

INFLAMACIÓN

PEDRO GARCÍA BARRENO *

* Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Departamento de Cirugía, Facultad de Medicina, Universidad Complutense. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. pgbarreno@insde.es.

La inflamación es la respuesta, del sistema inmunológico de un organismo, al daño causado a sus células y tejidos vascularizados por patógenos bacterianos y por cualquier otro agresor de naturaleza biológica, química, física o mecánica. Aunque dolorosa, la inflamación es, normalmente, una respuesta reparadora; un proceso que implica un enorme gasto de energía metabólica. En ocasiones, transcurre hacia una situación crónica que suele dar lugar a una enfermedad degenerativa como artritis,

arteriosclerosis o, incluso, cáncer. Aunque suele acompañarse de una respuesta generalizada —«respuesta de fase aguda»— caracterizada por un cuadro clínico pasajero de sensación de malestar, fiebre y modificación del perfil de las proteínas y leucocitos circulantes, en ocasiones, la inflamación aguda local provoca una reacción orgánica generalizada —«síndrome de respuesta inflamatoria sistémica»— que, en una secuencia de reacciones a modo de espiral sin control —«inflamación maligna»—, conduce al

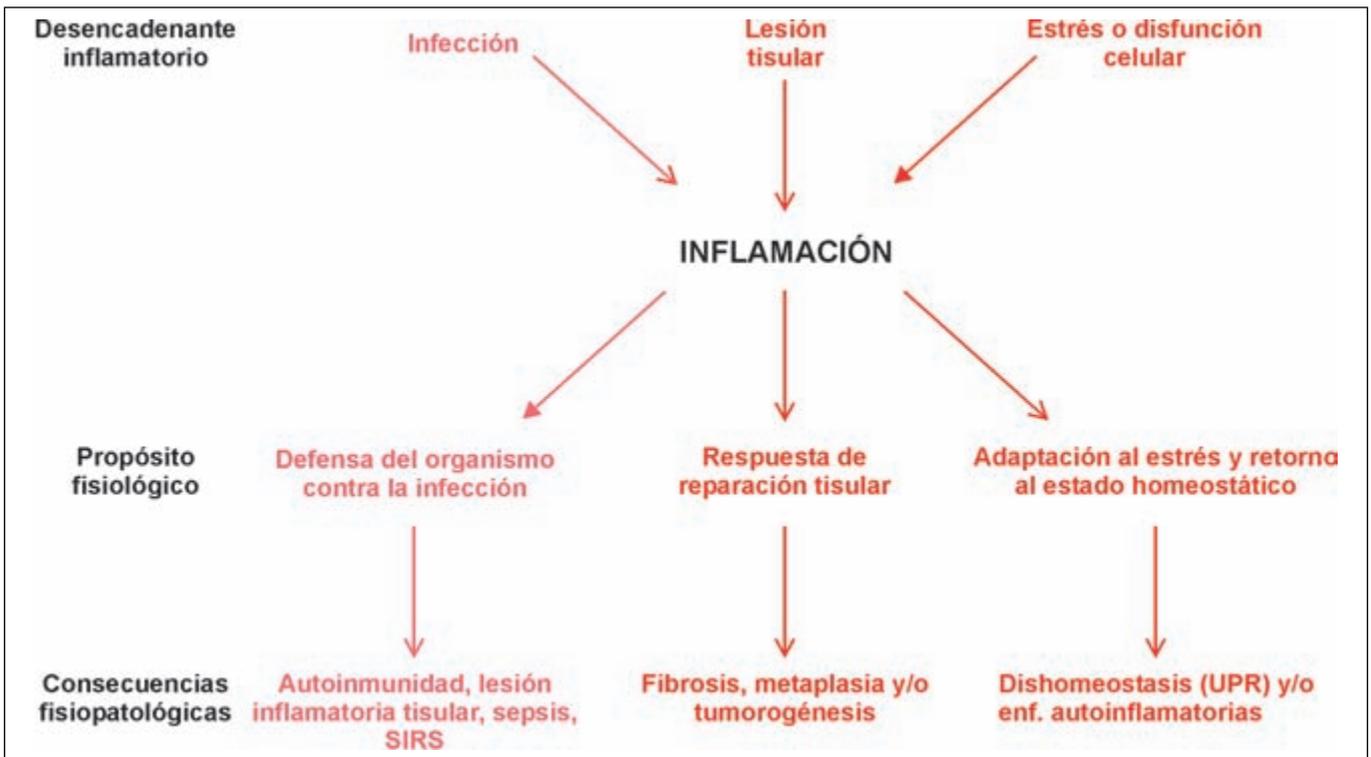


Figura 1. La inflamación, aunque en principio representa un proceso universal e inespecífico encaminado a restaurar la homeostasis disturbada, puede elegir, según la causa desencadenante, diferentes escenarios de actuación para conseguir resultados determinados.

fracaso funcional de los diferentes órganos y sistemas —«fracaso multiorgánico»— y, tras ello, a la muerte del individuo (**Figura 1**)¹.

En cualquier caso, la respuesta inflamatoria está coordinada por un copioso dispositivo de mediadores que se organizan en complejas redes reguladoras. Para diseccionar tal entramado, es útil agrupar esas señales en categorías funcionales y distinguir entre inductores y mediadores de la respuesta inflamatoria. Los primeros son señales que inician el proceso; activan sensores especializados que suscitan la producción de lotes específicos de mediadores. Estos, a su vez, alteran los estados funcionales de células, tejidos y órganos —que son los efectores de la inflamación—, de manera que permitan su adaptación primero y

reparación después, del daño infringido por el inductor (**Figura 2**).

I. BOSQUEJO HISTÓRICO

Para comprender la respuesta inflamatoria, tal como hoy se entiende, es oportuno repasar las raíces de nuestro conocimiento sobre tal fenómeno. La perspectiva histórica indica que el progreso científico no es continuo, y que la ciencia está influida por la personalidad de quienes la hacen avanzar. La historia de la investigación sobre la inflamación se extiende más allá de dos mil años; de ellos, doscientos de investigación en el contexto celular y, los veinte últimos, en el entorno molecular².

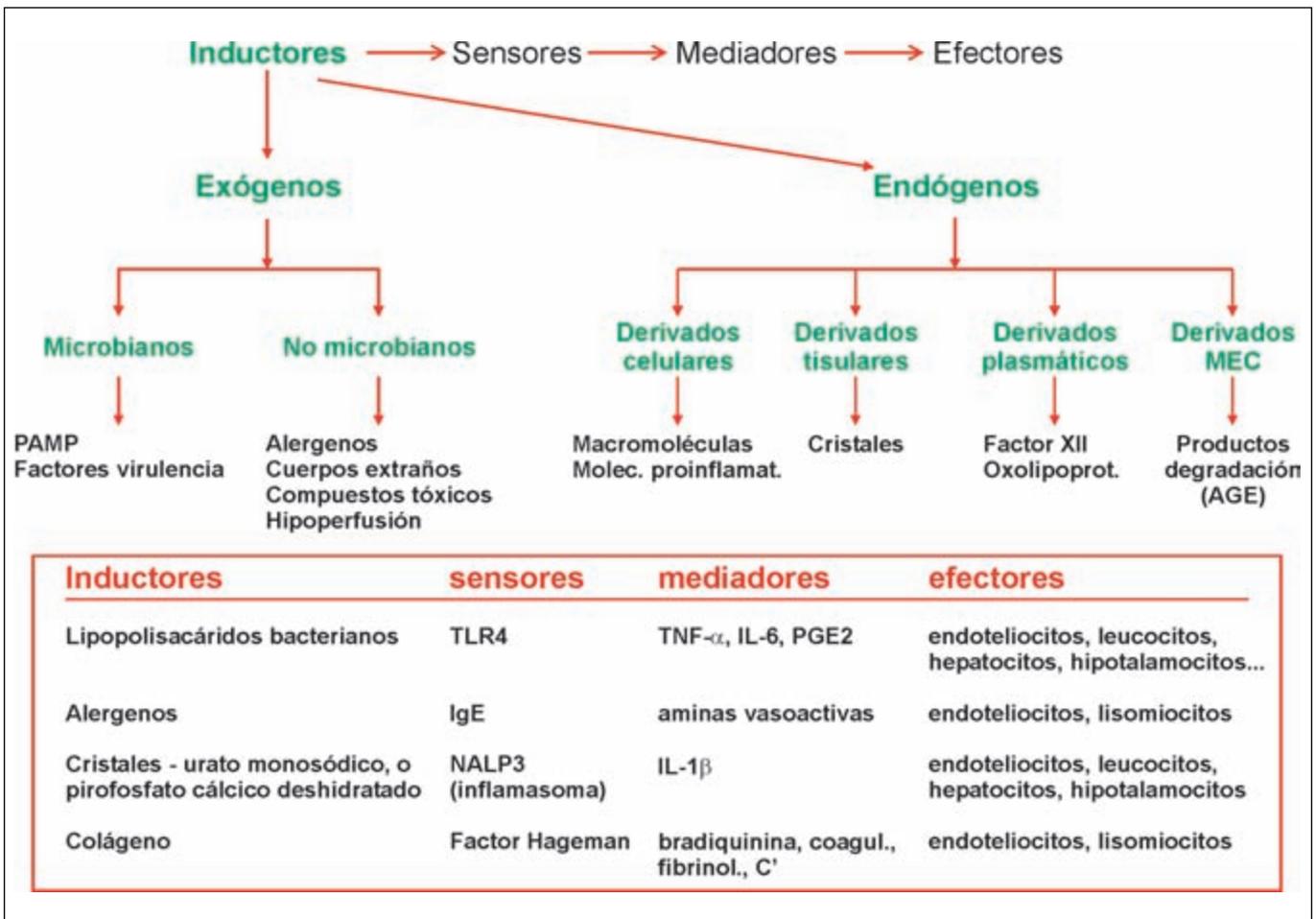


Figura 2. Una vía inflamatoria genérica incluye, secuencialmente, inductores, sensores, mediadores y efectores. Los inductores pueden clasificarse en exógenos y endógenos, y ellos, a su vez, en clases diferentes. Los diferentes inductores operan a través de vías distintivas. AGE: *Advanced-glycation end products*, C': Sistema del complemento sérico, IgE: Inmunoglobulina E, IL: Interleuquina, NALP: Miembro de la familia NLR (ver: Tabla III), PAMP: *Pathogen-Associated Molecular-Pattern*, PGE: Prostaglandina E, TLR: *Toll-like receptor*, TNF: *Tumor necrosis factor*.

Los signos y síntomas inflamatorios se conocen desde antiguo. Los egipcios describieron abscesos y úlceras, y el Código de Hammurabi contiene instrucciones para tratar abscesos oculares³. Sin embargo, fue el médico griego Hipócrates de Cos⁴ quién introdujo las palabras *edema* y *erisipela* para describir la inflamación. Hipócrates consideró la inflamación como el inicio de un proceso de resolución o de curación. La primera descripción comprensiva de la inflamación se encuentra en los escritos de Aulo C. Celso⁵, quién no fue médico ni científico. En su *De Medicina* introdujo los que consideran los *síntomas cardinales* de la inflamación: *rubor*, *tumor*, *color* y *dolor*. Galeno de Pérgamo⁶ añadió un quinto signo: *functio laesa*. Galeno, que introdujo el concepto de los cuatro humores vitales (*sanguis*, *pituíta*, *chole* y *melaine chole*), consideró la inflamación como un desajuste en la relación de esos humores⁷. No consideró que el pus fuera perjudicial (*pus laudable*), aunque debía facilitarse su evacuación mediante punción. Galeno advirtió del efecto perjudicial del frío sobre un edema inflamatorio, porque el frío tornaba la lividez del tejido en una *scirros* (cicatriz patológica), y pensó que la sangre percolaba a través de las paredes de las arterias hacia el tejido.

Con todo, la investigación del proceso inflamatorio no comenzó hasta la invención del microscopio compuesto por el científico holandés Zacharias Janssen (1580-1638), alrededor del año 1595. Antoni van Leeuwenhoek (1632-1723) construyó, en 1719, el primer microscopio con la suficiente resolución óptica para observar hematíes individuales moviéndose a través de los pequeños vasos sanguíneos, aunque los leucocitos no fueron objeto de su interés. El médico Hermann Boerhaave (1668-1738) utilizó el microscopio para observar vasos sanguíneos en tejidos inflamados; concluyó que los vasos sanguíneos más pequeños eran demasiado angostos para facilitar el flujo de sangre en el área inflamada, con lo se generaba calor debido a la fricción. Un discípulo de Boerhaave, Hieronymus D. Gaubius (1705-1780), encontró que la inflamación promovía las condiciones para que coagulara la sangre, y en 1796 apareció el texto "*Treatise of the blood, inflammation, and gun-shot wounds*", obra póstuma del inglés John Hunter (1728-1793).

La primera descripción de las células inflamatorias se debe a Rene Dutrochet (1776-1847) quién señaló,

en el año 1824⁸, que corpúsculos sanguíneos individuales podían escapar a través de la pared de los vasos y moverse con lentitud en la porción clara (de la preparación), donde la velocidad de movimiento era muy lenta; ello en marcado contraste con el torrente sanguíneo del que procedía la célula. Especuló sobre la naturaleza de la trasmigración de los leucocitos, y sugirió que las paredes de los vasos presentaban orificios que permitían a los elementos formes de la sangre entrar en los tejidos. Rudolf Wagner (1805-1864) tiene la primicia de la descripción, en el año 1839⁹, del rodamiento leucocitario: «En el espacio claro y brillante entre el torrente sanguíneo y la pared del vaso, que está rodeada por varias fibras paralelas, puede observarse como los leucocitos se mueven lentamente». Esta observación fue confirmada por Rudolf L. C. Virchow (1821-1902) quién, en el año 1871¹⁰, hizo notar que los leucocitos rodantes podían adherirse transitoriamente a la pared del vaso y, en ocasiones, reentrar en el torrente circulatorio. Observó la trasmigración leucocitaria, pero atribuyó un papel nutritivo más que una función inflamatoria a este fenómeno. Observaciones similares fueron hechas por William Addison (1802-1881) y por Augustus V. Waller (1814-1870), quienes ofrecieron, en la década de los años 1840, una clara descripción de la trasmigración de los leucocitos y de la diapédesis de los eritrocitos en la inflamación secundaria a traumatismos, y descubrieron que el pus estaba formado por leucocitos¹¹.

Avanzado el siglo XIX, las contribuciones más importantes a la investigación de la inflamación fueron realizadas por Ilya I. Metchnikoff (1845-1916) y por Julius Cohnheim (1839-1884). El primero señaló que «la acumulación de células en la vecindad de la lesión constituye una clase de defensa natural para el organismo»¹²; y Cohnheim dio, en el año 1877, una detallada descripción de la cascada leucocitaria, incluida la trasmigración: «Primero, en una vena con marginación típica de las células blancas, uno ve un borde punteado en la pared externa del vaso. Estas se mueven más allá, hacia el exterior del vaso al que se conectan mediante un fino tallo. Finalmente, este tallo se desvanece y, ahora, la célula blanca aparece como un corpúsculo brillante apenas coloreado, contráctil, situado completamente fuera del vaso»¹³. Max J. S. Schultze (1825-1874) fue el primero en percatarse de que los leucocitos no eran una clase homogénea de células¹⁴. Metchnikoff amplió tales observaciones y

definió los linfocitos, los monocitos-macrófagos y los granulocitos; distinguió los neutrófilos de los eosinófilos, y reconoció que las células plasmáticas y los mastocitos eran células inflamatorias. Metchnikoff escribió que «el elemento esencial y primario en la inflamación típica consiste en una reacción de los fagocitos contra el agente lesivo». Por su innovador trabajo, Metchnikoff, el fundador de la teoría celular de la inflamación, compartió el Premio Nobel de Fisiología o Medicina 1908 («por sus trabajos sobre inmunidad») con Paul Ehrlich (1854-1915), quien había trabajado sobre el sistema del complemento sérico y los anticuerpos y a quien se atribuye la fundación de la escuela humoral de la inmunidad. Con tales desarrollos, los conceptos de activación endotelial, adhesión leucocítica, actividad fagocítica e inmunidad, habían sido introducidos.

Luego llegaron los modelos *in vivo* encabezados, en el año 1903¹⁵, por el de Nicolas M. Arthus (1862-1945) mediante la inyección intradérmica de antígenos (reacción de Arthus). Eliot R. Clark (1881-1963) desarrolló, en el año 1935¹⁶, una cámara que visualizaba la adhesión y trasmigración de los leucocitos *in vivo*. Henry H. Dale (1875-1968), quien había trabajado en transmisión sináptica, reconoció (1929) la implicación de mediadores químicos en el proceso inflamatorio, identificando el primero de ellos: la histamina; descubrimiento al que siguieron los de la serotonina y la bradiquinina. Dale compartió con Otto Loewi (1873-1961) el Premio Nobel de Fisiología o Medicina del año 1936 «por sus descubrimientos relativos a la transmisión química de los impulsos nerviosos».

Con todo, Luis Urtubey (1892-1962)¹⁷ titulaba una conferencia desarrollada en Valencia, en 1937, *Concepto filosófico de la inflamación*: «He insistido en el término “filosofía” porque, precisamente en una ciencia tan de observación como la Patología, apenas hay otro problema inquietante de esta índole que el que se refiere a la inflamación». Por otra parte, Heilmeyer y Kähler¹⁸ escriben: «Para el médico, es de importancia fundamental el problema de la significación biológica de la inflamación. La respuesta que se dé a esta cuestión influirá decisivamente en su conducta junto a la cabecera del enfermo. Antaño, la consideración teleológica de la inflamación, en el sentido de que ésta constituiría un proceso conveniente para el

organismo, dominaba por completo el planteamiento del problema». Büchner¹⁹, en 1950, había señalado: «Así, pues, lo lógico y necesario es hablar, no de finalidad sino de significación biológica de la inflamación. El fenómeno, peculiar de la materia viva, de lo que en ella sucede por necesidad, es decir, con carácter forzoso, con mucha frecuencia es al mismo tiempo lo más conveniente desde el punto de vista biológico, se pone de manifiesto precisamente en el proceso inflamatorio. El estímulo flogógeno perturba el equilibrio del organismo, pero la reacción de éste logra restablecer por lo regular el equilibrio perturbado». Y Lewis Thomas²⁰ ha sugerido que «quizá la reacción inflamatoria deba ser considerada como una defensa del individuo contra el resto de la naturaleza, simbolizando su individualidad y anunciando su existencia como entidad». Como resumen de la situación valga lo escrito por Gerald Weissmann en 1974²¹: «Cualquier descripción o teoría general de la “inflamación” es probablemente tan prematuro como una teoría general del comportamiento».

La serie de mediadores inflamatorios culminó con el estudio de las prostaglandinas (el Premio Nobel de Fisiología o Medicina del año 1982 fue compartido por Sune K. Bergström, Bengt I. Samuelson y John R. Vane por «sus descubrimientos referentes a las prostaglandinas y sustancias relacionadas biológicamente activas», y, luego, del óxido nítrico (Robert Furchgott, Louis Ignarro y Ferid Murad recibieron el Premio Nobel Fisiología o Medicina 1998 por sus trabajos sobre este último mediador). Por otro lado, el papel de las citoquinas inflamatorias interleuquina-1 (IL-1 β) y factor de necrosis tumoral α (*Tumor necrosis factor*, TNF- α), su papel activador del endotelio vascular potenciando la adhesión de los leucocitos y la identificación de las moléculas de adhesión (selectinas e integrinas), quedaron establecidos en la década de los años 1980²².

Vejlens estudió (1938) el rodamiento y la adhesión leucocitarias en los vasos mesentéricos²³, y V. T. Marchesi, H. W. Florey y J. L. Gowans establecieron (1960-4) las interrelaciones entre leucocitos y células endoteliales durante la trasmigración²⁴. Por último, A. J. Goldman y A. Atherton y G. V. R. Born, se ocuparon (1967-73) del comportamiento hidrodinámico de la inflamación²⁵. Tras los trabajos pioneros de Harold A. Abrahamson en el año 1927, sobre los cambios infla-

matorios en las propiedades biofísicas de las membranas de los leucocitos²⁶, un mojón distintivo son los trabajos de Eric A. Jaffe y colaboradores (1973) que establecieron las bases para el descubrimiento de las moléculas de adhesión entre los leucocitos y las células endoteliales²⁷. Por su parte, H. B. Stamper y J. J. Woodruff desarrollaron, en el año 1976, el primer ensayo *in vitro* para el estudio de la adhesión leucocitaria en presencia de estrés por cizallamiento circulatorio²⁸.

II. FISIOPATOLOGÍA

El proceso inflamatorio²⁹ representa una reacción tisular imprevista ante una agresión, que incluye: decisiones de puesta en marcha o de cese, basadas en la integración de secuencias moleculares incitadas por el daño tisular causado por la penetración de microbios o por la presencia de material extraño exógeno o endógeno; reclutamiento, instrucción y envío de células; eliminación de microbios, cuerpos extraños y de células infectadas y/o dañadas; creación de barreras para evitar las metástasis microbianas, y la reparación del tejido lesionado por la agresión o por la respuesta del huésped. Si diferentes causas alteran o bloquean cualquiera de las etapas de este ordenado proceso, la inflamación puede derivar hacia soluciones no deseadas, como la infiltración tisular por agregados de linfocitos y leucocitos (granulomas) que, en ocasiones —en las articulaciones—, son embebidos en una masa de fibroblastos sinoviales hiperproliferativos (pannus), o la distorsión tisular mediante la biosíntesis incontrolado de colágeno (fibrosis o cirrosis). La inflamación persistente puede provocar depósitos de proteínas amieloides, en principio protectoras pero que, a la larga, pueden inducir enfermedades crónicas degenerativas, y, también, lesiones oxidativas en el ácido desoxirribonucleico (ADN) que, con el tiempo, favorezcan transformaciones neoplásicas.

Lo que Celso definió como «rubor, calor, dolor y tumor» sigue siendo un problema intelectual de primer orden en el terreno de la transducción de señales y de la comunicación intercelular, en los sistemas biológicos; un problema sociolaboral importante por su incidencia en el trabajo y en las relaciones personales, y un mercado milmillonario para la industria farmacéutica. Cuando los acontecimientos patogénicos pri-

marios se desconocen, la fisiopatología y el control de la inflamación son las mejores opciones, aunque el número de enfermedades consideradas de origen inflamatorio disminuye a la par que se identifican las causas patogénicas iniciales. Sin embargo, en esta y en otras enfermedades infecciosas importantes, la respuesta inflamatoria puede causar más daño que el microbio (**Tabla I**)³⁰.

La inflamación es, ante todo, una respuesta a favor de la supervivencia, tal como queda reflejado por el elevado riesgo de infecciones graves en individuos con deficiencias genéticas de los componentes principales del proceso inflamatorio; por ejemplo, la incapacidad para movilizar leucocitos al foco lesionado en los déficit de adhesión leucocitaria puede conducir a la muerte por infección³¹; la incapacidad de producir diferentes componentes del sistema del complemento sérico predispone a infecciones meningocócicas, o la incompetencia de la maquinaria NADPHoxidasa leucocítica, que incapacita al fagocito para producir especies reactivas de oxígeno bactericidas, conlleva la enfermedad granulomatosa crónica³². Por ello, el objetivo médico de inhibir la inflamación se acompaña, paradójicamente, por un esfuerzo de comparable importancia para lograr inducir inflamación de manera eficaz en, al menos, dos situaciones. En primer lugar, causar y mantener inflamación se encuentran entre las funciones esenciales de los adyuvantes en las vacunas; y en segundo, provocar inflamación es uno de los objetivos primarios de la inmunología tumoral, en inmunización terapéutica³³ y en inmunoestimulación inespecífica, como cuando se instila bacilo de Calmette-Guérin en una vejiga urinaria para prevenir la recurrencia tumoral³⁴.

