad Técnica Particular de Loja. Especialista en Medicina Crítica y Terapia Intensiva, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Cursando Máster en Investigación en Ciencias de la Salud, Universidad Internacional del Ecuador. Posgrado en Medicina Crítica y Terapia Intensiva en Pontificia Universidad Católica del Ecuador. (Hospitales de la ciudad de Quito, segundo y tercer nivel, 2016-2020). Médico especialista en la Unidad de Terapia Intensiva del Hospital General Pablo Arturo Suárez de Quito, desde Agosto 2020 hasta Julio 2021. Médico especialista en la Unidad de Terapia Intensiva del Hospital General Docente de Calderón, desde Julio 2021 hasta la actualidad.



ISBN: 978-9942-823-96-0



9 789942 823960