«La evolución no previno que la cirugía sería una técnica aséptica. Así, el organismo reacciona al trauma como si la emergencia fuera una infección, y hasta que se demuestre lo contrario»³⁵. La secuencia inflamatoria suele ejemplificarse con un sencillo experimento: descubrir uno de nuestros antebrazos y colocarlo en supinación sobre una superficie de apoyo. Poner las yemas de los tres dedos medios de la otra mano sobre el antebrazo desnudo, a la altura de la muñeca y arrastrarlos hacia la flexura del brazo mientras mantenemos una fuerte presión. Tras, más o menos, quince segundos aparecerá un bajorrelieve enrojecido en la piel «agredida» de nuestro antebrazo, que desa-

Enfermedades en las que la inflamación juega un papel patogénico importante	
Anafilaxis Artritis reumatoide Asma Aterosclerosis Colitis ulcerosa Dermatitis atópica Enfermedad de Alzheimer Enfermedad de Crohn (enteritis regional) Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) Esclerosis múltiple Espondilitis anquilosante	Gota Lupus eritematoso Osteoartritis Pénfigo Psoriasis Rechazo xenoinjerto Sarcoidosis Sindr. Isquemia-reperusión Sindr. Fiebre periódica Tiroiditis de Hashimoto Vasculitis
Enfermedades de origen infeccioso en las que la inflamación contribuye a la patología tanto como la toxicidad bacteriana	
Disentería bacteriana Enfermedad de Chagas Filariasis Gastritis por <i>H. pylori</i> Glomerulonefritis postestreptocócica Hepatitis C	Lepra (forma tuberculoide) Meningitis neumocócica o neisserica Neumonitis fibrosa quística Neumonía viral Sepsis Tuberculosis
Enfermedades de origen diverso en las que la fibrosis postinflamatoria es una causa principal de patología	
Cirrosis hepática (alcohólica o vírica) Esquistosomiasis Fibrosis pulmonar idiopática	Fibrosis pulmonar postirradiación Fibrosis pulmonar inducida por bleomicina Rechazo crónico alogénico

Tabla I. Ejemplos de enfermedades inflamatorias.

parecerá transcurrida una hora. En cambio, si la piel ha sido lesionada —un corte— y/o las bacterias han logrado acceder a los tejidos —contaminación—, el enrojecimiento y el edema persistirán, mostrando que se han puesto en marcha una serie de mecanismos, sincronizados con el proceso de reparación o con tiempo de replicación bacteriana y su potencial expansivo. El episodio probablemente culminará con el confinamiento y muerte de las bacterias que contaminaron la herida, y con la eliminación y reparación del tejido dañado. Si la respuesta inflamatoria no fue adecuada por diferentes causas de origen congénito o adquirido, la infección y sus efectos se generalizarán —sepsis— pudiendo, incluso, provocar la muerte del enfermo.

IIA. La respuesta celular a la agresión

Cualquier agresión local a un organismo desencadena respuestas en tres niveles de la organización: celular, tisular y orgánico (**Figura 3**). La respuesta celular es individual y aislada, y tiene por objetivos

defender su acervo génico y mantener la conformación nativa de sus proteínas. Para sobrevivir, los organismos deben enfrentarse con los efectos adversos del estrés genotóxico o agresiones que, constantemente, amenazan la integridad y función de sus genes y que pueden afectar a los exones o a las regiones no codificantes como los promotores. Tales ataques provienen de agentes ambientales como las radiaciones y los xenobióticos, y también endógenos: productos metabólicos de las células propias que causan lesiones diversas en el ADN. En este contexto, la exposición repetida a la radiación ultravioleta provoca a corto plazo inflamación cutánea —eritemas y quemaduras solares— y, a la larga, cáncer de piel. También la inflamación crónica mantenida por la presencia bacteriana —*Helicobacter pylori*— en la úlcera gástrica se ha asociado al desarrollo de cáncer gástrico. En el ámbito de la inflamación aguda tienen mayor interés las lesiones inducidas, en las regiones promotoras de los genes, por diferentes especies reactivas de oxígeno liberadas por las células fagocíticas activadas. Su presencia puede interferir la interacción con factores de

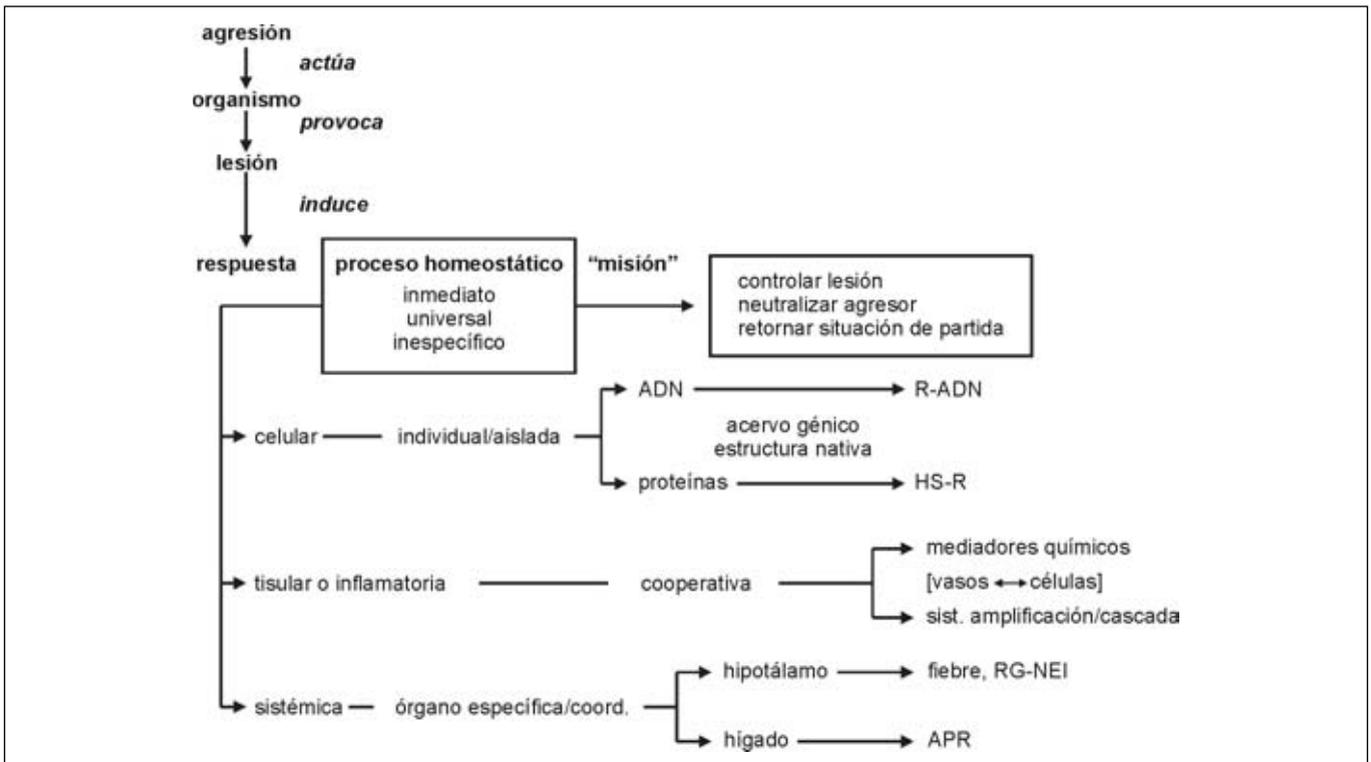


Figura 3. La respuesta del organismo a la agresión se realiza a tres niveles: celular, tisular y sistémico. Cada uno de ellos exhibe peculiaridades distintivas. ADN: Ácido desoxirribonucleico, APR: *Acute phase response*, HS-R: *Heat-shock response*, R-ADN: Respuesta de reparación del ADN, RG-NEI: Respuesta general neuro-endocrino-inmunológica.

transcripción, específicamente con los involucrados directamente en la respuesta inflamatoria. Para hacer frente a los daños infligidos por los elementos genotóxicos, internos y externos, los organismos han desarrollado mecanismos que enlentecen o bloquean la proliferación mediante su actuación en los puntos críticos del ciclo celular, que promueven la reparación del ADN o que eliminan las células agredidas poniendo en marcha programas de suicidio celular o apoptosis. Cómo la célula decide, entre vivir o morir, en respuesta a la lesión en su ADN es crítico no sólo para el destino celular, sino para evitar consecuencias desastrosas para el organismo como el cáncer^{36, 37} (**Figura 4**).

Las proteínas de choque término (*Heat shock protein*, HSP), también denominadas proteínas de estrés, son un grupo de macromoléculas muy conservadas, con diferentes pesos moleculares que guían una de sus clasificaciones —HSP de gran masa molecular: ≥ 100 kDa; HSP90: 99-81; HSP70: 80-65; HSP60: 64-55; HSP40: 54-35, y HSP de masa molecular pequeña: ≤ 34 —, presentes en todas las células de todas las for-

mas de vida. Expresadas en condiciones normales, diversos tipos de estrés ambiental o endógeno —por ej. hipertermia, hipotermia, hipoxia, especies reactivas de oxígeno, desviaciones del pH, infección, metales, compresión o cizallamiento— inducen su producción. Actúan como caperonas o carabinas moleculares asegurando que cada proteína alcance su conformación funcional en el lugar y en el momento adecuados. Para ello, intervienen en el proceso de plegamiento peptídico, en su distribución intracelular y en su degradación. En condiciones adversas se ocupan de que proteínas desnaturalizadas recuperen su conformación operativa y de que otras, que han formado agregados, recuperen su individualidad. También acompañan a los fragmentos peptídicos, producidos en la degradación de las proteínas, hasta el lugar de su presentación, en la superficie celular, por las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (*Major histocompatibility complex*, MHC) (**Figura 5**).

Frente a sus funciones fisiológicas protectoras, las HSP exhiben potencial patológico. Las HSP pueden abandonar su espacio natural intracelular en situa-

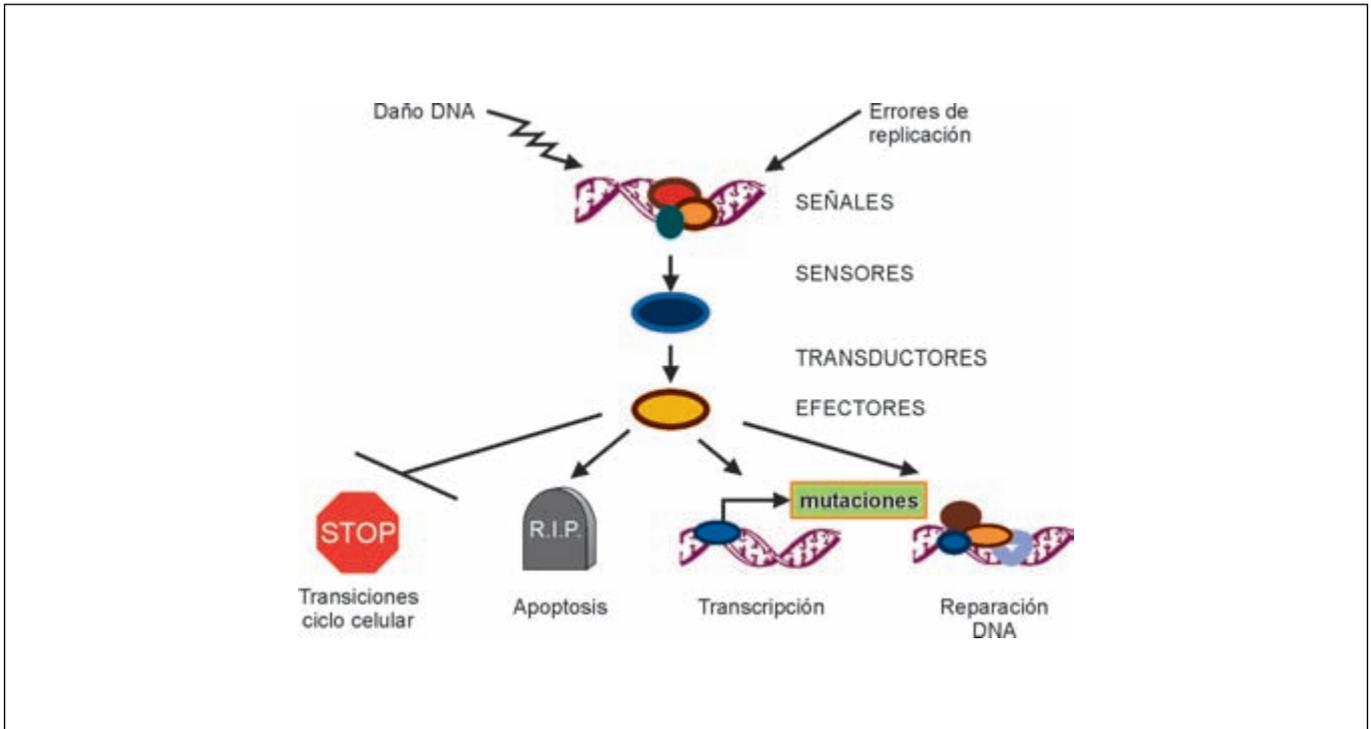


Figura 4. Panorámica de la vía de transducción de señales correspondiente a la respuesta al daño del ADN. Dicha vía, que consta de sensores, transductores y efectores, es activada por una serie de señales que corresponden a las diferentes lesiones causadas en el ADN: roturas monocatenarias o bicatenarias, y dimerizaciones de las bases. Los sensores no se conocen bien; un sensor candidato es la proteína BRCA1 (*Breast Cancer 1*). Los transductores de la señal son mejor conocidos. Dos proteínas quinásas relacionadas y evolutivamente bien conservadas —ATM (producto del gen *Ataxia Telangiectasia Mutated*) y ATR (*ATM-Rad3-related*)— son componentes centrales de la respuesta al daño del ADN. Las quinásas Chk1 y Chk2 son elementos efectores responsables de decidir entre reparar el daño, detener el ciclo celular o inducir apoptosis. Modificada de: Bing-Bing S. Zhou *et al.*³⁶; fig. 1, pág. 433.

ciones de lesión/necrosis celular inducidas por la activación del inflamasoma —piroptosis—, en cuyo caso suelen ir acompañadas de otras moléculas como la proteína HMGB1 (*High mobility group box-1*); ubicadas en espacio extraño actúan como citoquinas proinflamatorias. Por su parte, las HSP son responsables, al menos en parte y hasta donde se conoce, de la denominada «respuesta a proteínas desplegadas» (*unfolded-protein response*, UPR). En condiciones de normalidad, las HSP excedentes —el pul principal de HSP garantiza el correcto plegamiento de las proteínas nativas— ceban receptores específicos en el retículo endoplásmico a los que silencian. Las condiciones de estrés o agresión celular que inducen el desplegamiento de las proteínas, reclaman la movilización del pul de HSP acoplado a aquellos receptores a efectos de reforzar al que garantiza la conformación nativa de las proteínas intracelulares. El desacoplamiento activa los receptores que disparan una cascada de señales intracelulares que provocan la expresión de genes proinflamatorios³⁸.

II B. La respuesta tisular

La **figura 6** esquematiza el flujo de información desencadenado por una herida contaminada, común, de pronóstico leve (**Tabla II**). La respuesta tisular a la agresión, o inflamación en stricto sensu, contempla, en esquema, cuatro acontecimientos interrelacionados: **a**) la estimulación de las terminaciones nerviosas libres provoca dolor y liberación de péptidos bioactivos: neuropéptidos; **b**) las células dañadas —piroptosis— liberan proteínas constitutivas intracelulares: HSP, factor nuclear HMGB1 y N-formil-péptidos (FP) mitocondriales; **c**) los microorganismos y sus diferentes productos incitan, en colaboración con los anteriores, una respuesta inmunológica innata, y **d**) señales emanadas del foco inflamatorio reclutan leucocitos en el lugar de la lesión.

Las terminaciones nerviosas libres, sensitivas, liberan tras la lesión o el estímulo neuropéptidos pertenecientes a la clase taquininas —sustancia P y neuro-

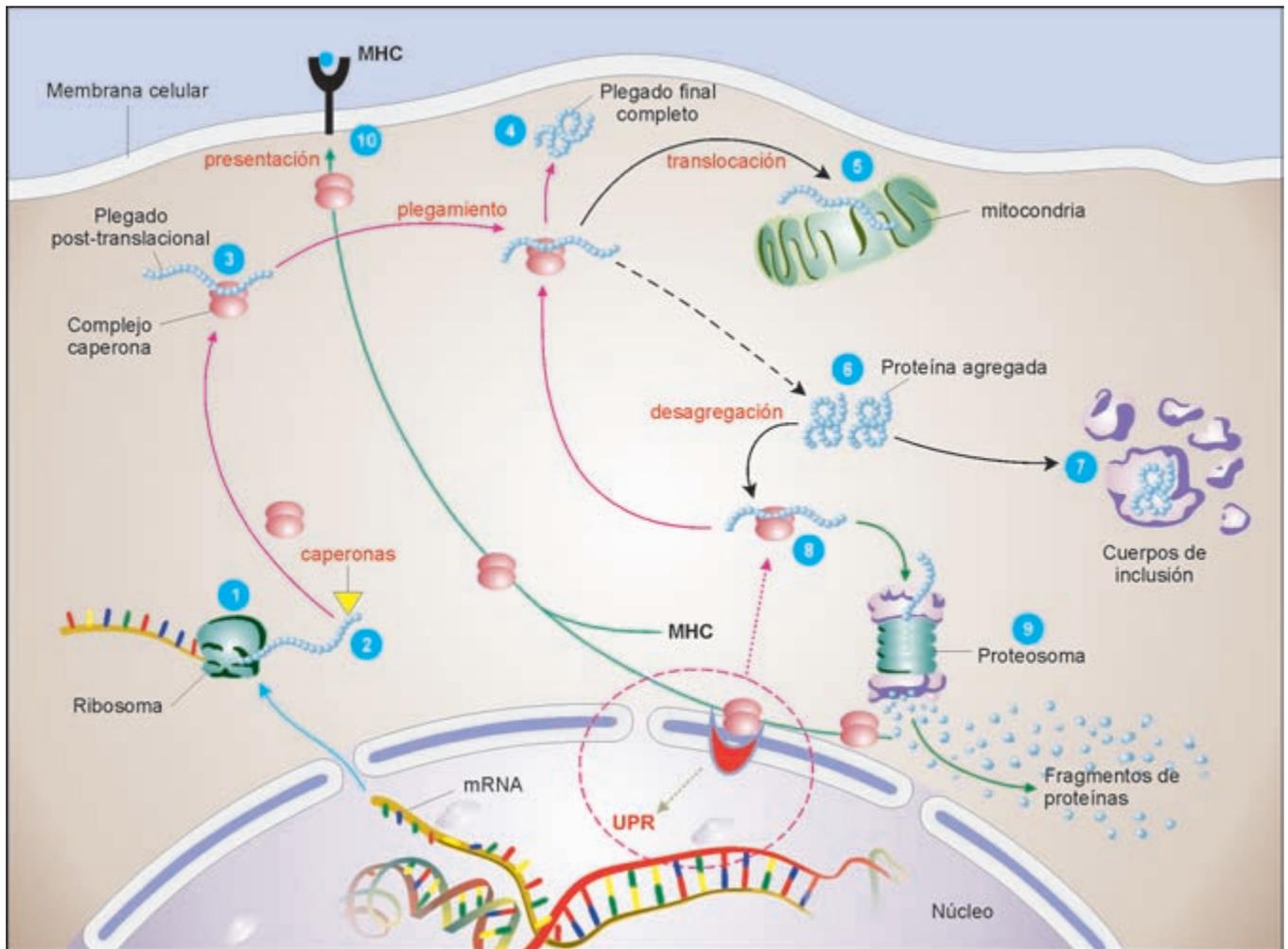


Figura 5. Esquema de la vida de una proteína. La traducción del ARN mensajero (mARN) ocurre sobre el ribosoma (1). A la vez, comienza, asistido por caperona, el plegamiento de la cadena polipeptídica naciente (2); operación que continúa postraduccionalmente (3) hasta su complitud (4). Algunas proteínas, antes de lograr su conformación final son translocadas a diferentes orgánulos (ej. mitocondria, 5). En ocasiones, como consecuencia de la historia natural de la proteína o inducido por factores desestabilizadores (ej. estresores), las proteínas se desnaturalizan, agregan (6) y precipitan en un cuerpo de inclusión (7) que será procesado y digerido por la maquinaria lisosómica. Algunas proteínas desnaturalizadas o parcialmente desplegadas son recuperadas por caperona (8), que bien las repliegan en su conformación funcional (4) o, bien, las conducen al proteosoma (9) para ser degradadas. En las células presentadoras de antígenos, las caperona acompañan (10) a los péptidos —antígenos— digeridos o degradados hasta las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC), que los presentarán, sobre la superficie celular, a los receptores de las células T. En condiciones basales, las caperona excedentarias del proceso normal de plegamiento permanecen acopladas a receptores específicos sobre la superficie del retículo endoplásmico (RE) (en la figura no diferenciado de la membrana nuclear); esta interacción silencia al receptor. En condiciones de estrés la protección de las proteínas funcionales requiere la totalidad de caperona disponibles, por lo que aquellas acopladas a sus receptores RE los abandonan. Esta disociación activa los receptores, que inician una cadena de señales conducente a una «respuesta a proteínas desplegadas» (*unfolded-protein response*, UPR); un componente más de la respuesta al estrés celular. Modificada de: Alberto J. L. Macario *et al.*³⁸, fig. 1, pág. 1491.

quininas— que representan el estímulo inicial de los mastocitos, que exponen sobre su membrana receptores específicos para tales mediadores proinflamatorios. Una vez iniciada la secuencia inflamatoria, tripsinas liberadas por esas mismas células y por otras participantes en el proceso y actuando sobre receptores activados por proteasas (*Protease-activated receptor*,

PAR) de los tipos PAR2 y EPR1 (*Effector cell protease receptor*) [ver pg. 13 y figuras núm. 9 y 10], refuerzan la respuesta inicial de las terminaciones nerviosas, que incrementan la producción y liberación de CGRP (*Calcitonin gene related product*) y de sustancia P. El primero actúa sobre receptores arteriolares provocando vasodilatación, responsable de los signos inflama-

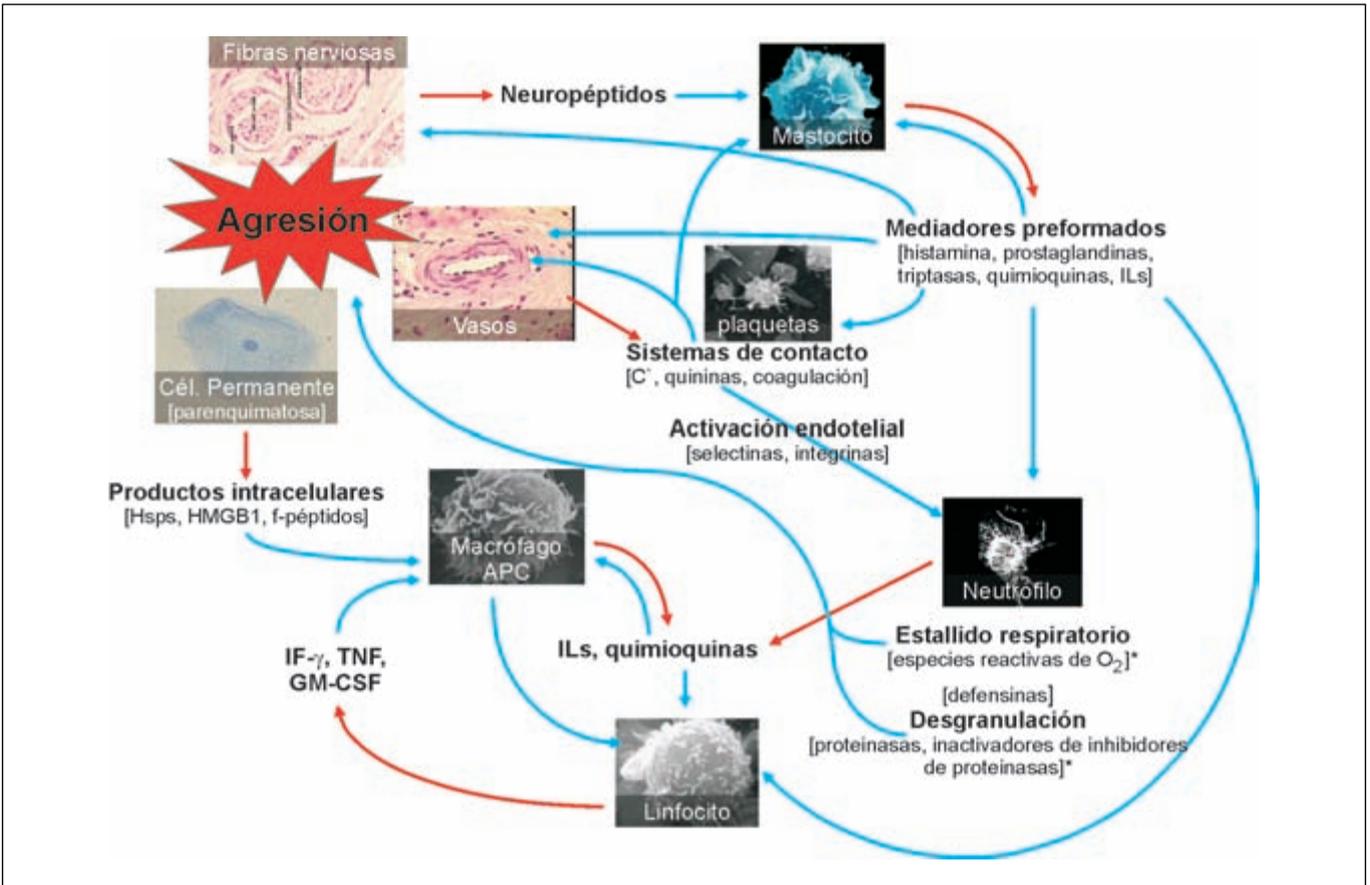


Figura 6. Flujo de información desencadenado por una herida contaminada, común, de pronóstico leve. Los microorganismos liberan productos que actúan, de manera directa, sobre mastocitos, macrófagos/APC y neutrófilos. APC: células presentadoras de antígenos; C': sistema del complemento sérico; f-peptidos: formil-peptidos; HMGB1: *high mobility group box 1*; Hsps: proteínas de choque térmico; ILs: interleuquinas. Producción de: →. Actuación sobre: →. *: doble acción=destruye microorganismos y provoca autoagresión.

Clasificación	Tasa de infección (%)	Características de la herida
Limpia (clase I)	≈ 1.0 - 5.0	Incisa ("no traumática"); aséptica; no acceso a los tractos génito-urinario (GU) o gastro-intestinal (GI), ni a las vías respiratorias (VRs)
Limpia - contaminada (clase II)	≈ 8.0 - 12.0	Mínima transgresión en la esterilidad de la técnica; acceso al GU, GI o VRs, sin vertido importante
Contaminada (clase III)	≈ 15.0 - 17.0	Heridas traumáticas; vertido grosero desde tracto GI; acceso a tejidos, huesos o vías urinarias o biliares, infectadas.
Sucia - infectada (clase IV)	≈ 28.0 - 40.0	Drenaje de abscesos; desbridamiento de tejidos blandos infectados.

Tabla II. Clasificación y tasa de infección de las heridas operatorias.

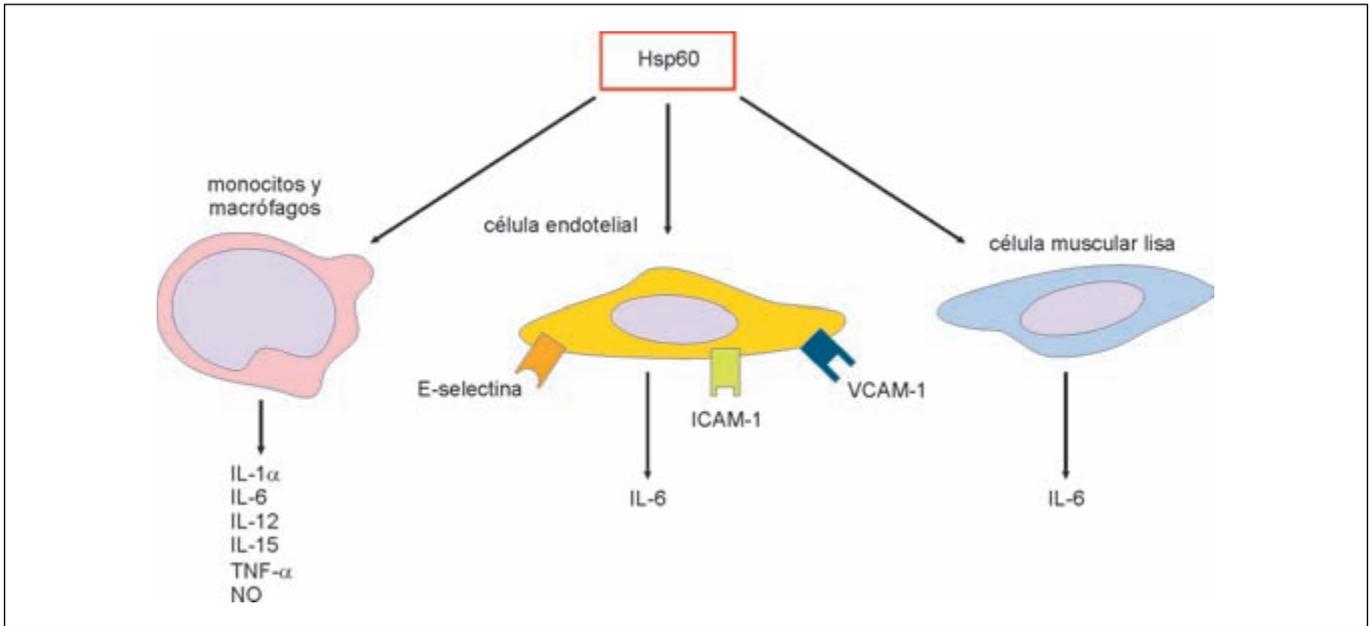


Figura 7. La HSP60 como una molécula proinflamatoria de señalización intercelular. ICAM: *intercellular adhesion molecule*. IL: *interleukin*. TNF: *tumor necrosis factor*. VCAM: *vascular cell adhesion molecule*. Modificada de: A. Graham Pockley³⁸; fig. 2, pág. 8.

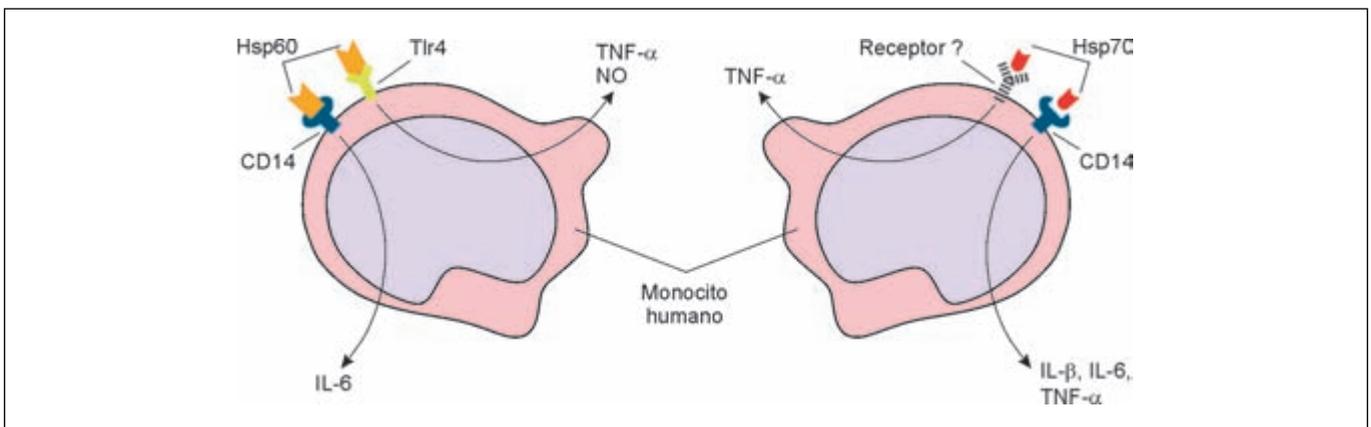


Figura 8. Las proteínas HSP60 y HSP70 inducen la secreción de citoquinas proinflamatorias por monocitos/macrófagos. La HSP60 estimula la secreción de interleuquina 6 (IL-6) a través del receptor CD14, y se une al complejo del receptor tipo Toll 4 (TLR4), del que CD14 es un co-receptor, para provocar la expresión de factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α) y de óxido nítrico sintasa; esta última responsable de incrementar la producción de óxido nítrico (NO). La HSP60 también induce la expresión de las citoquinas IL-12 e IL-15, a través de vías no identificadas. La HSP70 actúa a través de una vía dependiente de CD14 para estimular la producción de IL-1β, IL-6 y TNF-α, y por otra vía no conocida potencia la expresión de TNF-α. Modificada de: A. Graham Pockely³⁸; fig. 3, pág. 9.

torios rubor y calor, y el segundo sobre receptores venulares, provocando un incremento de la permeabilidad venular y extravasación responsable del edema o tumor inflamatorio.

Se ha demostrado que las HSP liberadas al compartimiento extracelular tienen una serie de efectos inmunológicos, que incluyen la inducción de secreción de citoquinas proinflamatorias y de expresión de

moléculas de adhesión por diversos tipos celulares. La HSP60 activa, en humanos, las células endoteliales vasculares para expresar selectina-E, ICAM-1 (*Intercellular adhesion molecule-1*) y VCAM-1 (*Vascular cell adhesion molecule-1*). La misma proteína de estrés induce la secreción de interleuquina-6 (IL-6) por células endoteliales, células musculares lisas y macrófagos. De manera similar al lipopolisacárido (LPS) de las bacterias gram negativas, la HSP60 induce la rápida

da liberación de TNF- α y de óxido nítrico (*Nitric oxide*, NO) por los macrófagos, así como la expresión de IL-12 e IL-15. Las HSP, en su función extracelular como citoquinas —caperoquinas—, activan a los monocitos y macrófagos a través de los mismos correceptores —CD14 (CD: *Cluster designation* o *cluster of differentiation*. Nomenclatura propuesta en 1982, en el *First International Workshop and Conference on Human Leukocyte Differentiation Antigens*)— que utilizan los LPS bacterianos para incitar una respuesta inmunológica innata (**Figuras 7 y 8**).

La HMGB1 es una abundante proteína no histona, miembro de la superfamilia que agrupa proteínas nucleares que presentan una movilidad electroforética muy alta. Este grupo de proteínas incluye tres familias. Los miembros de la familia HMGB se encuentran entre las proteínas más ubicuas, abundantes y evolutivamente más conservadas entre las especies eucarióticas; todos ellos comparten un dominio —*box*— que media el acoplamiento de la proteína al ADN. La HMGB1, como factor nuclear, actúa como un elemento estabilizador de la arquitectura del ADN, e interacciona con varios factores de transcripción, proteínas virales de replicación y receptores esteroídicos; juega, por todo ello, un papel relevante en la transcripción. Cuando abandona su ubicación normal y alcanza el medio extracelular, bien pasivamente por ruptura celular o secretada por células inflamatorias activadas por citoquinas, actúa como un potente mediador inflamatorio con características citoquímicas y quimioquímicas. Su receptor —RAGE (*Receptor for advanced glycation end products*)—, que pertenece a la superfamilia de las inmunoglobulinas, se localiza en los endotelios y los miocitos vasculares y en los fagocitos, entre otras células. Su actuación sobre estas células potencia el proceso inflamatorio: provoca disrupción de la pared vascular favoreciendo la extravasación de líquido y de células intravasculares, y es una potente citoquina sobre los fagocitos³⁹.

Los fagocitos profesionales —polimorfonucleares neutrófilos y células mononucleadas (monocitos y macrófagos)— juegan un papel clave en la defensa del huésped contra las bacterias invasoras. Las señales atractoras —quimioatractores— clásicas de los fagocitos son los FP bacterianos y mitocondriales, el factor 5a del complemento (C5a), la interleuquina 8 (IL-8), el factor activador de plaquetas (*Platelet-activating fac-*

tor, PAF) y el leucotrieno B₄ (LTB₄). El término quimioatractor deriva del hecho de que los fagocitos migran a lo largo de un gradiente de concentración —gradiente haptotímico— de tales sustancias. Cuando los quimioatractores están presentes a altas concentraciones activan las funciones citotóxicas de los fagocitos; específicamente, los fagocitos activados completan la cascada adherente, generan diferentes especies de radicales de oxígeno (*Radical oxygen species*, ROS) y liberan enzimas lisosómicas y otros mediadores inflamatorios.

Al contrario que los procariotes, la síntesis de proteínas codificadas por el ADN nuclear eucariótico se inicia con un aminoácido metionina no formilado. Sin embargo, el aparato de síntesis proteica mitocondrial utiliza *N*-formilmetionina para iniciar la síntesis peptídica, de manera análoga a los procariotes; además, el resto formil (-CHO) se retiene en el extremo aminoterminal de las proteínas mitocondriales. Por ello, FP liberados por las mitocondrias —en cuyo interior y en condiciones normales permanecen confinadas e ignoradas por el sistema de vigilancia inmunológico— dañadas juegan un papel proinflamatorio similar al de los péptidos bacterianos. Los receptores quimiotácticos clásicos de los fagocitos incluyen los de FP (*FP Receptor*, FPR), C5a (C5aR), PAF-R e IL-8R. Todos ellos, como los receptores de eicosanoides y de quimioquinas, son miembros de la superfamilia de receptores acoplados a proteína G (*G protein-coupled receptor*, GPCR), y cuya interacción con el ligando agonista resulta en la activación de la célula⁴⁰.

IIC. Mediadores inflamatorios

Numerosos estudios señalan la importancia del reclutamiento de leucocitos en el foco inflamatorio a partir del pul circulante. Sin embargo, una rápida respuesta requiere células centinelas estacionadas en los tejidos. Los macrófagos y especialmente los mastocitos, cumplen tal función⁴¹. Los mastocitos perivasculares responden a los neuropéptidos liberados por las terminaciones nerviosas dañadas y estimuladas liberando histamina⁴², triptasa y otras proteasas y TNF- α preformados, y eicosanoides —prostaglandinas inflamatorias, tromboxanos y leucotrienos⁴³—, citoquinas y quimioquinas neoformadas. Histamina, eicosanoides y triptasas causan vasodilatación —

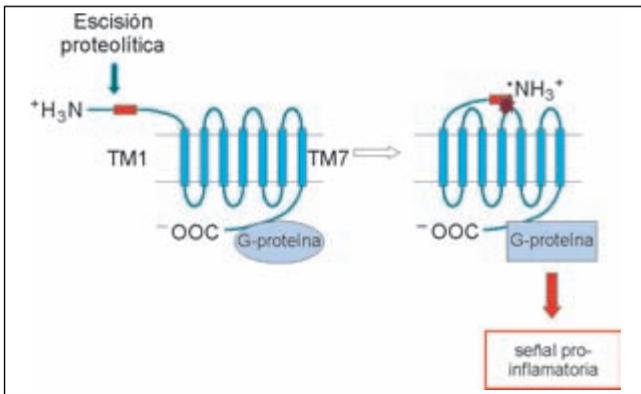


Figura 9. Mecanismo de autoactivación de los receptores activados por proteasas (PAR). Tras la escisión proteolítica del extremo N-terminal (NH_3^+) del PAR por trombina, tripsina o triptasa (dependiendo del subtipo del receptor), se expone un nuevo resto N-terminal ($^*\text{NH}_3^+$) y se desenmascara la secuencia [■] que autoactiva [●] el receptor acoplado a proteína G. TM1: primer dominio transmembranar. TM7: séptimo dominio transmembranar. COO^- : grupo carboxiterminal.

responsable del calor y rubor inflamatorios— y extravasación —responsable del tumor o edema inflamatorio—. Las triptasas mastocíticas siegan el extremo N-terminal exocelular de receptores activados por proteasas, desenmascarando secuencias, previamente crípticas, que autoactivan el receptor⁴⁴. Un receptor que pertenece a la clase GPCR⁴⁵ y que está presente en mastocitos, terminaciones nerviosas libres sensitivas, endotelio vascular, plaquetas y neutrófilos (**Figura 9**). Ello potencia la estimulación de los mastocitos y de las terminaciones nerviosas; hace al endotelio adherente para los leucocitos, permeable al fluido intravascular y procoagulante; induce la adhesividad y agregación de las plaquetas e insta a los leucocitos a producir factor activador plaquetario (**Figura 10**). PAF es el nombre trivial de un fosfolípido [1-*O*-alquil-2-acetil-*sn*-glicero-3-fosfocolina] que tiene diversas y potentes acciones fisiológicas. Muchos mediadores lipídicos (ej., eicosanoides) derivan de fosfolípidos, pero el PAF es un fosfolípido intacto que se acopla a un receptor específico⁴⁶. El PAF refuerza la adhesividad endotelial que conduce a la migración leucocitaria desde el vaso al foco inflamatorio (**Figura 11**), e induce en aquellos la expresión de receptores de quininas.

La interacción del quinínogeno de peso molecular elevado (*High-molecular weight kininogen*, HK) con su receptor sobre la superficie celular endotelial es clave para la activación de la precalicreína (*Pre-*

kallikrein, PK), que circula en el plasma formando un complejo con HK. Como se muestra en la **figura 12**, la calicreína activa sobre la membrana endotelial digiere al HK para liberar bradiquinina (*Bradikinin*, BK). El ensamblaje del complejo HK•PK sobre la célula endotelial es, por tanto, un prerrequisito para la formación de BK, que puede interactuar con el receptor de BK de tipo 2 (B2). La activación de B2 induce la producción de óxido nítrico y prostaciclina (PGI_2), vasodilatadores, y de activador tisular del plasminógeno (*Tissue plasminogen activator*, tPA), antitrombótico. El activador de la PK es una serina proteasa (*Prolylcarboxypeptidase*, PRCP o angiotensinasa C). La PRCP también digiere la inerte angiotensina I y la vasoconstrictora angiotensina II, dando lugar en ambos casos a angiotensina $\text{II}_{(1-7)}$, un péptido bioactivo que induce vasodilatación por estimular la producción de NO. La angiotensinasa produce dos péptidos bioactivos vasodilatadores, BK y angiotensina $\text{II}_{(1-7)}$, que se oponen a la potente acción vasoconstrictora de la angiotensina II. Se conoce la capacidad de la angiotensina II para inducir la secreción de inhibidor del activador del plasminógeno 1 (*Plasminogen-activator inhibitor*, PAI1), lo que involucra al sistema renina-angiotensina (*Renin-angiotensin system*, RAS) en favorecer la trombosis. La doble acción de la PRCP —activa PK e inactiva angiotensina II— indica una importante interacción entre el sistema calicreína-quinina (*Kalikkrein-kinin system*, KKS) y el RAS, y sugiere que ambas vías, conjuntamente, no solo regulan la presión arterial sino que influyen en la producción de trombosis. Existen otras dos interacciones entre KKS y RAS (**Figura 13**): la calicreína puede convertir prorenina (inactiva) en renina (activa); y la enzima convertora de angiotensina (*Angiotensin-converting enzyme*, ACE o quininasa II) puede convertir angiotensina I (inactiva) en angiotensina II (activa), y BK en $\text{BK}_{(1-5)}$, un péptido inhibidor de trombina. El sistema KKS plasmático es, por tanto, anticoagulante y profibrinolítico. Además, BK, como se ha señalado, induce la formación de NO, de PGI_2 y de tPA. En resumen, parece que el KKS plasmático sirve de contrapeso fisiológico al hipertensivo y protrombótico RAS⁴⁷.

Las citoquinas⁴⁸ son pequeñas proteínas o glicoproteínas⁴⁹, que actúan como autacoides o como hormonas, producidas generalmente como formas precursoras por células activadas que median el proceso

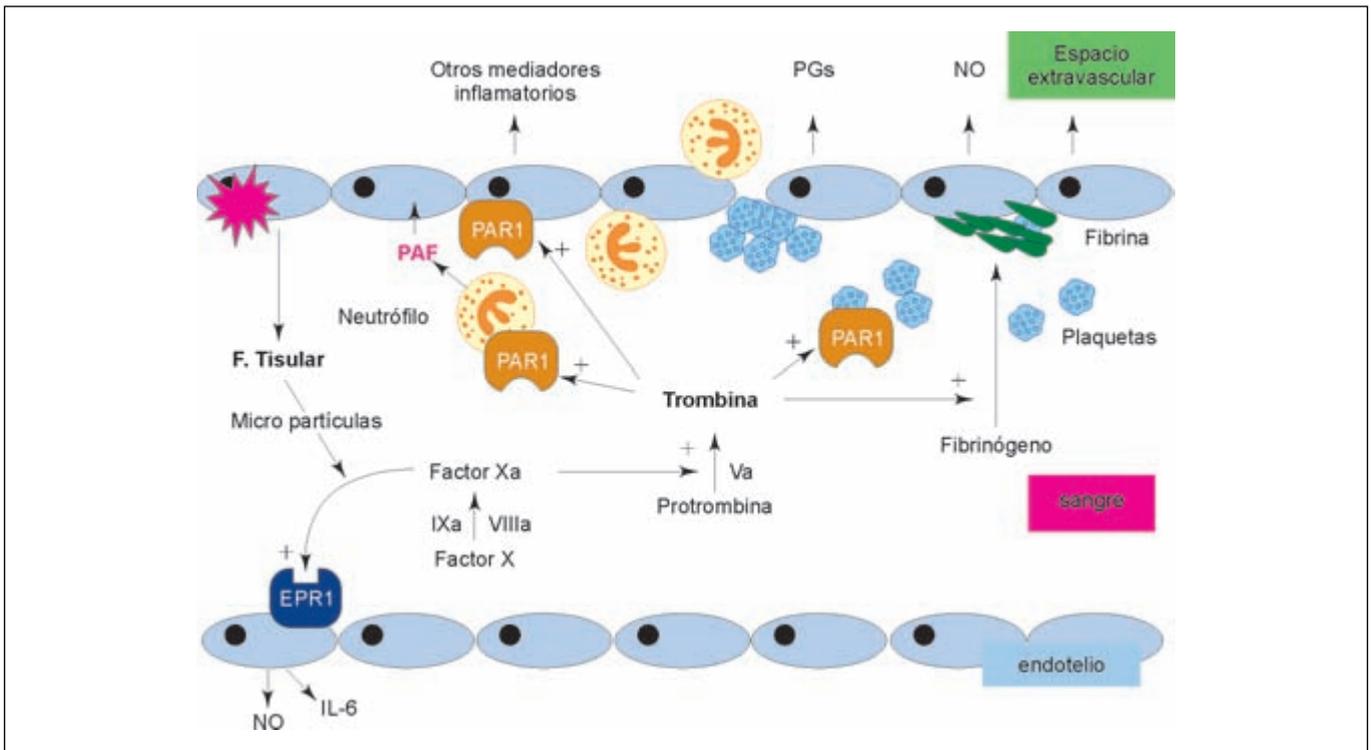


Figura 10. La activación del receptor activado por proteasa del subtipo 1 (PAR1) por trombina, representa un vínculo de unión entre las vías inflamatoria y de la coagulación. PAR1 se expresa en la superficie de las plaquetas (p), neutrófilos (n) y endotelios (e). La activación de PAR1e por trombina conduce a la liberación de mediadores proinflamatorios —prostaglandinas (PGs) y óxido nítrico (NO)— por las células endoteliales vasculares; mientras que la activación de PAR1n induce la migración de los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos y la liberación de factor activador plaquetario (PAF), que actuando sobre el endotelio potencia su adhesividad para las plaquetas. La activación de PAR1p provoca la adhesión de las plaquetas al endotelio y la agregación plaquetaria, que activan la vía intrínseca de la coagulación. Previamente, el endotelio lesionado ha liberado factor tisular (factor VII de la coagulación) que, tras ser activado por micropartículas, pone en marcha la vía extrínseca de la coagulación e inicia la producción de trombina. La adhesión plaquetaria y el depósito de fibrina sobre el endotelio vascular potencian la producción de PGs y NO. Por su parte, el factor X de la coagulación, activado por ambas vías de la coagulación, actúa directamente sobre las células endoteliales mediante la activación de otro receptor de la clase PAR —receptor EPR1 (*effector cell protease receptor 1*), también presente en la terminaciones nerviosas libres en las que se expresa junto con el subtipo PAR2—, induciendo la producción de NO y de interleucina 6 (IL-6). Al complejo [IXa-VIIIa] activador del factor X se denomina «tenasa». Modificada de: Giuseppe Cirino *et al.*⁴⁴; fig. 1, pág. 171.

inflamatorio. El término citoquina o inmunocitoquina se utilizó inicialmente para separar un grupo de proteínas inmunomoduladoras, denominadas inmunotransmisores, de otros factores de crecimiento o factores peptídicos reguladores que modulan la proliferación y bioactividad de células que no pertenecen, en principio, al sistema inmunológico. El término citoquina se utiliza como un nombre genérico para un grupo diverso de proteínas solubles que actúan como reguladores humorales a concentraciones nano- o picomolares y que, en condiciones normales y patológicas, modulan las actividades de células y tejidos; y algunas de ellas se comportan como factores de supervivencia al prevenir la apoptosis. Las citoquinas también median, de manera directa, interacciones intercelulares. En muchos aspectos, las actividades biológicas de las

citoquinas semejan las de las hormonas clásicas producidas en tejidos glandulares especializados. Algunas citoquinas también se comportan como hormonas, al actuar a distancia. En general, las citoquinas actúan sobre una mayor variedad de células diana que las hormonas; y, quizás, la principal diferencia entre éstas y las primeras es que éstas no son producidas por células especializadas. Diferentes citoquinas son producidas por células diferentes, y virtualmente todas las células del organismo son capaces de producir una u otra de aquellas.

En el sentido más restrictivo, las citoquinas comprenden las interleucinas —se pensó, en un principio, que eran producidas exclusivamente por leucocitos—, linfoquinas, monoquinas, interferones (IFN), quimio-

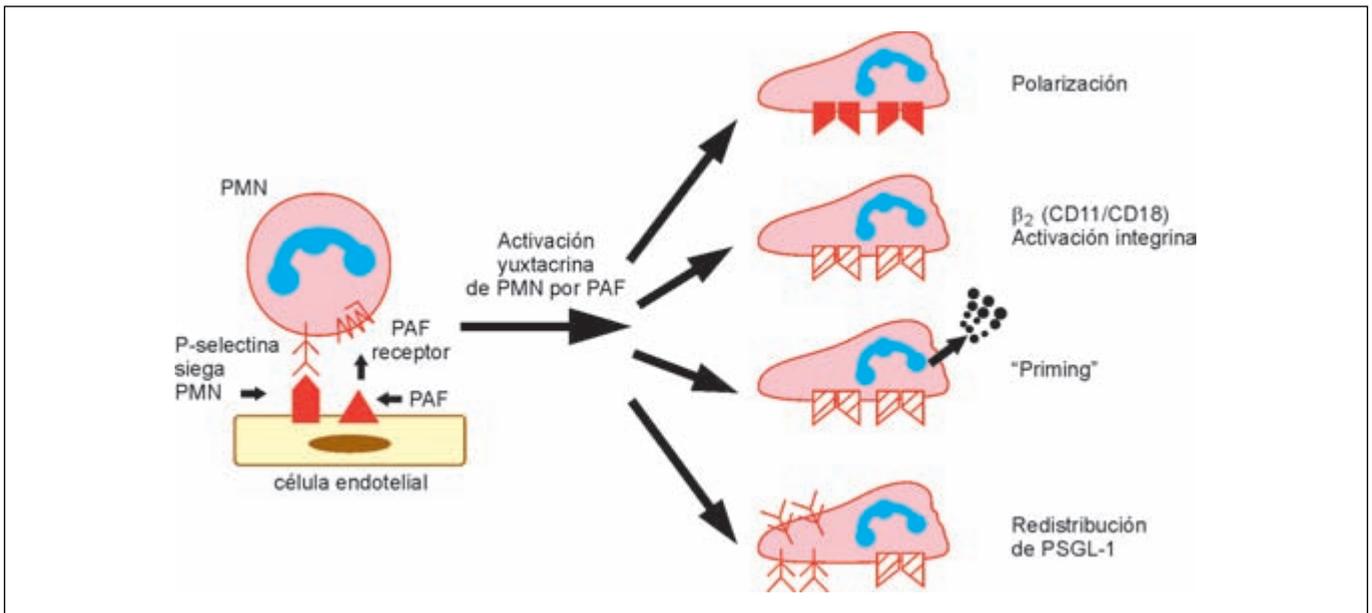


Figura 11. La señal incitada por el factor activador de plaquetas (*Platelet-activated factor*, PAF) prepara y activa a los leucocitos en las superficies de las células endoteliales vasculares inflamadas: un sistema yuxtacrino de control espacial del proceso inflamatorio. El PAF y una molécula de adhesión —P-selectina— se coordinan sobre la membrana celular endotelio-cítica. La P-selectina ata al leucocito a la célula endotelial, lo que permite al PAF de la célula endotelial acceder a su receptor en el leucocito polimorfonuclear. Ello constituye una especie de señal yuxtacrina pleotrópica. Modificada de: Stephen M. Prescott *et al.*⁴⁶; fig. 1, pág. 421.

quinas, factores estimulantes de colonias (*Colony stimulating factor*, CSF) y factores de crecimiento (*Growth factor*, GF). El término citoquinas de tipo 1 se refiere a aquellas producidas por células Th1 (células T *helper-1* o asistentes): IL-2, IFN- γ (Interferón- γ), IL-12 o TNF- β). Las citoquinas de tipo 2 son las producidas por Th2: IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 o IL-13. La mayoría de las citoquinas no se relacionan en términos de secuencias, aunque algunas pueden agruparse en familias (por ej. familias de receptores⁵⁰), o clasificadas en categorías de acuerdo con el tipo de la estructura secundaria o terciaria. Tras la expresión génica, la mayoría de las citoquinas son secretadas por las células utilizando las vías secretoras clásicas, existiendo formas que se asocian a las membranas y, otras, a la matriz extracelular. Se denomina entramado citoquínico a las interacciones, extraordinariamente complejas, de las citoquinas por las que inducen o suprimen su propia síntesis o la de otras citoquinas o sus receptores, y antagonizan o sinergizan entre ellas de maneras diferentes y, a menudo, redundantes. Tales interacciones involucran, en ocasiones, cascadas citoquínicas en las que una citoquina inicial desencadena la expresión de ella y de muchas otras, creando complejos circuitos de retroalimentación. Se denominan citoquinas proinflamatorias aquellas que favorecen la

inflamación, siendo prototípicas IL-1, IL-6 y TNF- α . Actúan como pirógenos endógenos, inducen la síntesis de mediadores secundarios y de citoquinas proinflamatorias por macrófagos y por células mesenquimales, estimulan la producción de proteínas de fase aguda y atraen células inflamatorias. El efecto neto de una respuesta inflamatoria está determinada por el balance entre citoquinas pro- y antiinflamatorias (IL-4, IL-10 o IL-13).

Macrófagos activados producen, en respuesta a patógenos y otros estímulos dañinos, TNF, una citoquina con una masa molecular relativa de 17 kDa que se comporta como mediador necesario y suficiente de la inflamación local y generalizada. El incremento de la concentración local de TNF provoca los signos clínicos cardinales de la inflamación: calor, rubor, tumor y dolor. El aumento sistémico de TNF media la lesión tisular deprimiendo el volumen sistólico cardíaco, induciendo trombosis microvascular y mediando en el síndrome vasculopléjico con vasoparálisis y extravasación masiva de líquido intravascular. El TNF amplifica y prolonga la respuesta inflamatoria al activar otras células que, como respuesta, liberan citoquinas tales como IL-1 y HMGB1, y otros mediadores como eicosanoides, óxido nítrico y especies reactivas

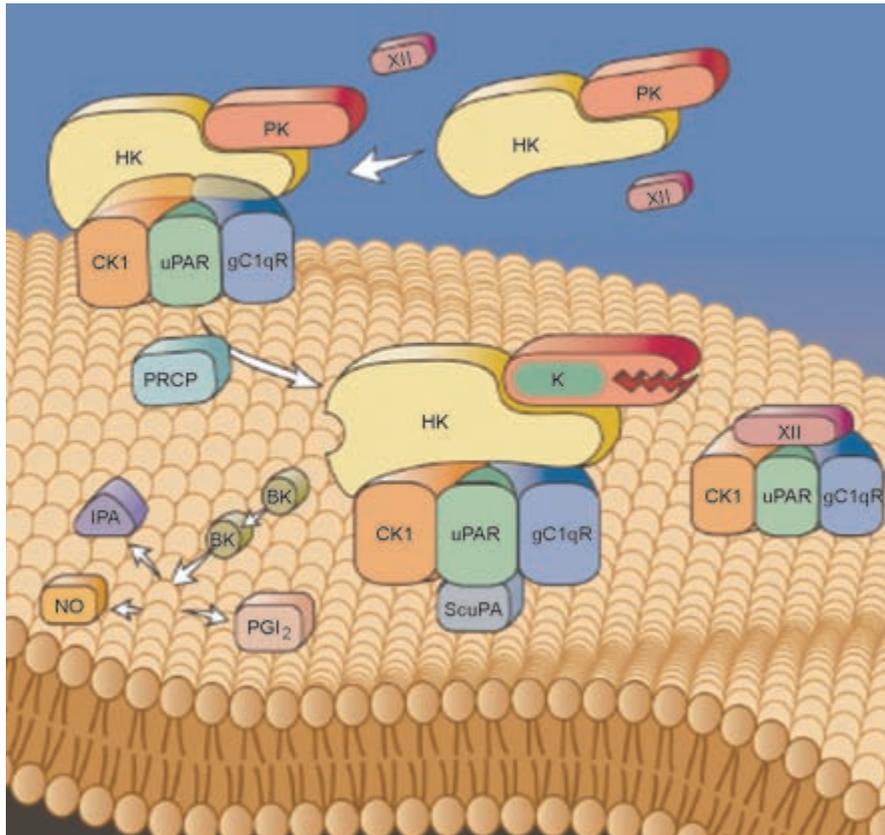


Figura 12. Ensamblaje y activación del sistema caliceína-quinina (KKS) plasmático. La precaliceína (PK: *prekallikrein*) circula formando un complejo con quinínogeno de elevado peso molecular (HK: *high molecular-weight kininogen*) [HK ■ PK]. HK ■ PK interacciona con un receptor multiproteico formado por citoqueratina 1 (CK1: *cytokeratin 1*), receptor de activador de plasminógeno-uroquinasa (uPAR: *urokinase plasminogen activator receptor*) y gC1qR. Las proteínas del receptor de HK ■ PK colocalizan sobre la membrana de las células endoteliales vasculares. Cuando HK ■ PK se une a su receptor, PK es rápidamente convertida a caliceína (K) por la enzima proil-carboxipeptidasa (PRCP), que es un componente constitutivo, activo, de la membrana del endotelio. La caliceína resultante autodigiere a su receptor, HK, liberando bradiquinina (BK). La bradiquinina interacciona con receptores específicos cuya señal induce la producción y liberación de activador tisular de plasminógeno (tPA: *tissue plasminogen activator*) óxido nítrico (NO) y prostaciclina (PGI₂). La caliceína también activa al factor XII de la coagulación, que se une al mismo receptor de HK ■ PK, potenciando la vía intrínseca de la coagulación. ScuPA (*single chain urokinase plasminogen activator*) es un adaptador de uPAR. Modificada de: Alvin H. Schmaier⁴⁷; fig. 1, pág. 1007.

de oxígeno, que potencian la inflamación y provocan lesiones tisulares. El TNF es esencial para la completa expresión inflamatoria; por el contrario, la autolimitación del proceso inflamatorio se caracteriza por una atenuación de la actividad del TNF.

Las quimioquinas, constituyen una familia de pequeñas proteínas proinflamatorias caracterizadas por contener en su molécula cuatro restos de cisteína (Cys) que forman cuatro enlaces disulfuro intracatenarios. Las quimioquinas juegan un papel fundamental en la inflamación por atraer y activar clases específicas de leucocitos, participando en tres de las cinco etapas de la cadena de adherencia leucocítica. En primer lugar, favorecen el rodamiento lento y la adherencia de

los leucocitos al activar las integrinas leucocitarias. Segundo, son potentes quimioattractores que guían a los leucocitos hacia el foco inflamatorio; y por último, activan las funciones efectoras de los leucocitos, incluyendo la producción de productos intermedios reactivos durante el metabolismo del oxígeno y la exocitosis de enzimas hidrolíticas. Las quimioquinas se unen a glicosaminoglicanos y heparina, formando complejos que se creen de gran importancia en su capacidad para atraer localmente a los leucocitos. Hay dos subfamilias estructurales principales, designadas Cys-X-Cys, CXC o subfamilia α , y la subfamilia Cys-Cys, CC o subfamilia β . Linfotactina (C) y fractalquina (CX₃C) representan otras dos familias (**Figura 14**). Los receptores de quimioquinas son

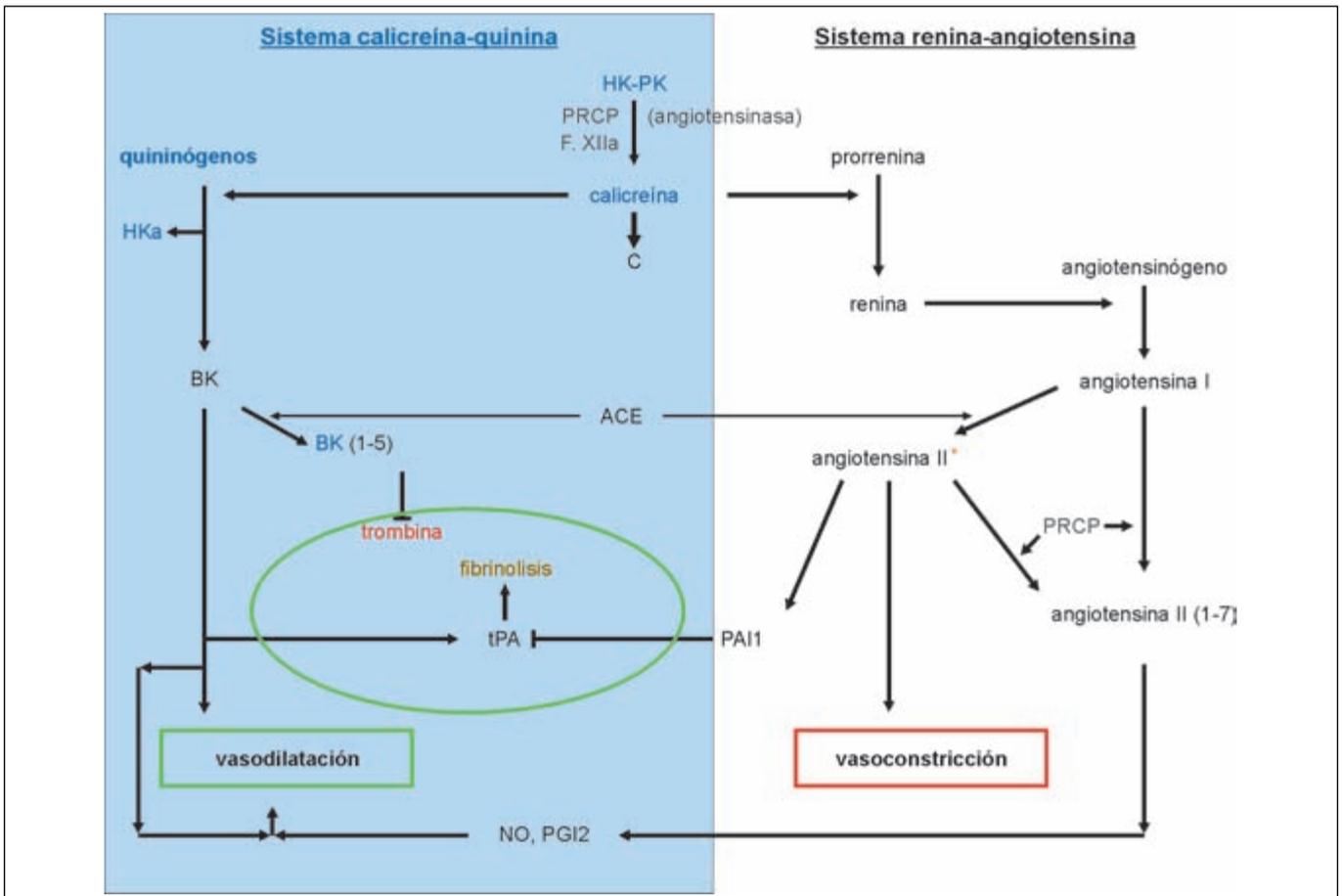


Figura 13. Interacción entre los sistemas caliceína-quinina (KKS) y renina-angiotensina (RAS) plasmáticos. La caliceína convierte prorenina en renina, y la renina tiene la capacidad de convertir angiotensinógeno en angiotensina I. La enzima convertidora de angiotensina (ACE: *angiotensin-converting enzyme*) convierte a la inerte angiotensina I en la vasoconstrictora angiotensina II. La angiotensina II estimula al inhibidor del activador de plasminógeno 1 (PAI1: *plasminogen activator inhibitor 1*) liberado por las células endoteliales. A la vez, ACE degrada la bradiquinina (BK) a bradiquinina (1-5), un péptido con actividad antitrombina. La prolilcarboxipeptidasa (PRCP) es la enzima que degrada la angiotensina II o la angiotensina I, en el péptido vasodilatador angiotensina II (1-7). La angiotensina II (1-7) estimula la producción de óxido nítrico (NO) y de prostaciclina (PGI₂), que potencian los efectos de la BK. PRCP también tiene la capacidad de convertir PK en caliceína. La caliceína formada digiere los quinínogenos para liberar BK y un fragmento (HKa: *kinin-free kininogen*) que tiene propiedades antiproliferativas y antiangiogénicas. Así, PRCP, la misma enzima que degrada la vasoconstrictora angiotensina II, conduce a un incremento en la formación de las vasodilatadoras BK y angiotensina II (1-7). Por último, la BK estimula la producción de activador tisular de plasminógeno (tPA), NO y PGI₂, lo que supone un contrapeso al efecto protrombótico de la angiotensina II. Modificada de: Alvin H. Schmaier⁴⁷; fig. 2, pág. 1008.

miembros de la superfamilia de receptores transmembranares acoplados a proteína G.

IID. La cascada de adhesión leucocitaria

La mayor parte de lo anterior tiene por objetivo reclutar y activar fagocitos en el foco inflamatorio⁵¹. La cascada de adhesión leucocítica es una secuencia de acontecimientos de adhesión y activación que concluye con la extravasación de los leucocitos; ello con la finalidad de que tales células ejerzan sus efectos en

el foco inflamatorio. En dicha cascada pueden distinguirse, al menos, cinco etapas bien definidas: captura, rodamiento, rodamiento lento, anclaje y migración (**Figura 15**). Cada una de ellas es necesaria para el reclutamiento efectivo de los leucocitos, y el bloqueo de cualquiera de ellas disminuye significativamente la acumulación de leucocitos en el tejido lesionado. Tales etapas no representan fases de la inflamación, sino la secuencia de acontecimientos desde la perspectiva de cada leucocito. En cualquier momento determinado las cinco etapas suceden en paralelo, involucrado a diferentes células en el mismo microvaso y al mismo tiem-

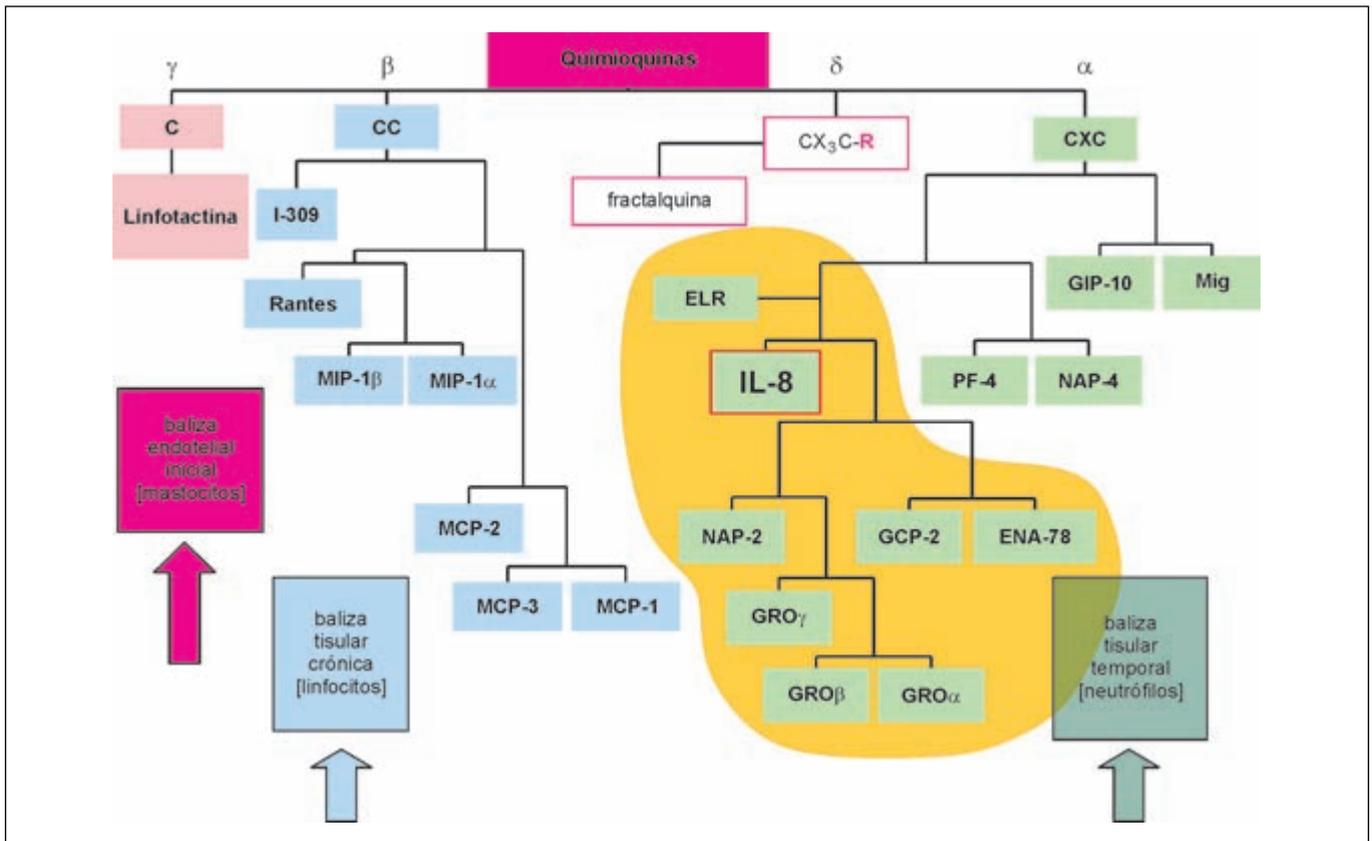


Figura 14. Se han identificado cerca de 50 quimioquinas, proteínas homólogas de 8-10 kDa, que se agrupan en familias sobre la base de la posición relativa de sus cisteínas (Cys o C) en la proteína nativa. En las quimioquinas- α los primeros dos restos Cys están separados por un solo aminoácido (CXC), mientras que en la quimioquinas- β las primeras dos Cys están adyacentes (CC). Las quimioquinas- α que contienen la secuencia ácido glutámico-leucina-arginina inmediatamente antes de CXC son quimiotácticas para neutrófilos, mientras que las que no contienen esta secuencia actúan sobre linfocitos. La quimioquina λ linfotactina tiene solo dos cisteínas en la proteína madura, y la quimioquina CX₃C (δ) fractalquina tiene tres aminoácidos separando las dos primeras cisteínas. Los receptores de quimioquinas son proteínas transmembranaras acopladas a proteína G, que se expresan sobre los diferentes subgrupos de leucocitos. Se han identificado, en humanos, cuatro CXCR, ocho CCR y un CX₃CR.

po. La comprensión del escenario microvascular tiene una proyección terapéutica inmediata: el desarrollo de fármacos antiinflamatorios orientados a interferir con todas y cada una de las etapas señaladas.

El endotelio vascular proporciona una barrera impecable que previene la interacción entre las células circulantes y la pared de vaso. El endotelio está formado por un epitelio escamoso simple que recubre la luz vascular. Juega un papel clave en la mecánica del flujo sanguíneo, en la regulación de la coagulación de la sangre, la adhesión de los leucocitos y el crecimiento de los miocitos, y también sirve de barrera a la difusión transvascular de los líquidos y solutos circulantes. El endotelio, lejos de ser una pared pasiva, es un tejido dinámico que lleva a cabo variadas funciones activas, como la producción, secreción o expresión de sustan-

cia vasoactivas involucradas en la cascada adhesiva, en la hemostasia o en el tono vascular.

La marginación es el proceso en el que los leucocitos circulantes abandonan el eje del flujo, lo que permite iniciar una serie de interacciones —contacto mecánico— entre las células circulantes y el endotelio. Los mecanismos subyacentes de la marginación involucran interacciones entre los leucocitos y los eritrocitos que fluyen por el mismo vaso, de tal manera que los eritrocitos deformados empujan y desplazan a los leucocitos a una posición marginal; ello debido a la menor sección transversal y a la mayor velocidad de flujo de los eritrocitos. La agregación eritrocítica también promueve la marginación leucocítica en los microvasos mayores, dado que los agregados ocupan el centro de la vénula. La marginación reológica no es

crítica para el rodamiento de los leucocitos, dado que los leucocitos abandonan aquellos capilares cuyo diámetro es menor que el de ellos, y el contacto con el endotelio está asegurado. El proceso de captura o atamiento representa el primer contacto de un leucocito con el endotelio activado. La captura ocurre tras la marginación, que permite moverse al leucocito hacia una posición próxima al endotelio, lejos del eje del flujo. La respuesta inflamatoria requiere una activación endotelial previa al inicio de la captura. La P-selectina sobre las células endoteliales es la molécula de adhesión primaria para la captura en inicio del rodamiento. El principal ligando del leucocito para la P-selectina es PSGL-1 (*P-selectin glycoprotein ligand-1*). Además, diferentes estudios sugieren que la L-selectina también juega un papel importante en la captura, aunque su ligando en la célula endotelial no está bien definido. Anticuerpos que bloquean la función de la L-selectina

inhiben el rodamiento en muchos modelos en los que éste es dependiente de la P-selectina.

Una vez que el leucocito ha sido capturado, se mantiene transitoriamente adherido al endotelio venular y comienza a rodar. El rodamiento ocurre a una velocidad similar o menor a la de las células, como los eritrocitos, que circulan libremente en el mismo vaso y en la misma posición radial. La velocidad que separa el rodamiento del flujo celular libre se denomina velocidad crítica o velocidad hidrodinámica. La familia selectina de receptores transmembranares de adhesión media este proceso de rodamiento. La P-selectina es el miembro más importante de la familia en esta etapa. La P-selectina puede soportar la captura y el rodamiento en ausencia de L-selectina. Aunque la P-selectina se identificó inicialmente en las plaquetas, también se encuentra en los cuerpos de Weibel-Palade

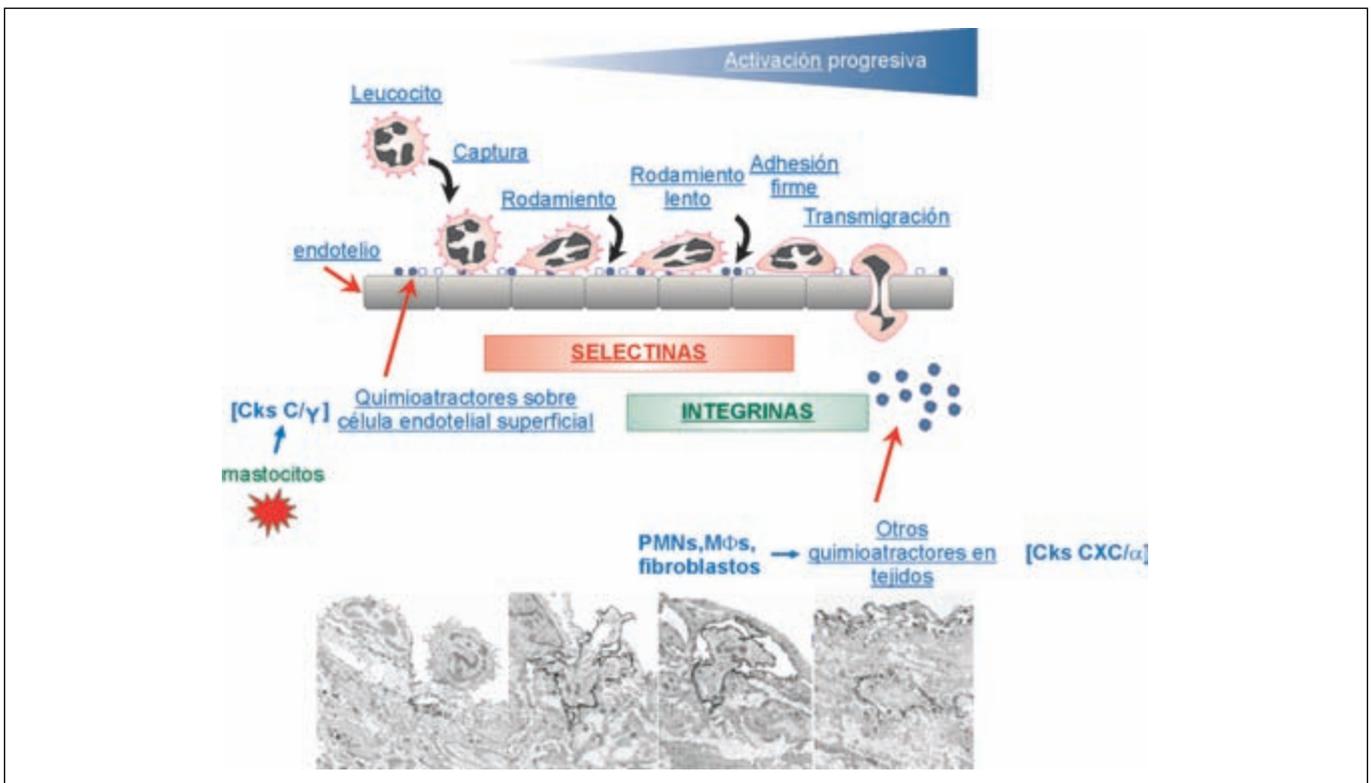


Figura 15. La «cascada de adhesión leucocitaria» es una secuencia de acontecimientos de adhesión y activación que termina con la extravasación del leucocito que, en el espacio intersticial donde tienen lugar la inflamación, ejercerá sus efectos. La cascada de acontecimientos se ha diseado en cinco pasos: captura, rodamiento, rodamiento lento, anclaje y transmigración. Cada uno de ellos es necesario para que el reclutamiento leucocitario en el foco inflamatorio sea efectivo. Los tres primeros pasos dependen, en principio, de selectinas, siendo integrinas las responsables de la conclusión de la secuencia. En resumen, la iniciación del proceso exige la activación del endotelio que, por acción de quimioquinas expone, sobre su superficie, selectinas. Ligandos constitutivamente expresados sobre los leucocitos establecen ligaduras, cada vez más fuertes según avanza la secuencia, con selectinas. La conclusión de la cascada de adhesión depende de las interacciones de integrinas leucocitarias con sus ligandos endoteliales. Completa la captura, el leucocito migra transendotelialmente siguiendo un gradiente haptotático de nuevas quimioquinas. Modificada de: Klaus Ley *et al.*⁵¹

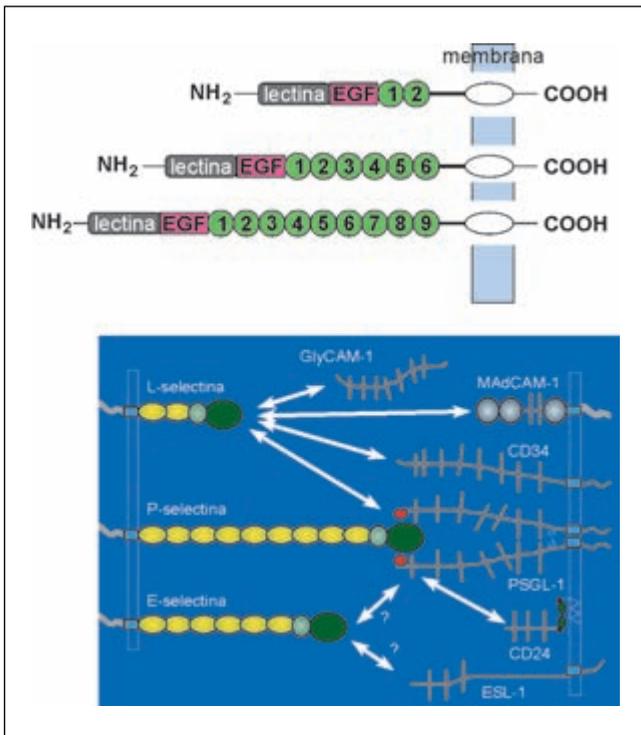


Figura 16. Las selectinas son una familia de moléculas transmembranaras, expresadas sobre la superficie de los leucocitos y de las células endoteliales vasculares activadas. Las selectinas contienen un dominio N-terminal extracelular con homología estructural con las lectinas dependientes de calcio; luego, un dominio homólogo al factor de crecimiento epidérmico (*Epidermal growth factor*, EGF), seguido de dos a nueve dominios repetitivos, similares a secuencias encontradas en proteínas reguladoras del complemento. La selectina atraviesa la membrana mediante un dominio hidrofóbico, al que sigue el extremo C-terminal citosólico. El contacto inicial del leucocito con el endotelio activado se realiza a través de selectinas, lo que actúa a modo de freno; ello enlentece la marcha del leucocito, lo que proporciona el tiempo suficiente para que se establezcan nuevos contactos, cada vez más eficaces aunque todavía reversibles y transitorios, que prácticamente detienen el leucocito sobre el endotelio. L-selectina, la más pequeña de la familia, se encuentra en la mayoría de los leucocitos. P-selectina, la mayor de las selectinas, se expresa sobre células endoteliales y plaquetas activadas. E-selectina se expresa sobre endotelio activado. Durante la respuesta inflamatoria, la adhesión de los leucocitos al endotelio está controlada por la interacción de selectinas vasculares a ligandos glicoproteicos complementarios, especialmente PSGL-1, que presentan estructuras oligosacáridas para los dominios lectina de las selectinas. Enlaces transitorios entre receptores (selectinas) y sus ligandos median los pasos iniciales de la cascada de adhesión. Modificada de: Klaus Ley *et al.*⁵¹

de los endotelios humanos. Tras la agresión tisular, la P-selectina es rápidamente expresada sobre la superficie del endotelio venular, al que le confiere cierta pegajosidad para los leucocitos. PSGL-1 se expresa constitutivamente sobre la superficie de los linfocitos,

monocitos y neutrófilos, por lo que todas estas células ruedan sobre el endotelio. Durante el rodamiento, se forman ataduras entre el endotelio y el borde frontal del leucocito y se rompen las existentes entre la cola del leucocito y su soporte. Mientras tanto, las integrinas leucocitarias mantienen su estado de reposo y sus ligandos inmunoglobulínicos endoteliales mantienen sus niveles de control. Las selectinas de los tipos L y E toman también parte en el proceso de rodamiento. La L-selectina es menos eficaz que la P-selectina, pero en el proceso inflamatorio normal es necesaria para la captura e inicio del rodamiento. Por su parte, la E-selectina es responsable de las interacciones que dictan la transición hacia la etapa de rodamiento lento, que suceden a una velocidad inferior a $10 \mu\text{m s}^{-1}$ y, posiblemente, en la iniciación de la etapa de anclaje o de adhesión firme. La velocidad circulatoria de los leucocitos en el territorio venular es, aproximadamente, $120 \mu\text{m s}^{-1}$; y la velocidad de rodamiento en ese territorio es de, aproximadamente, $20\text{-}40 \mu\text{m s}^{-1}$ ⁵².

El rodamiento lento requiere la expresión de E-selectina sobre las células endoteliales y de integrinas CD18 sobre los leucocitos rodantes, y se ha denominado etapa de rodamiento lento o de frenado para distinguirla del rodamiento rápido que no exige la presencia de citoquinas. El tiempo de tránsito a través del lecho microvascular y, más específicamente, el tiempo de contacto durante el que el leucocito está en íntima relación con el endotelio, parece ser un parámetro clave en la consecución del éxito del proceso de reclutamiento que culmina con la adhesión firme o anclaje. El tiempo de tránsito del leucocito parece que se relaciona con las citoquinas presentes en la superficie endotelial y que son accesibles al leucocito mientras que está rodando. Los leucocitos rodantes son activados por los quimioattractores expuestos sobre la superficie endotelial y a través de señales incitadas por moléculas de adhesión. También es posible que la velocidad de rodamiento pueda tener un efecto independiente del tiempo de tránsito, porque acontecimientos secundarios de acoplamiento (por ej. mediados por $\beta 2$ integrinas) pueden ser incompetentes a menos que los leucocitos permanezcan cierto tiempo en una posición favorable para establecer contactos. Aunque el rodamiento lento hace mucho más eficiente el reclutamiento leucocitario, no es estrictamente requerido, porque altas concentraciones de quimioattractores pueden detener leucocitos en rodamiento rápido.

Se piensa que la mayoría, si no todos, los leucocitos se adhieren únicamente tras haber rodado; la adhesión directa desde el pul de leucocitos en flujo libre es excepcional. El factor principal, aunque no suficiente, lo representan las integrinas de la familia CD18, aunque otras integrinas pueden ser importantes para poner en marcha vías alternativas. La integrina más importante es la LFA-1 (*Lymphocyte function-associated antigen-1*), mientras que otro miembro de la familia, la integrina Mac-1, se requiere en los procesos de activación y de fagocitosis de los leucocitos. Los leucocitos en rodamiento lento no se detienen abruptamente sino que frenan de manera gradual reduciendo progresivamente su velocidad hasta que se detienen y adhieren de manera estable. Esta desaceleración es estrictamente dependiente de integrinas CD18, aunque requieren ser activados, al menos parcialmente, antes de detenerse. Este proceso tiene lugar en, aproximada-

mente, un minuto, y aunque se conoce que está involucrado el receptor IL-8, parece que señales iniciadas por receptores de adhesión también contribuyen a este proceso de reclutamiento leucocitario. Las integrinas CD18 leucocitarias, LFA-1 y Mac-1 (*Macrophage antigen-1*), pueden acoplarse a las inmunoglobulinas endoteliales ICAM-1 e ICAM-2. Una vez adherido, el leucocito migra a través de uniones interendoteliales si existe un gradiente exógeno de quimioattractores, siendo IL-8 y FP los más eficaces.

Las selectinas son una familia de moléculas transmembranaras, expresadas sobre la superficie de los leucocitos y de las células endoteliales activadas (**Figura 16**). Las selectinas contienen un dominio extracelular N-terminal con homología estructural con las lectinas calciodependientes; a continuación muestran un dominio homólogo al factor de crecimiento

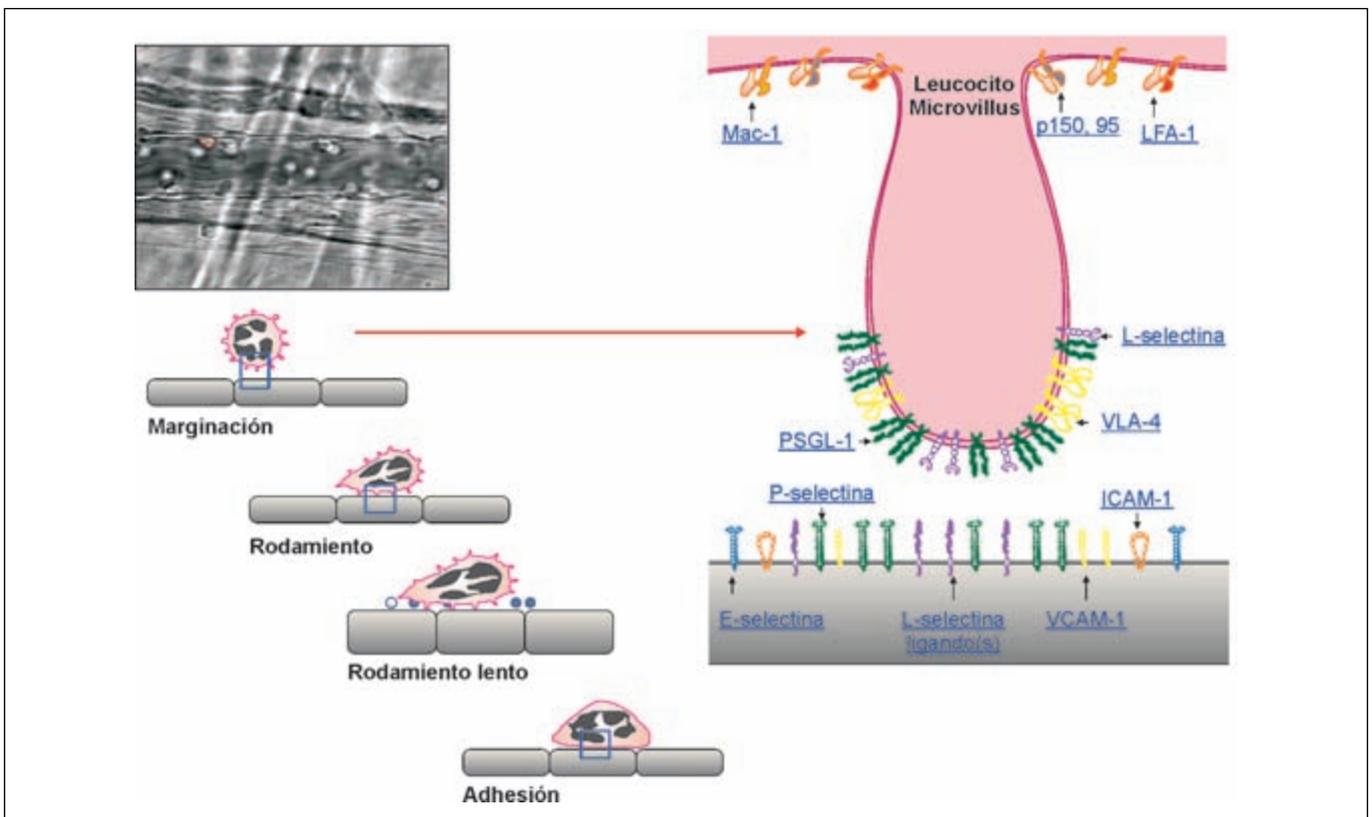


Figura 17. Selectinas e integrinas se disponen estratégicamente sobre la superficie del leucocito. Aquellas moléculas que intervienen en las primeras fases de la cascada de adhesión —ligandos para P-selectina y E-selectina endoteliales; L-selectina leucocitaria que interactuará con ligandos endoteliales, e integrina leucocitaria β_1 (VLA-4) que lo hará con ligandos endoteliales de la familia inmunoglobulínica— se sitúan en la cúspide de los microvilli de la membrana leucocitaria. Las moléculas que participan en las fases tardías —integrinas leucocitarias β_2 (Mac-1, p150-95 y LFA-1)— se ubican en los fondos de las interdigitaciones de los microvilli. Para que este segundo frente alcance sus dianas —ligandos inmunoglobínicos (ICAM-1) sobre el endotelio—, los actores iniciales deben ser desplazados; ello lo realizan citoquinas quimiotácticas, que siegan las interacciones entre las selectinas y sus ligandos. Modificada de: Klaus Ley *et al.* ⁵¹

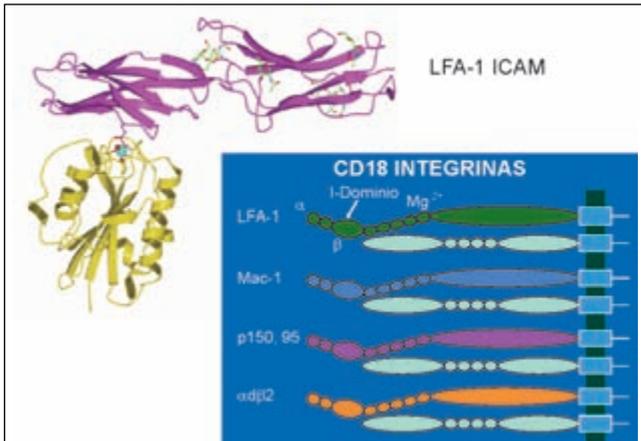


Figura 18. Las integrinas son una gran familia de glicoproteínas heterodiméricas transmembraneras, que anclan las células a las proteínas de la matriz extracelular de los basamentos membraneros o a ligandos sobre otras células. Las integrinas constan de una cadena mayor (α) y otra más pequeña (β). Las integrinas forman varias subfamilias que comparten una subunidad β común, que se asocia con diferentes cadenas α . Integrinas β_2 —Mac-1, p150-95 y LFA-1— se expresan, exclusivamente, sobre leucocitos. El miembro más importante de la subfamilia β_1 es VLA-4. Las integrinas interactúan con ligandos de la superfamilia de las inmunoglobulinas. ICAM-1 es el principal ligando para las integrinas leucocitarias de la subfamilia β_2 , y VCAM-1 para la subfamilia β_1 . Modificada de: Klaus Ley et al.⁵¹

epidérmico y, luego, dos a nueve repeticiones de consenso cuyas secuencias son similares a las encontradas en las proteínas reguladoras del sistema del complemento sérico. Cada uno de estos receptores de adhesión se insertan mediante un dominio hidrofóbico transmembranar que se prolonga mediante una corta cola que representa el extremo C-terminal, citoplasmático, de la molécula. El anclaje inicial de los leucocitos durante la inflamación es abordado por la familia selectina, que logran frenar el movimiento de los leucocitos, a lo largo del endotelio, mediante interacciones adhesivas transitorias y reversibles que, en conjunto, se denomina rodamiento leucocitario. Cada una de las tres selectinas —L, P y E— pueden mediar en el rodamiento si se dan las condiciones apropiadas. La L-selectina es la más pequeña de las selectinas vasculares y se encuentra en la práctica totalidad de los leucocitos. La P-selectina es la mayor de la familia y se expresa en plaquetas y endoteliecitos activados. La E-selectina se expresa sobre células endoteliales activadas por citoquinas.

La más pequeña de las selectinas vasculares —L-selectina, LECAM-1 (*Leukocyte-endothelial cell*

adhesion molecule-1), LAM-1 (*Leukocyte adhesion molecule-1*), Mel-14 (*Melanome antigen-14*), gp90^{mel} (*Glycoprotein 90^{mel}*) o Leu8/TQ-1— es una molécula de 74-100 kDa que se expresa constitutivamente en los extremos de las microprotrusiones (*microvillis*) de las membranas de los granulocitos, monocitos y linfocitos (**Figura 17**). La L-selectina juega un papel primordial en la captura de los leucocitos por el endotelio vascular en las fases iniciales de la cascada de adhesión. Tras la captura, la L-selectina es eliminada de la superficie de los leucocitos tras el estímulo quimioquínico. La L-selectina interactúa con tres contrarreceptores o ligandos: MAdCAM-1 (*Mucosal addressin cell adhesion molecule-1*), GlyCAM-1 (*Glycosilation-dependent cell adhesion molecule-1*) y CD34. La P-selectina es la mayor de las selectinas, con un peso molecular de 140 kDa. Contiene nueve repeticiones de consenso que extienden la molécula hasta 40 nm más allá de la superficie del endotelio. La P-selectina, también denominada CD62P, GMP-140 (*Granule membrana protein-140*), LECAM-3 y PADGEM (*Platelet-activation-dependent granule to external membrane protein*), se expresa en los α -gránulos de las plaquetas activadas y en los gránulos de las células endoteliales. A los pocos minutos del estímulo de las células endoteliales por los mediadores inflamatorios como histamina o trombina, la P-selectina es expuesta en la superficie celular, teniendo una vida corta, aproximadamente diez minutos. IL-1 y TNF- α provocan una segunda respuesta biosintética *de novo* diferida, aproximadamente, dos horas. El ligando primario de la P-selectina es PSGL-1 que se encuentra constitutivamente en los leucocitos. Otros ligandos para la P-selectina son CD24 y otras moléculas no bien caracterizadas. Las interacciones transitorias entre la P-selectina y PSGL-1 permiten el rodamiento leucocitario a todo lo largo del endotelio venular. La P-selectina es responsable, en gran parte, de la fase de rodamiento de la cascada de adhesión leucocitaria. La P-selectina puede también mediar en la captura cuando no hay L-selectina. La E-selectina —ELAM-1 (*Endothelial-leukocyte adhesion molecule-1*), LECAM-2— se expresa sobre la superficie de las células endoteliales en respuesta a la acción de las citoquinas. Los ligandos para la E-selectina no se conocen bien, dudándose de que PSGL-1 y ESL-1 (*E-selectin ligand-1*) participen como tales, y ni siquiera está claro el que el ligando sea una glicoproteína, pues algunos glicolípidos pueden asumir el rodamiento dependiente de

E-selectina. Aunque las selectinas P y E tienen funciones redundantes, diversos estudios indican que la P-selectina es responsable del inicio del rodamiento, mientras que la E-selectina frena al leucocito y lo adhiere.

Durante la respuesta inflamatoria, la adhesión de los leucocitos a las células endoteliales se controla merced al ligamiento de las selectinas vasculares a glicolípidos complementarios. La formación de ligaduras lábiles, transitorias, entre ambos participantes, median los pasos iniciales de la cascada de adhesión. Las tres selectinas pueden reconocer glicoproteínas y/o glicolípidos que contienen el tetrasacárido sialil-Lewis (sialil-CD14). Este tetrasacárido se encuentra en la superficie de todas las células mieloides circulantes y está compuesto por ácido siálico, galactosa, mucosa y N-acetil-galactosamina. No está claro como las selectinas logran interacciones específicas con sus ligandos, dado la estructura hidrocarbonada común. PSGL-1 y CD24 han sido caracterizados como posibles ligandos de la P-selectina. Para la L-selectina se han identificado cuatro posibles ligandos: GlyCAM-1, MAdCAM-1, CD34 y PSGL-1. Se desconocen ligandos específicos de la E-selectina. PSGL-1 es un homodímero formado por dos cadenas polipeptídicas de 120 kDa, constitutivamente expresado en todos los leucocitos y que se encuentra sobre las cimas de sus microvilli. PSGL-1 se liga a la P-selectina para garantizar la fase de rodamiento de la cascada de adhesión.

Las integrinas son una gran familia de glicoproteínas heterodiméricas transmembranares que ligan las células a las proteínas de la matriz extracelular de los basamentos membranares o a ligandos en otras células (**Figura 18**). Las integrinas contienen subunidades grande (α) y pequeña (β) de pesos moleculares de 120-170 kDa y de 90-100 kDa, respectivamente. Algunas integrinas median el reconocimiento y las interacciones celulares directas. Las integrinas contienen sitios de acoplamiento para cationes divalentes (Mg^{2+} y Ca^{2+}) que son necesarios para su función adhesiva. Las integrinas de los mamíferos forman varias subfamilias que comparten subunidades β comunes que se asocian con diferentes subunidades α . Las integrinas del tipo β_2 se expresan exclusivamente sobre la superficie de los leucocitos, y sufren un cambio conformacional secundario a una fosforilación de la subunidad β tras la activación leucocítica por citoquinas. Las inte-

grinas incluyen cuatro heterodímeros diferentes: la integrina β_2 predominante CD11a/CD18 (LFA-1) es crítica en la transmigración de los neutrófilos e importante en la transmigración de otros subtipos de leucocitos; CD11b/CD18 (Mac-1), exclusiva de granulocitos y de monocitos, comparte las funciones de LFA-1 y se almacena en gránulos específicos que son transportados a la superficie del granulocitos tras su activación por moléculas quimioattractoras; CD11c/CD18 (p150, 95) y CD11d/CD18. ICAM-1 (CD54), un miembro de la superfamilia inmunoglobulina de moléculas de adhesión, son los principales ligandos de LFA-1 y de Mac-1. Una mutación en el gen que codifica la molécula β_2 -CD18 resulta en un trastorno genético: deficiencia en la adhesión leucocítica (*Leukocyte adhesion deficiency*, LAD), en la que los pacientes padecen infecciones bacterianas recurrentes debido a la incapacidad para reclutar eficazmente granulocitos en el foco inflamatorio. El miembro más importante de la subfamilia de las integrinas β_1 en los leucocitos es VLA-4 (*Very late antigen*, también denominado CD49d/CD29 y $\alpha_4\beta_1$). VLA-4 se acopla a su ligando VCAM-1, y es el principal responsable para la adhesión de los linfocitos al endotelio vascular y del reclutamiento de los leucocitos en el foco inflamatorio. VLA-4 se liga a fibronectina y a VCAM-1 (CD106), un miembro de la superfamilia de las inmunoglobulinas que se expresa en la superficie de las células endoteliales tras su activación citoquímica.

En resumen, los leucocitos neutrófilos, que han contactado con los edotelocitos a través del sistema de selectinas, son activados inicialmente por el TNF- α y los leucotrienos producidos por los mastocitos y por otros neutrófilos, lo que conduce a la liberación de pequeñas cantidades de elastasa. La elastasa desprende la cubierta antiadhesiva de leucosialina (CD43) que recubre los neutrófilos, lo que permite que sus integrinas se espongan y completen la adhesión y extravasación leucocitaria al formar puentes estables con las proteínas de la matriz extracelular (*Extra-cellular matrix*, ECM). La señal binaria del engarce de las integrinas a la ECM junto con el estímulo producido por el TNF- α y quimioquinas, induce la desgranulación y el estallido respiratorio masivo de los leucocitos, lo que resulta en la liberación de proteinasas —elastasa, catepsina G y proteasa—, proteínas antimicrobianas —BPIP (*Bacterial permeability-increasing protein*), defensinas, serprocidinas y azuricidina— y

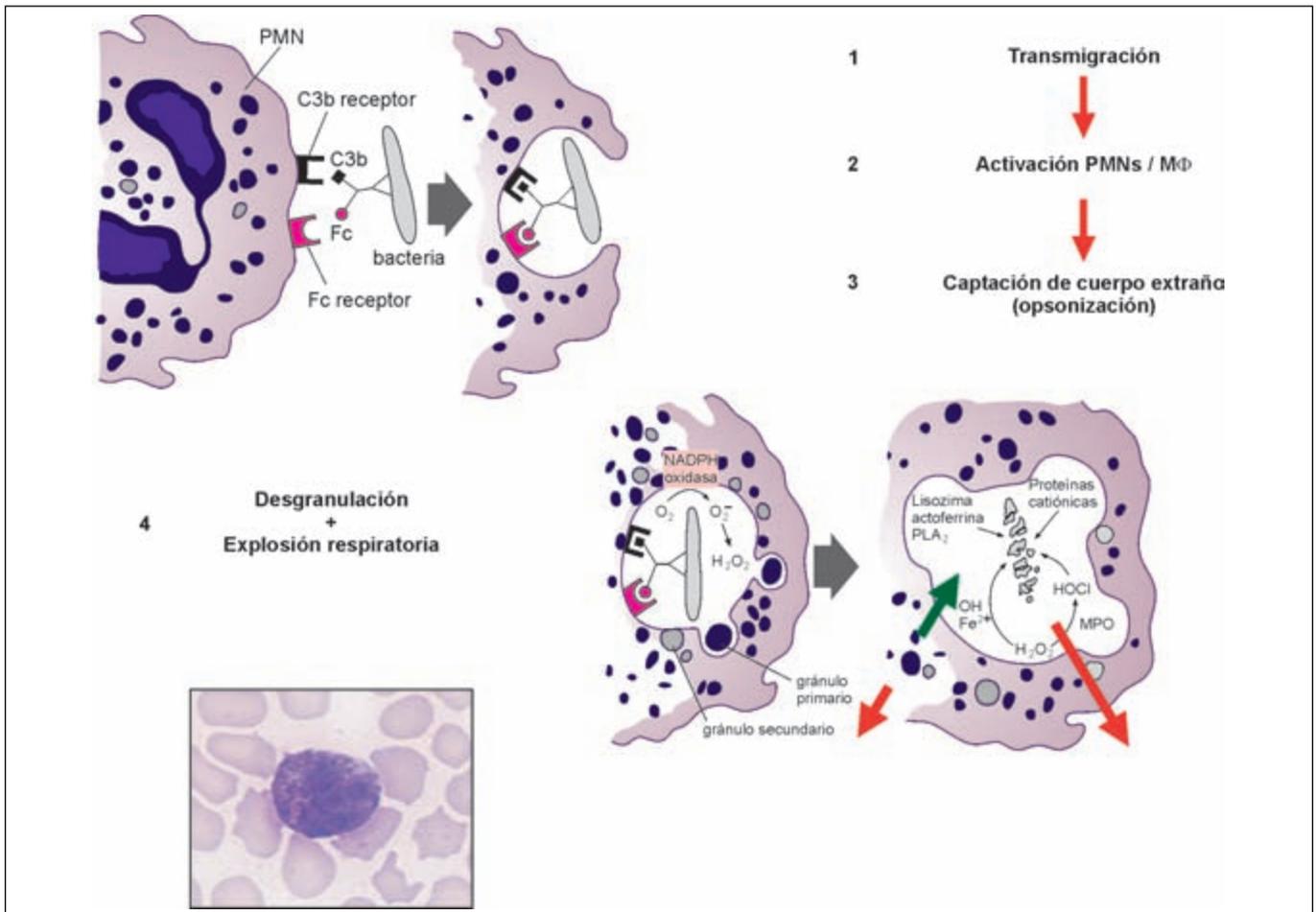


Figura 19. Los fagocitos activados engullen material extraño previamente opsonizado. Una vez formado el fagolisosoma, el leucocito vierte en él productos fuertemente oxidantes —ROS—, péptidos microbicidas e hidrolasas, que destruyen al microorganismo en el confinamiento vacuolar. Sin embargo, tales productos, en principio defensivos, pueden escapar al medio extracelular provocando autolesiones.

oxidantes —peróxido de hidrógeno, hipohaluros y cloraminas—. Los oxidantes activan metaloproteinasas de la matriz (*Matrix metalloproteinase*, MMP) e inactivan los inhibidores de las proteasas, que provocan la destrucción tisular (**Figura 19**). Las MMP activadas inducen la liberación de TNF por los macrófagos y por los monocitos atraídos desde la sangre al tejido por la azuridina liberada por los neutrófilos. El TNF y las quimioquinas liberadas por los macrófagos y monocitos atraen y activan más neutrófilos. Por otro lado, el TNF y las quimioquinas macrofágicas se combinan con prostaglandina E2 (PGE2) y defensinas liberadas por neutrófilos, para reclutar linfocitos; mientras que los leucotrienos ayudan a atrapar células dendríticas presentadoras de antígenos. Y los linfocitos, con la ayuda de productos bacterianos, mantienen y potencian la activación de los macrófagos que secretan pro-

teasas, eicosanoides, citoquinas, especies reactivas de oxígeno y NO⁵³.

Existe un canon de la inmunología para la activación celular: las células B necesitan el emparejamiento receptor-antígeno más señales facilitadoras de las células T; las células T necesitan el emparejamiento receptor-antígeno más señales facilitadoras de las células presentadoras de antígenos (*Antigen presenting cell*, APC), y las APC, incluidos los macrófagos, necesitan citoquinas más productos microbianos, o citoquinas más ligamiento de CD14, o productos microbianos más productos de las células huésped necróticas. La cadena de señales comienza con la activación de mastocitos y neutrófilos, y su activación mantenida condiciona la activación de APC, células T y células B en el proceso de transición durante el que

la respuesta inflamatoria innata evoluciona a respuesta inmunológica adaptativa. La combinación de daño celular e infección mantiene la respuesta inflamatoria que provoca la aparición en escena de la inmunidad adaptativa⁵⁴.

III. La respuesta del organismo

La respuesta de fase aguda (*Acute phase response*, APR)⁵⁵ se refiere a una amplia serie de acontecimientos fisiológicos, que se inician inmediatamente después de que haya tenido lugar una infección o cualquier otro tipo de agresión al organismo. La APR se caracteriza por fiebre, cambios en la permeabilidad vascular y cambios en los perfiles metabólicos de varios órganos. La respuesta se inicia y coordina por diversos mediadores inflamatorios, especialmente citoquinas, y hormonas, fundamentalmente glucocorticoides. Las primeras son liberadas precozmente desde el foco inflamatorio por fagocitos mononucleares, linfocitos y otros tipos células diferenciados activadas, y tienen potentes efectos locales y sistémicos. La cascada de mediadores induce la activación, proliferación, cambios del comportamiento y cambios metabólicos de una serie de células y de tejidos. Todo ello con el objetivo de neutralizar el agente agresor, controlar el proceso inflamatorio y promover el proceso de reparación y, así, iniciar el retorno a la normalidad fisiológica. Es importante considerar la inflamación y la consiguiente respuesta de fase aguda como un proceso homeostático dinámico que involucra a todos los principales sistemas del organismo, a parte de los sistemas inmunológico, cardiovascular y nervioso central (SNC). Normalmente, la APR perdura no más allá de unos pocos días; sin embargo, en casos de inflamación recurrente o crónica, la permanencia aberrante de algunos de los ingredientes de la APR contribuye a erosionar el tejido conduciendo, a la larga, al establecimiento de una patología definida en un determinado tejido, como arteriosclerosis o patologías secundarias a amiloidosis reactiva como en algunas enfermedades neurodegenerativas⁵⁶.

Un aspecto importante de la APR es que altera radicalmente el perfil biosintético hepático. En condiciones normales el hígado produce, de manera estable, un espectro característico de proteínas plasmáticas. Muchas de ellas tienen importantes funciones, requiriéndose elevadas concentraciones de tales proteínas ante situaciones de un estímulo inflamatorio. Aunque la mayoría de las proteínas o reactantes de fase aguda son sintetizadas por los hepatocitos, algunas de ellas lo son por otros tipos celulares, que incluyen monocitos, células endoteliales, fibroblastos y adipocitos. Se denominan proteínas negativas de fase aguda aquellas cuya concentración plasmática decrece durante la APR; ello para incrementar la capacidad hepática para sintetizar proteínas inducidas de fase aguda.

De los muchos factores solubles que inician y mantienen una respuesta inflamatoria, varios de ellos regulan específicamente la transcripción de proteínas APR. Entre aquellos, IL-1, IL-6, IL-11, TNF- α , factor inhibidor leucémico (*Leukemia inhibitory factor*, LIF), factor de crecimiento transformante β (*Transforming growth factor- β* , TGF- β), factor neurotrópico ciliar (*Ciliary neurotrophic factor*, CNTF), interferón γ (IFN- γ), oncostatina M, ácido retinoico o glucocorticoides, como factores positivos, y ácido okadaico o insulina, como factores negativos. Un hecho importante de la APR es que IL-1 y TNF- α estimulan, vía SNC, la síntesis de glucocorticoides por las glándulas suprarrenales; lo que resulta en una potenciación cooperativa con IL-1 y TNF- α , al estimular los glucocorticoides la síntesis de proteínas APR por el hígado. Este efecto es coincidente con la atenuación de la síntesis de IL-1 por los macrófagos, creándose un mecanismo de retroalimentación entre el sistema inmunológico y el SNC para reducir la síntesis *de novo* de citoquinas proinflamatorias. La expresión de los genes APR está regulada por factores nucleares (NF) de transcripción: NF- κ B, C/EBP β (*CCAAT/enhancer binding protein beta*), AP-1 y factor APR, así como por el receptor de glucocorticoides y factores de transcripción hepatoespecíficos como los factores nucleares hepatocíticos (*Hepatic nuclear factor*, HNF). Existe, además, una regulación postranscripcional: acortamiento de la vida media de los mARNs (ARN mensajeros) de ApoAI (Apolipoproteína A1) y de albúmina, mediada por TGF- β ⁵⁷, en el caso de las proteínas APR negativas, y una estabilización de los mARNs de las proteínas APR inducidas, por citoquinas y glucocorticoides.

Las proteínas APR desempeñan un amplio abanico de actividades que contribuyen a la defensa del huésped: neutralizan a los agentes inflamatorios, ayudan a minimizar la extensión del daño tisular y partici-

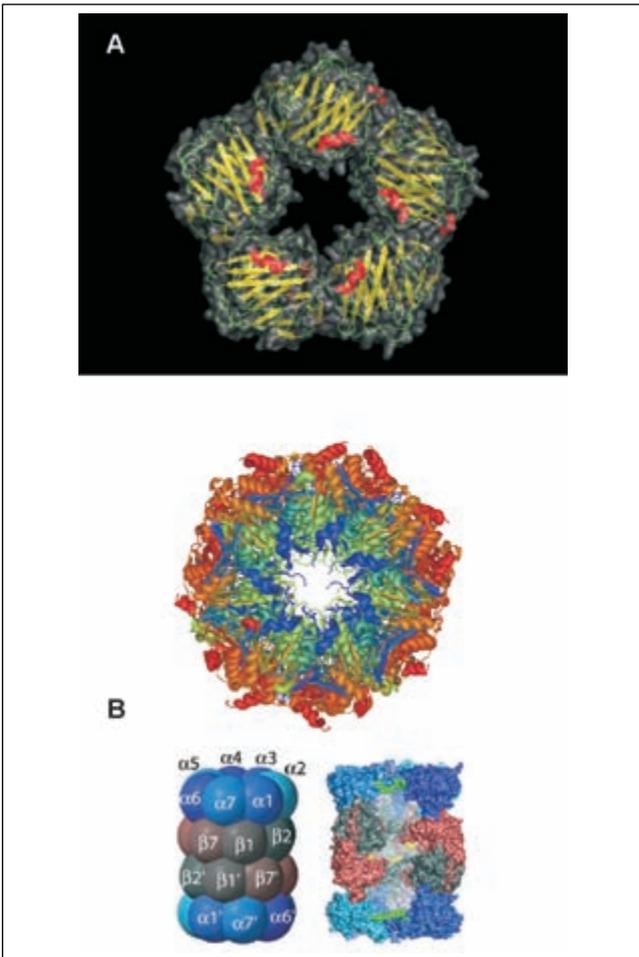


Figura 20. A. Las pentraxinas son una familia de proteínas caracterizadas por la dependencia del calcio para atrapar ligandos. El nombre se refiere a la simetría radial de la molécula formada por cinco monómeros que conforman un anillo de 95Å de diámetro y 35Å de profundidad. Divididas en dos grupos, cortas y largas, a las primeras pertenecen la proteína C reactiva y el componente amiloide P sérico —dos proteínas de fase aguda—, y a las segundas la pentraxina 3 (una molécula inducida por IL-1, reguladora del complemento y buen índice plasmático del infarto del miocardio (Tomada de: Emsley J, White HE, O'Hara BP, Olivia G, Srinivasan N, Tickle IJ, Blundell TL, Pepys MB, Wood SP (1994) Structure of pentameric human serum amyloid P component. *Nature* **367**: 338-45. B. El proteosoma es otra estructura en «donut», en este caso formada por cuatro heptámeros que conforman un espacio para el procesamiento de proteínas (Tomada de: Rechsteiner M, Hill CP (2005) *Trends in Cell Biology* **15**: 27–33).

pan en la reparación y regeneración tisular. El incremento en la concentración plasmática de muchos de los componentes del sistema del complemento sérico y su posterior activación son esenciales para la acumulación local de fagocitos y de proteínas plasmáticas, y participan en la destrucción de los agentes infecciosos, en la eliminación de cuerpos extraños y de restos celu-

lares, y en la reparación del tejido lesionado⁵⁸. Los componentes del sistema de la coagulación, como el fibrinógeno, juegan un papel esencial en la promoción de la cicatrización. Los inhibidores de las proteinasas neutralizan a las hidrolasas lisosómicas liberadas tras la infiltración de monocitos y de neutrófilos activados, controlando así la cascada proinflamatoria dependiente de hidrolasas. Proteínas acopladoras de metales quelan el hierro perdido durante la inflamación impidiendo su captación por las bacterias, y actúan como exclusas de radicales libres de oxígeno. En general, las proteínas APR son inducidas entre el 50% y varias veces sus niveles normales, pero las denominadas proteínas APR principales multiplican x1000 su producción. Este grupo incluye el componente amiloide sérico A (*Serum amyloid A protein*, SAA) y proteína C reactiva (*C-reactive protein*, CRP), en humanos, o su homólogo componente amiloide sérico P (*Serum amyloid P component*, SAP) en el ratón.

Las proteínas APR principales en los mamíferos incluyen SAA y CRP o SAP, dependiendo de la especie animal. CRP y SAP son pentraxinas, proteínas con una organización homopentamérica característica (**Figura 20**). Generalmente solo una de esas proteínas es una proteína APR en una especie determinada: en humanos, la concentración plasmática de SAP, en condiciones normales es, aproximadamente, 30 $\mu\text{g ml}^{-1}$, sin que se modifique en situaciones inflamatorias; no es, por tanto, una proteína APR en humanos. Por el contrario, la concentración sérica de CRP (1 $\mu\text{g ml}^{-1}$) puede incrementar más de mil veces en situaciones inflamatorias y dependiendo de la gravedad del cuadro; un comportamiento que la identifica como una verdadera proteína APR en humanos. La inducción específica de especie de CRP o de SAP durante la APR, sugiere que la exigencia de una pentraxina debe tener responder a alguna actividad fisiológica común, tal vez su capacidad de acoplarse a la cromatina. La proteína C-reativa, que debe su nombre a su capacidad de ligar el polisacárido C del *Pneumococcus*, presenta una estructura anular («donuts») pentamérica y actúa como una opsonina para las bacterias, parásitos y complejos inmunológicos, y puede activar la vía clásica del complemento sérico; también puede modular el comportamiento de neutrófilos, monocitos y plaquetas; además, se une a histonas y a pequeñas partículas de ribonucleoproteínas nucleares (*Small nuclear ribonucleoprotein particle*, snRNPs). SAP, que presen-

ta una estructura similar a un par de «donuts» apilados, es la forma circulante del componente amiloide P, que es un componente de todos los depósitos amiloides. Es un componente normal de los basamentos membranares y comparte las funciones de la CRP. IL-6 sola o en combinación con IL- β provoca un incremento significativo e inmediato de mRNA-CRP en hepatocitos humanos en cultivo.

Proteína amiloide A sérica es el nombre colectivo dado a una familia de proteínas polimórficas codificadas por multitud de genes en diversas especies de mamíferos. Las SAA son pequeñas apolipoproteínas que se asocian rápidamente durante la APR con lipoproteínas de densidad elevada (*High-density lipoprotein 3*, HDL3). Aunque no está bien establecida la significación funcional de la asociación entre SAA y HDL3, el desplazamiento o reemplazamiento de la ApoAI por SAA puede interferir el metabolismo del colesterol. SAA puede representar una señal por la que HDL3 se reconduce hacia los macrófagos en vez de a los hepatocitos (la señal prohepatocítica sería ApoAI), lo que favorecería el engullimiento y retirada de restos lipídicos procedentes de células dañadas en el proceso inflamatorio. Aunque no está bien comprendido su papel en la APR, el SAA inhibe la fiebre y la síntesis de PGE₂ en el hipotálamo, inducidas por IL- β y TNF- α ; también inhibe la activación de las plaquetas inducida por trombina y la explosión respiratoria de los fagocitos activados. Por otro lado, la presencia mantenida de las proteínas APR causada por un proceso inflamatorio crónico puede acarrear consecuencias desastrosas: los depósitos amiloides que se acumulan en bazo, riñón o hígado –amiloidosis reactiva o secundaria-, producidos en enfermedades crónicas o recurrentes como tuberculosis, lupus eritematoso o artritis reumatoide, están compuestos, principalmente, de amiloide A derivado, probablemente por proteólisis, del precursor SSA. El componente amiloide P, derivado de SAP, está asociado con placas de amiloide A y otras formas de depósitos amiloides, incluidas las presentes en la enfermedad de Alzheimer. Y la asociación de SSA con HDL3 sugiere la participación de las proteínas APR en la arteriosclerosis.

Otra proteína APR es la fosfolipasa A₂ (PLA₂). PLA₂ hidroliza fosfolípidos generando ácido araquidónico, y cataliza el paso limitante en la formación de eicosanoides. En humanos se han identificado dife-

rentes formas de PLA₂: varias formas citosólicas, y dos formas secretadas (PLA₂ soluble: sPLA₂), los tipos I secretado por el páncreas y II producido por diferentes tipos celulares, especialmente los hepatocitos. La forma soluble hepática es estimulada por IL-1 β , IL-6 y TNF- α .

Los fosfolípidos (*Phospholipid*, PL) están asimétricamente distribuidos entre las láminas interna y externa de las membranas biológicas: la lámina externa contiene primariamente esfingomielina (*Sphingomyeline*, SM) y fosfatidilcolina (*Phosphatidyl choline*, PC), mientras que la lámina interna incluye fosfatidilserina (*Phosphatidyl serine*, PS) y fosfatidiletanolamina (*Phosphatidyl ethanolamine*, PE). El mantenimiento de esta asimetría es dependiente de energía y requiere trifosfato de adenosina (*Adenosine triphosphate*, ATP). En ausencia de ATP, se produce un intercambio entre los fosfolípidos de las láminas interna y externa («flip-flop»). La PLA₂ (*Phospholipase A₂*) pancreática, soluble, estrechamente relacionada con la sPLA₂ II en términos de estructura y de función, es capaz de hidrolizar los PL de la lámina interna pero no los de la externa; por su parte, la sPLA₂ II es capaz de interactuar con los PL situados en la lámina externa cuando la membrana está sometida al fenómeno de flip-flop. Es posible que esta capacidad de la sPLA₂ II de discernir entre membranas normales y membranas con flip-flop sea aprovechado por proteínas APR para atacar células dañadas. Tras la interacción con sPLA₂ II, las células incrementan el contenido de liso-PL (PL que han perdido un ácido graso), especialmente liso-PC, en la lámina membranar externa. Esta modificación, junto con la presencia de PS y de PE, distorsiona el empaquetamiento de los PL en la estructura membranar externa y expone sitios, hasta entonces crípticos, que permiten el atracamiento de la CRP sobre la superficie externa de la membrana celular. Una vez anclada, la CRP induce, a través de la vía clásica, la activación del complemento que, a su vez, potencia el influjo de fagocitos al foco inflamatorio (por generar C5a) y favorece la fagocitosis de las células que incorporan sobre su superficie CRP y complemento⁵⁹ (**Figura 21**).

CRP y sPLA₂ han permanecido muy conservadas durante la evolución de los vertebrados y pueden actuar conjuntamente para favorecer la fagocitosis de células comprometidas metabólicamente. Presumible-

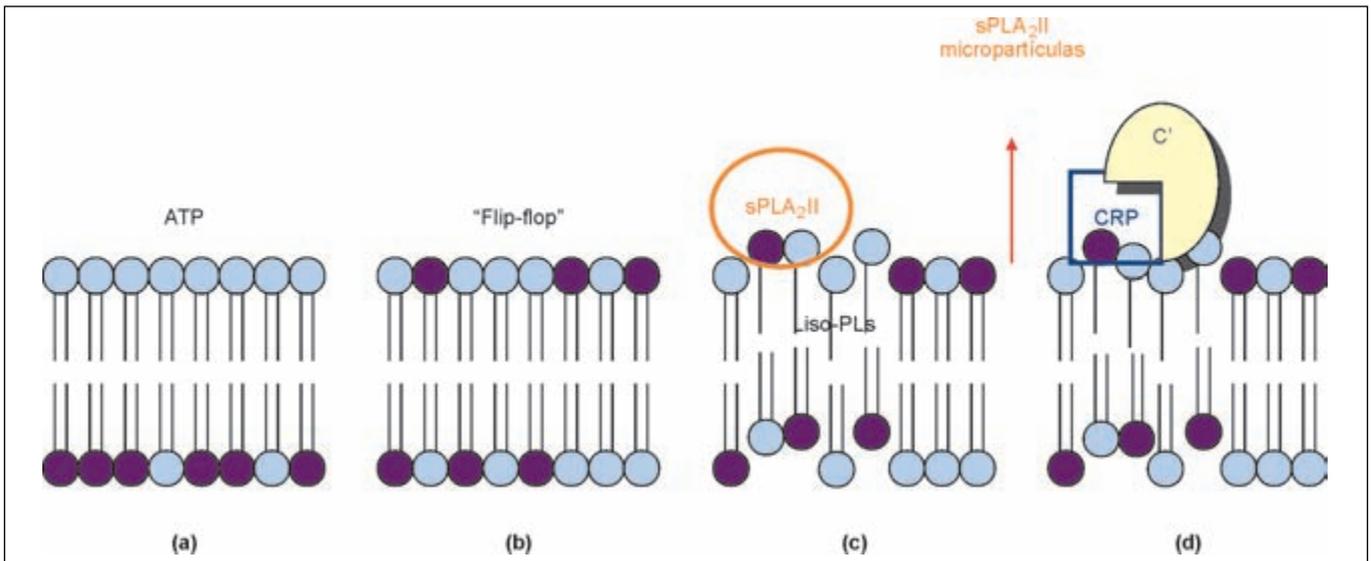


Figura 21. Papel hipotético de la fosfolipasa A_2 secretada tipo II ($sPLA_2$) y de la proteína C reactiva (CRP) en la promoción de la fagocitosis de las células lesionadas durante la fase inicial del proceso inflamatorio. (a) Fosfatidilserina (PS) y fosfatidiletanolamina (PE) —●— solo se localizan en la lámina interna de la bicapa fosfolipídica que conforma la membrana celular. Esta asimetría es un proceso dependiente de energía que consume ATP y está controlada por transportadores específicos —flipasas— que gobierna la translocación hacia el interior (flip) o hacia el exterior (flop). (b) Los fosfolípidos (PLs) de las membranas dañadas pierden dicha simetría («flip-flop») como consecuencia de la baja concentración de ATP intracelular. (c) Las membranas flipflopeadas, pero no las membranas normales, son susceptibles a la hidrólisis por $sPLA_2$, que genera lisofosfolípidos (LPLs) en la membrana externa. (d) La presencia de LPLs en tal localización crea lugares de acoplamiento para la CRP, que activa, sobre la superficie celular y a través de la vía clásica, al complemento (C'). Por su parte, el exceso de aminofosfolípidos acumulado en la capa externa se resuelve mediante su eliminación en forma de micropartículas (MPs) procoagulantes. La participación de las MPs en la coagulación viene respaldada por el fenotipo del síndrome de Scott, un raro trastorno de la coagulación en el que la exposición de PS y la extrusión de esos fragmentos de membrana son deficientes (Modificada de: Erik Hack *et al.*⁵⁵; fig. 1, pág. 112).

mente este mecanismo ha evolucionado para retirar células isquémicas y detritus tisulares de las heridas a efectos de permitir una rápida reparación del tejido lesionado. Sin embargo, la inhibición de la activación del complemento parece que reduce la necrosis tisular, por ejemplo tras un infarto del miocardio. Es posible que la acción combinada de $sPLA_2$, CPR, complemento y fagocitosis, en los tejidos dañados, no haya conseguido la suficiente fineza para discriminar entre células dañadas reversible o irreversiblemente. Por ello, las correlaciones clínicas entre la activación de $sPLA_2$, CPR y complemento e IL6, observadas en varias enfermedades, incluidas sepsis, artritis o infarto del miocardio, pueden reflejar un mecanismo patogénico de base que contribuye a la inflamación y, a la postre, al daño tisular. Con todo, un número de proteínas APR son capaces de inhibir la acción de los anteriores actores. Además, componentes destacados de la APR son proteínas microbicidas⁶⁰.

Durante la situación de sepsis se produce una marcada elevación de adrenomedulina (AM) en el plasma

de los pacientes. AM se produce como prohormona cuyo procesamiento origina dos péptidos: AM y PAMP (*Pathogen-associated molecular pattern*). AM comparte homología con CGRP y amilina, y circula preferentemente vehiculado por una proteína (*AM-binding protein*, AMBP-1) identificada como el factor H del sistema del complemento, un inhibidor de las vías clásica y alternativa de la cascada del complemento. AM y PAMP inducen la producción de MIF (*Macrophage migration Inhibitory factor*) y de IL-6, dos factores moduladores, y deprimen la expresión de $TNF-\alpha$, proinflamatorio; por otro lado, son potentes moléculas antimicrobianas, cuyo precursor, producido en epitelios, mucosas y neutrófilos, está bajo control de IL-1 y activación de $NF-\kappa B$. AM comparte la capacidad microbicida los péptidos antibióticos de los eucariotes superiores.

La diversidad de péptidos antimicrobianos descubiertos es tan grande —cerca de 500—, que es difícil categorizarlos excepto sobre la base de sus estructuras secundarias. El principio estructural primario es la

capacidad de la molécula para adoptar una forma en la que grupos de aminoácidos catiónicos e hidrofóbicos se organicen espacialmente en sectores discretos de la molécula (diseño anfipático). Para actuar aprovechan el talón de Aquiles de las membranas procarióticas. Las membranas de las bacterias se organizan de tal manera que la zona más externa de la bicapa, la superficie expuesta al medio ambiente, está ampliamente poblada de lípidos con cabezas fosfolípídicas polares (cargadas negativamente). Por el contrario, la lámina

externa de los eucariotes está compuesta, principalmente, de lípidos sin carga neta (en los mamíferos, colesterol); la práctica totalidad de las cabezas polares se congregan en la lámina interna, cara al citoplasma. El modelo que explica la acción de la mayoría de los péptidos antimicrobianos es el de Shai-Matsuzaki-Huang⁶¹ (SMH) o modelo de envoltura —las moléculas peptídicas acaban por envolver y «asfixiar» al microorganismo— y/o poro tipo «donut» —las moléculas perforan la pared bacteriana—, que pre-

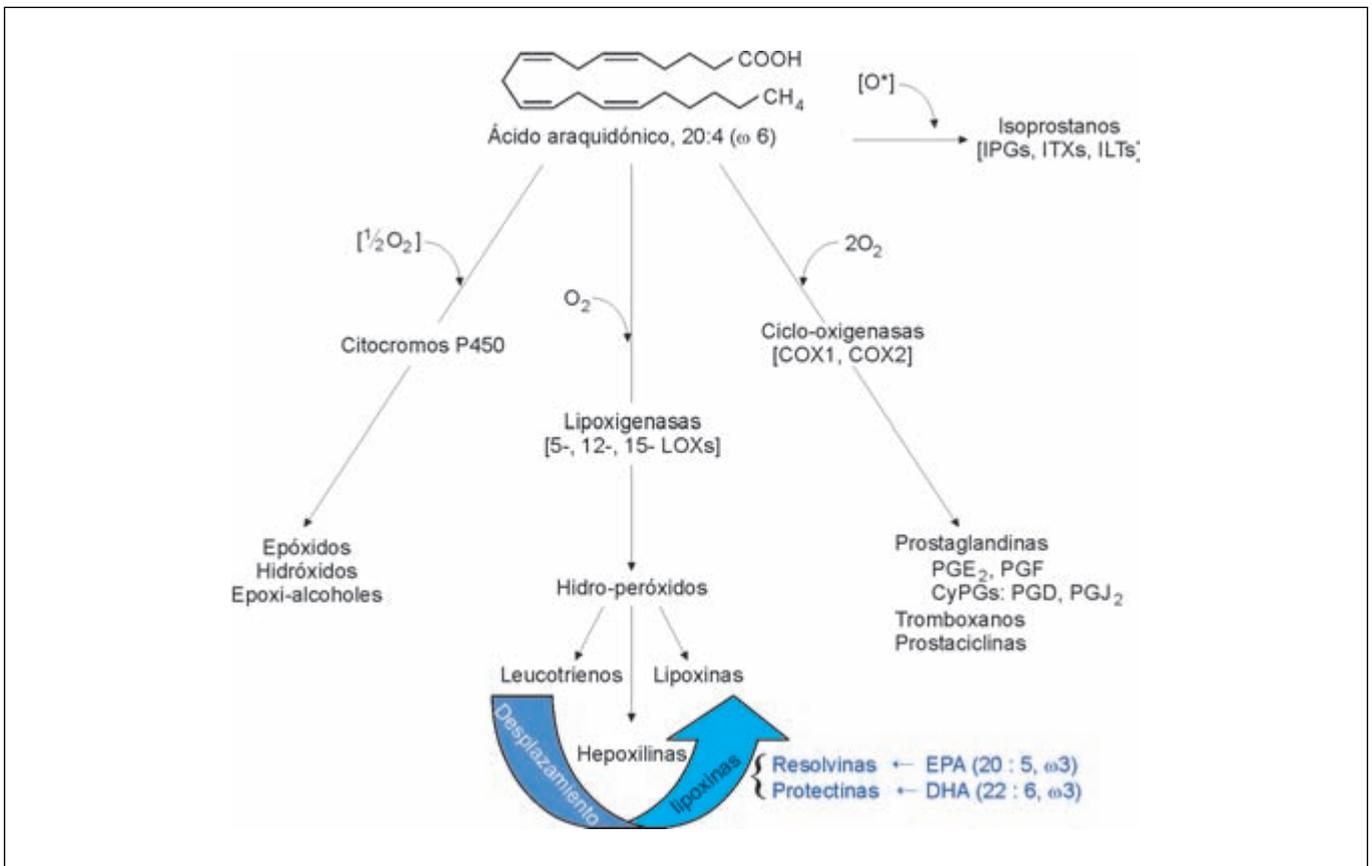


Figura 22. Las prostaglandinas (PG) son pequeñas moléculas lipídicas que regulan numerosos procesos orgánicos. La producción de PG comienza con la liberación de ácido araquidónico o eicosanoico de los fosfolípidos (PL) de las membranas celulares, por acción de la fosfolipasa A₂ en respuesta a estímulos inflamatorios. El ácido araquidónico es convertido a PGH₂ por las enzimas ciclo-oxigenasas COX-1 y COX-2 (sintasa de prostaglandina-endoperóxido H). Se considera que COX-1 se expresa constitutivamente en la mayoría de los tejidos y actúa para mantener procesos homeostáticos (ej. secreción de moco o función renal). COX-2, por el contrario, es una enzima inducible y está involucrada, primariamente, en la regulación de la inflamación. Está en discusión una tercera forma (COX-3). La vía COX da lugar a prostaglandinas, tromboxanos y prostaciclina. Prostaciclina y derivados ciclopentanona-PG (cyPG) —PGD₂ y su metabolito PGJ₂— son eficaces antiinflamatorios, mientras que las PG clásicas —PGE₂ y PGF_{2α}— y tromboxanos son proinflamatorios. El ácido araquidónico puede ser metabolizado a través de otras dos vías enzimáticas: lipoxigenasas dan lugar a los hidroperóxidos leucotrienos y lipoxinas; y citocromo P450 forma derivados epóxidos. Mientras que los leucotrienos son potentes proinflamatorios, las lipoxinas frenan el proceso inflamatorio. Durante el desarrollo del proceso inflamatorio se produce un desplazamiento hacia lipoxinas; ello mediante la reorientación del metabolismo hidroperóxido hacia intereses antiinflamatorios bajo la dirección de los productos de la vía COX. Existe una cuarta vía metabólica del ácido araquidónico, no enzimática, dependiente de la producción de radicales libres de oxígeno [O*] por los fagocitos activados, que da lugar a isoprostanos. Últimamente se ha descubierto que resolvinas y protectinas, derivados de dos ácidos grasos de la serie ω3 —ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA)— son potentes agonistas de las lipoxinas como antiinflamatorios.

supone la interacción del péptido con la membrana, seguido del desplazamiento de los lípidos membranares, alteración de la estructura membranar y, en ciertos casos, entrada del péptido en el interior celular. En general, los péptidos que operan según el modelo SMH destruyen microbios a concentraciones micromolares. Epitelios, mucosas y fagocitos humanos producen defensinas tanto constitutivamente como inducidas por citoquinas, y como otros péptidos microbicidas no inducen resistencia bacteriana, son poderosos adyuvantes y solapan acciones con las citoquinas.

Por otro lado, el hígado es el principal órgano de aclaramiento de fármacos de la circulación y expresa numerosas enzimas metabolizadoras de fármacos (*Drug-metabolizing enzymes*, DMEs), incluido el citocromo P450 (CYP), flavina-monooxigenasa (FMO) y muchas otras que trabajan como captadores y extrusores que influyen de manera importante en la disposición y catabolismo de fármacos. La regulación de enzimas de la familia CYP han sido estudiadas desde hace décadas en modelos animales de enfermedad infecto/inflamatoria; la mayor parte de las enzimas y sus actividades son reprimidas, lo que puede conducir a una disminución del aclaramiento de fármacos y, ello, a incrementos en los niveles de los compuestos en plasma y a la subsecuente toxicidad. Por el contrario, la represión de CYP puede proteger de la toxicidad de aquellos compuestos que son bioactivados por esas enzimas. Ello hace que este nuevo aspecto de la incidencia de la inflamación sobre el sistema CYP deba incluirse en el estudio de la respuesta de fase aguda, siendo las CYP proteínas negativas de fase aguda⁶².

III. Autorregulación del proceso

Poco después de iniciarse los ciclos proinflamatorios descritos, se accionan una serie de frenos en los que las lipoxigenasas son piezas importantes. El araquidonato liberado de los neutrófilos sirve de sustrato a la 5-lipoxigenasa de los propios neutrófilos para generar el proinflamatorio leucotrieno B4. Sin embargo, cuando los neutrófilos infiltran los tejidos, también ceden araquidonato a estos, donde las células expresan 15-lipoxigenasa. La 15-lipoxigenasa produce lipoxinas a partir del araquidonato. Las lipoxinas son una clase de eicosanoides oxidados que se acoplan a recep-

tores cuya señal bloquea el influjo de neutrófilos. Los neutrófilos también pasan a otras células un metabolito intermedio de la 5-lipoxigenasa: leucotrieno A4, al que la 15-lipoxigenasa convierte también en lipoxina. De esta manera, interacciones intercelulares favorecen una transición en el perfil de los productos del araquidonato: desde los proinflamatorios leucotrienos a los derivados antiinflamatorios de la clase ciclopentanonas (*Cyclopentanone prostaglandin*, CyPGs: PGF_{2g}, PGA₁ y PGD₂), que inhiben la actividad, no la producción, de los factores de transcripción AP-1, STAT (*Signal transducer and activator of transcription*) y NF-κB, y a las lipoxinas (**Figura 22**). Por su parte, nuevas familias de mediadores químicos —resolvinas y protectinas— derivados del ácido eicosapentanoico (EPA, 20:5) y del docosahexanoico (DHA, 22:6) —ambos ácidos grasos poliinsaturados pertenecientes a la serie ω-3— emergen, junto con las lipoxinas, como potentes reguladores del proceso inflamatorio. También, fosfolípidos de las membranas de las células endoteliales vasculares, oxidados por los ROS producidos tras la activación de los fagocitos, atemperan la expresión de moléculas de adhesión⁶³.

A la vez, productos microbianos y citoquinas inducen la producción de ciclooxigenasa 2 (COX₂) por los macrófagos⁶⁴. La COX₂ convierte araquidonato a prostaglandina E2 (PGE₂), que incrementa la permeabilidad vascular y, con ello, el escape del líquido intravascular hacia el intersticio tisular (edema). Sin embargo, cuando la concentración local de PGE₂ incrementa consigue un efecto inhibitorio de la COX₂ y de la 5-lipoxigenasa, a la vez que induce la expresión de 15-lipoxigenasa en los neutrófilos. Tal efecto, diferido, desplaza el metabolismo del araquidonato hacia la formación de lipoxinas en los propios neutrófilos. De esta manera, tras varias horas de acciones la señal proinflamatoria inicial de la PGE₂ se torna en una señal antiinflamatoria⁶⁵.

Después del potasio, ATP es la molécula intracelular más abundante. Se conocen bien sus funciones como fuente de energía, como cofactor y como sustrato de un vasto número de reacciones, incluso de su papel como neurotransmisor. Por su parte, ADP (*Adenosine diphosphate*), AMP (*Adenosine monophosphate*) y adenosina, subproductos del metabolismo de ATP, también muestran una serie de efectos bioquímicos y fisiológicos, primariamente como men-

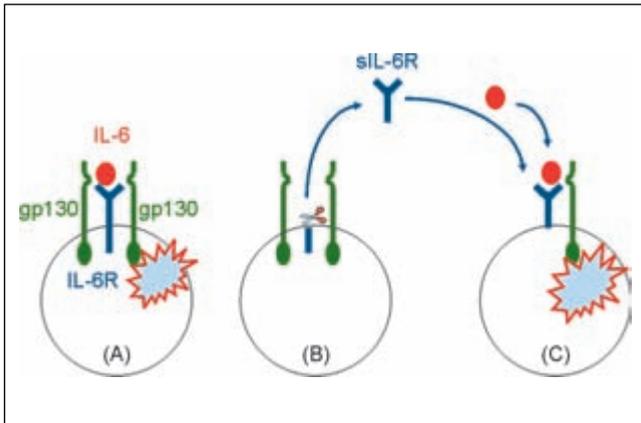


Figura 23. Transeñalización. Vía clásica de interacción IL-6/IL-6R/gp130, y generación de sIL-6R que, tras acoplarse con su ligando, activa células que solo expresan una cadena gp130. Modificada de: Stefan Rose-John *et al.*⁶⁸, fig. 1, pág. 228.

sajeros intercelulares. La adenosina puede generarse a partir de nucleótidos de adenina, bien intracelularmente como producto de la desfosforilización de AMP o en el medio extracelular como resultado de la desfosforilización de AMP por ectonucleotidas. Ratones privados de ectonucleotidasa CD39 hiperreaccionan a diferentes agresiones cutáneas, y los que carecen de receptores purinérgicos A2a sucumben a dosis subletales de microbios. Tales observaciones sugieren que CD39 degrada ATP extracelular y ADP secretado por células activadas o liberado desde células dañadas, generando adenosina que actúa suprimiendo la respuesta inflamatoria de las células vecinas⁶⁶.

Mecanismos contrarreguladores, evolutivamente muy conservados, limitan normalmente la respuesta inflamatoria aguda y previenen la difusión de los mediadores inflamatorios al torrente circulatorio. Células inmunocompetentes activadas liberan receptores truncados —receptores solubles de TNF (sTNFR)—, que captan TNF libre circulante y neutralizan sus acciones proinflamatorias y potencialmente tóxicas. Otros factores contrarreguladores son el antagonista del receptor de IL-1 y el receptor señuelo IL-1R tipo 2. Por su parte, se producen inactivadores del complemento sérico y citoquinas antiinflamatorias, como la prototípica IL-10 y el TGF- β , que inhiben específicamente la liberación de TNF y de otros mediadores proinflamatorios. Glucocorticoides adrenales, adrenalina, hormona estimulante melanocítica- α (*Melanocyte stimulating hormone*, α -MSH) y otras clásicas hormonas de estrés (ej. espermina) inhiben la

síntesis de citoquinas; ello, dentro de las interacciones o interfaz inmunoneuroendocrina⁶⁷.

Las citoquinas de la familia IL-6 actúan vía de complejos receptores que contienen, al menos, una subunidad de la proteína de transducción de señales gp130. La familia comprende IL-6, IL-11, CNTF, cardiotrofina-1 (CT-1), LIF, neuropoyetina (NPN), oncostatina M (OSM), IL-27 e IL-31. Sobre las células diana, IL-6 se asocia con un dímero de gp130 e, inmediatamente, se inicia la cascada de señales intracelulares (**Figura 23**). Gp130 se expresa en prácticamente todas las células del organismo; sin embargo, IL-6R (*IL-receptor*) se expresa principalmente en hepatocitos —induce la señal APR—, neutrófilos, monocitos/macrófagos y algunos linfocitos. Además, existe una forma soluble de IL-6R (sIL-6R) que se produce por dos mecanismos: procesamiento alternativo del mRNA correspondiente, o por proteólisis parcial del IL-6R transmembranar. Lo interesante de sIL-6R es que es capaz, unido con su ligando IL-6, de estimular células que sólo expresan gp130; un proceso denominado transeñalización. IL-6 desempeña una serie de actividades que son críticas para resolver la inmunidad innata y/o promover la adquirida. La transición entre inmunidad innata y adquirida es un acontecimiento central en la resolución de cualquier situación inflamatoria, y la alteración de la capacidad reguladora de la IL-6 puede distorsionar la respuesta inmune y condicionar el comienzo de trastornos crónicos o autoinmunes. La IL-6, a través de su capacidad de transeñalización, orquesta el reclutamiento leucocitario, su activación y su eliminación apoptótica, y a la vez, mediante la regulación de la secreción de citoquinas, abre el camino a la fase inmunoadquirida⁶⁸.

Por otro lado, la inflamación en los tejidos periféricos altera la señalización neuronal en el hipotálamo, habiéndose identificado bases moleculares comunes para la comunicación en neuronas y en células inmunocompetentes. Por ejemplo, las neuronas cerebrales pueden sintetizar y expresar TNF e IL-1, y esas citoquinas pueden participar en la comunicación neuronal. Esta comunicación es bidireccional, porque las citoquinas pueden inducir la liberación de glucocorticoides y, a su vez, los glucocorticoides suprimen la síntesis continuada de citoquinas. Además, las células inmunocompetentes pueden producir neuropéptidos, acetilcolina y otros neurotransmisores (**Figura 24**).

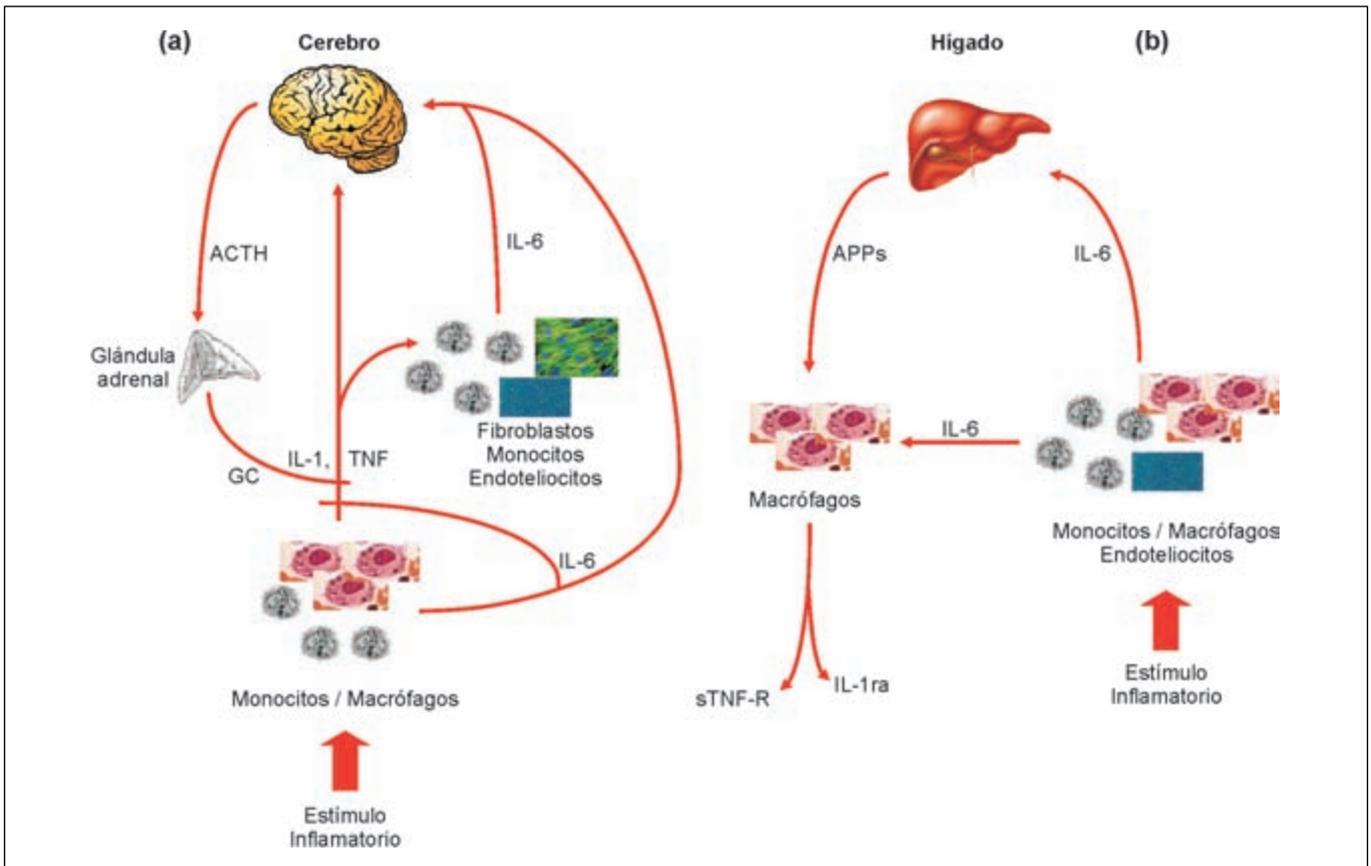


Figura 24. Descripción de los lazos de retroalimentación negativa que pueden operar durante la inflamación. (a) Citoquinas (IL-1 y TNF) producidas por monocitos/macrófagos activados estimulan el cerebro, que responde produciendo ACTH que, subsiguientemente, induce la liberación de glucocorticoides (GC) desde la glándula adrenal. GC e IL-6 suprimen la producción de IL-1 y de TNF. (b) IL-6 producida por macrófagos y otras células activadas, induce la síntesis hepática de proteínas APR (APP). Las APP, en cooperación con IL-6, inducen la producción de antagonista del receptor de IL-1 (IL-1ra), y la liberación, por siega de la secuencia epimembranar, de receptores de TNF solubles (sTNF-R). IL-1ra y sTNF-R bloquean el efecto de los respectivos ligandos.

La mejor comprensión de los mecanismos básicos que regulan la inflamación ha permitido identificar un mecanismo neural que inhibe la activación de los macrófagos a través de la señal parasimpática. Se denomina vía o «reflejo antiinflamatorio colinérgico»⁶⁹; ello porque la acetilcolina, principal neurotransmisor parasimpático, desactiva a los macrófagos a ella expuestos (**Figura 25**). El nervio vago inerva los principales órganos, incluyendo aquellos que albergan al sistema reticuloendotelial (hígado, pulmones, bazo, riñones e intestino). La activación experimental de la vía antiinflamatoria colinérgica, mediante la estimulación eléctrica directa de las fibras vagales eferentes, inhibe la producción de TNF en hígado, bazo y corazón, y atenúa la concentración sérica de TNF durante la endotoxemia. Por su parte, la vagotomía exagera la respuesta del TNF al estímulo inflamatorio y sensibiliza a los efectos letales de la endotoxina. El

encaje entre el sistema nervioso colinérgico y el sistema inmunológico innato es un receptor presente en la superficie de los macrófagos: receptor nicotínico de acetilcolina sensible a la α -bungarotoxina. La exposición de macrófagos humanos —pero no de monocitos circulantes— a nicotina o a acetilcolina inhibe la liberación de TNF, IL-1 e IL-18 en respuesta a endotoxina. Los macrófagos tisulares, pero no los monocitos circulantes, producen la mayoría del TNF que aparece en la circulación sistémica durante una respuesta inflamatoria excesiva. La interacción entre el receptor colinérgico en los macrófagos y su ligando, inhibe la síntesis de citoquinas proinflamatorias (TNF, IL-1 e IL-18), pero no las citoquinas antiinflamatorias (IL-10) (**Figura 26**). La acetilcolina inhibe la expresión de la proteína TNF en macrófagos, pero no la producción del mRNA correspondiente, lo que indica que la activación del receptor colinérgico transduce señales intracelulares

que inhiben la síntesis de citoquinas en un estadio post-transcripcional. Desde una perspectiva simple existen razones por las que una vía antiinflamatoria con base neural es ventajosa. La trama antiinflamatoria difusible, que incluye glucocorticoides, citoquinas antiinflamatorias y otros mediadores humorales es lenta, difusa, no integrada y dependiente de gradientes de concentración. Por el contrario, el reflejo antiinflamatorio colinérgico es discreto y localizado en los tejidos donde la invasión y la lesión se produjeron (**Figura 27**).

El sistema nervioso central recibe señales sensoriales desde el sistema inmunológico a través de rutas humorales y neurales. El sistema inmunológico funciona como un sexto sentido que detecta la invasión microbiana y produce moléculas que trasladan esta información al cerebro. TNF y otros mediadores inmunológicos pueden acceder a los centros cerebrales carentes de la barrera hematoencefálica, lo que ocurre en la región circunventricular cerebral. Esta ruta humoral de comunicación entre los sistema inmunológico y nervioso ha sido involucrada en el desarrollo de la fiebre, de la anorexia y de la activación de la respuesta hipotálamo-hipofisaria a la infección y al

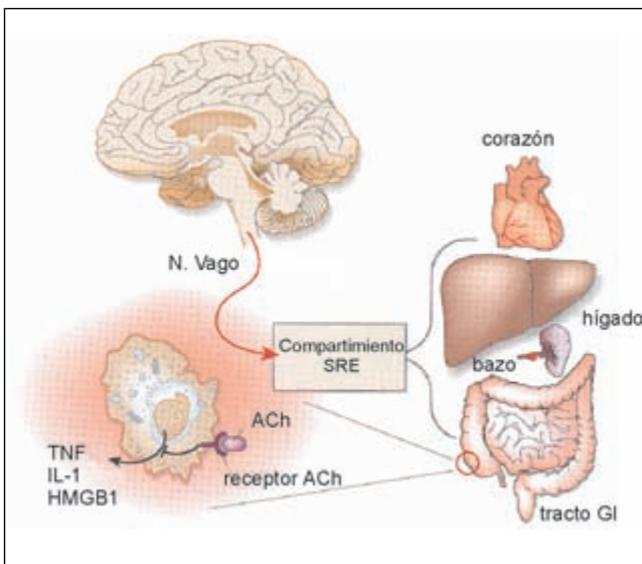


Figura 25. La vía antiinflamatoria colinérgica. La activación eferente en el nervio vago conduce a la liberación de acetilcolina (ACh) en el tejido reticuloendotelial, que incluye hígado, corazón, bazo y tracto gastrointestinal. ACh interactúa con receptores nicotínicos sensibles a α -bungarotoxina sobre los macrófagos; interacción que inhibe la liberación de TNF- α , IL-1, HMGB1 y otras citoquinas. Modificada de: Kevin J. Tracey⁶⁹; fig. 1, pág. 855.

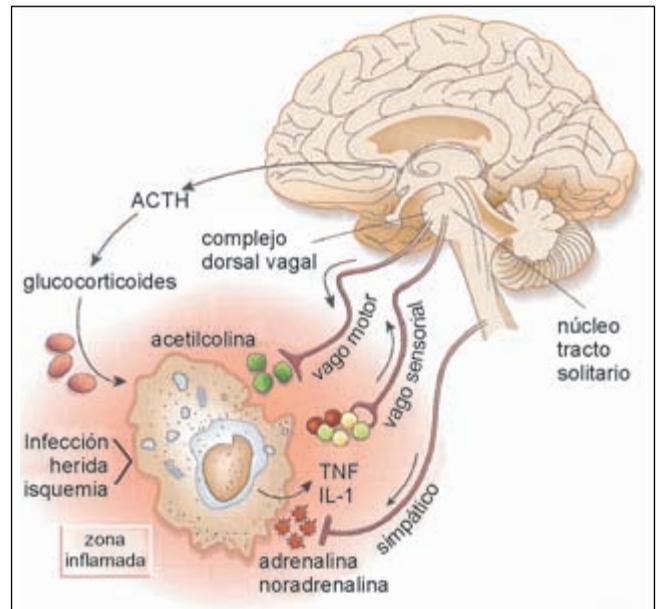


Figura 26. Circuitería del reflejo inflamatorio. Sustancias inflamatorias producidas en el foco inflamatorio activan señales aferentes que son conducidas al núcleo del tracto solitario; subsiguientemente, la activación vagal eferente inhibe la síntesis de citoquinas a través de la vía colinérgica antiinflamatoria: reflejo inflamatorio. La información puede llegar también al hipotálamo y al complejo dorsal del vago, lo que estimula la liberación de ACTH, que activa la vía humoral antiinflamatoria. La activación del sistema nervioso simpático por respuestas de ansiedad o al dolor o a través de señales directas desde los núcleos cerebrales indicados, pueden incrementar las concentraciones locales de catecolaminas que ayudan a suprimir la inflamación. Modificada de: Kevin J. Tracey⁶⁹; fig. 3, pág. 857.

estrés. La liberación de citoquinas en el foco inflamatorio activa fibras sensitivas que ascienden en el vago hasta sinapsar en el núcleo del tracto solitario, y un incremento de las señales vagales eferentes suprime, como se ha indicado, la liberación de citoquinas en la periferia a través de la vía antiinflamatoria colinérgica que activa receptores nicotínicos en los macrófagos.

El reflejo antiinflamatorio se describe como localizado, rápido y discreto; pero puede igualmente inducir respuestas antiinflamatorias humorales sistémicas. Ello ocurre porque la activación del nervio vago puede ser transferida a la formación reticular medular, al *locus caeruleus* y al hipotálamo, lo que conduce a una liberación incrementada de ACTH (*Adrenocorticotropic hormone*) por la hipófisis anterior. Pero la producción de citoquinas en los tejidos causa dolor, lo que proporciona otro mecanismo para transferir información desde el sistema inmunológico al cerebro.

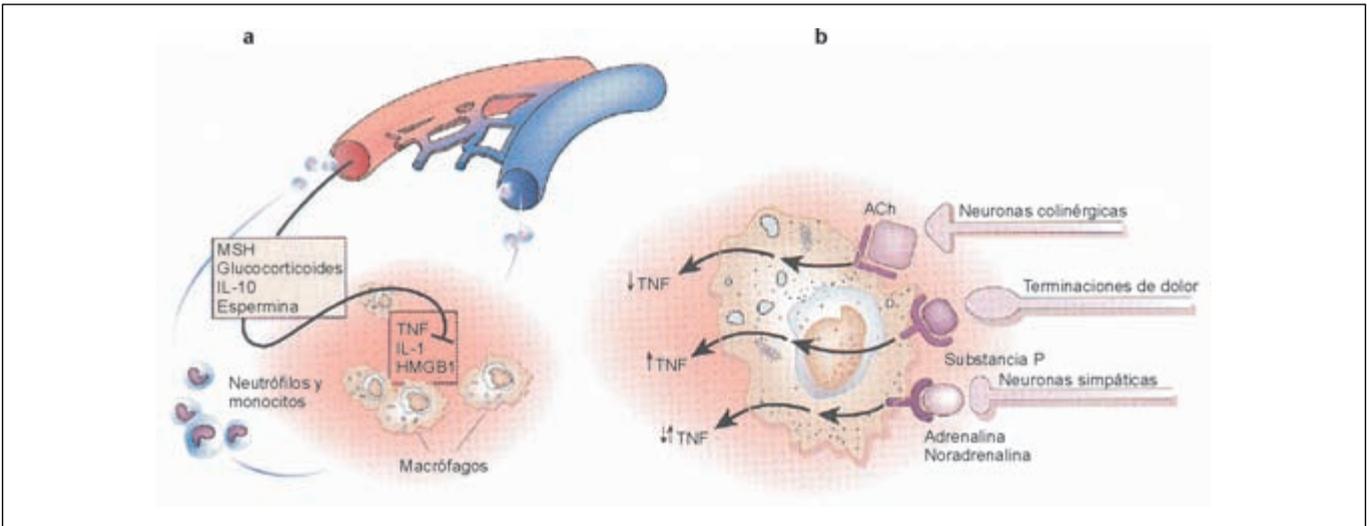


Figura 27. Vías antiinflamatorias difusibles *versus* neurales. (a) Vías difusibles. La circulación vehicula células inflamatorias (monocitos y neutrófilos) y citoquinas a y desde el foco inflamatorio. Las respuestas dependen del gradiente de concentración, son lentas y no están integradas. Las sustancias inflamatorias producidas en el foco inflamatorio (TNF- α , IL-1, HMGB1) difunden hacia el torrente circulatorio, y las hormonas y las citoquinas antiinflamatorias (glucocorticoides, α -MSH, IL-10, espermina) difunden a la zona lesionada. (b) Vías neurales. La regulación antiinflamatoria de los macrófagos tisulares es local, rápida e integrada a través del CNS. La ACh inhibe la liberación de TNF- α por los macrófagos. Adrenalina y noradrenalina predominantemente inhiben la liberación de TNF- α , pero pueden, en determinadas circunstancias, liberar TNF- α por los macrófagos. La sustancia P, un neuropéptido, puede estimular la síntesis de citoquinas y amplificar la respuesta inflamatoria local a la vez de mediar en la sensación dolorosa. Modificada de: Kevin J. Tracey⁶⁹; fig. 2, pág. 856.

Dolor y estrés resultan en un incremento de adrenalina y noradrenalina que puede inhibir también la activación macrofágica y suprimir la síntesis de TNF y otras citoquinas. La elevada actividad simpática y el incremento resultante de las catecolaminas estimulan la liberación, dependiente de receptores β -adrenérgicos, de IL-10, una potente citoquina antiinflamatoria. Así, los efectos antiinflamatorios de los sistemas nerviosos simpático y parasimpático se comprometen sinérgicamente para asegurar este objetivo.

III. Microorganismos e inmunidad innata*

La palabra alemana «toll» tiene una traducción poco fiable: fantástico, disparatado o asombroso. Christiane Nüsslein-Volhard y Kathryn Anderson utilizaron por vez primera esa palabra, en un contexto científico, para nominar a un gen que descubrieron en un barrido analítico del genoma de *Drosophila*; el gen responsable de un fenotipo que pasó a denominarse *Toll*. Aquel trabajo pionero, publicado en 1984⁷⁰, iden-

tificaba un grupo de diez genes; todos ellos producían fenotipos similares, denominados grupo dorsal. Las mutaciones por defecto de cualquiera de tales genes resultan en el fracaso en la diferenciación en elementos que conforman el patrón axial dorsoventral, lo que conduce a una casi total letalidad embrionaria. Durante los diez años siguientes todos los genes del grupo dorsal fueron clonados, lo que permitió completar el esquema de cómo se organiza el proceso morfogénético en la mosca. Poco después de la fertilización, una señal restringida al polo ventral activa una cascada de proteasas en la que el miembro terminal —Easter— procesa al precursor inactivo de Spätzle, un ligando de Toll, un receptor transmembranar de la clase I (receptores con un sencillo dominio transmembranar). Mediante este mecanismo se activa Toll en posición ventral en el embrión; ello causa la relocalización de un factor de transcripción —factor Dorsal— desde posición ventral a otra dorsal. El gradiente ventrodorsal formado de este factor de transcripción y la información contenida en este gradiente morfogénético se utilizan para dirigir, subsecuentemente, la diferenciación del citado eje corporal⁷¹.

* La disección de los mecanismos involucrados en la inmunidad innata ha dado lugar a una «sopa de letras» que se resume en la **Tabla III**.

ASC:	<i>Apoptosis-associated speck-like protein</i>	NALPs:	<i>NACHT, LRR, and Pyrin domain-containing proteins</i>
BIR:	<i>Baculovirus inhibitor of apoptosis protein repeat</i>	NBD:	<i>Nucleotide-binding domain</i>
CARD:	<i>Caspase-activating & Recruitment domain</i>	NBD-LRR:	<i>NBD & LRR</i>
CATERPILLER:	<i>CARD, Transcription enhancer, R[<i>purine</i>]-binding, Pyrin, and Lots of leucine repeats</i>	NEMO:	<i>NF-κB essential modulator</i>
CIAS:	<i>Cold-induced auto-inflammatory syndrome</i>	NIK:	<i>NF-κB -inducing kinase</i>
CIITA:	<i>[Major histocompatibility complex (MHC)] Class II transcriptional activator</i>	NLR:	<i>NOD-like receptors</i>
DAI:	<i>DNA-dependent activator of IFN-regulatory factors</i>	NOD:	<i>Nucleotide-binding oligomerization domain</i>
HET-E:	<i>Incompatibility locus protein from Podospora anserina</i>	PYD:	<i>Pyrin domain</i>
ICE:	<i>IL-1β-converting enzyme (Nombre actual: caspase 1)</i>	PAMP:	<i>Pathogen-associated molecular patterns</i>
I κ B:	<i>Inhibitor of NF-κB</i>	PRR:	<i>Pattern-recognition receptors</i>
IKK:	<i>IκB kinase</i>	RLR:	<i>RIG-like receptors</i>
IL:		RIG:	<i>Retinoic acid-inducible gene</i>
INF- β :	<i>Interferon beta</i>	RIPs:	<i>Receptor-interacting proteins</i>
IPAF:	<i>ICE-protease activating factor</i>	RLR:	<i>RIG-like receptors</i>
IRAKs:	<i>IL-1R1-associated kinases</i>	SOCS:	<i>Suppressors of cytokine signalling</i>
IRFs:	<i>Interferon-response factors</i>	TABs:	<i>TAK-associated binding proteins</i>
JNK:	<i>C-Jun N-terminal kinase</i>	TANKs:	<i>TRAF-family-member associated NFκB activator</i>
LBP:	<i>LPS-binding protein</i>	TAKs:	<i>Transforming growth factor β-activated kinases</i>
LIF:	<i>Leukocyte inhibitor factor</i>	TBKs:	<i>TANK-binding kinases [También conocida como NAK]</i>
LRR:	<i>Leucine-rich repeat</i>	TIR:	<i>Toll / Interleukine-1 receptor homologous region</i>
MDA:	<i>Melanoma differentiation-associated protein</i>	TIRAP / Mal:	<i>TIR-domain-containing adaptor protein / MyD88-adaptor-like protein</i>
MAPKs:	<i>Mitogen-activated protein (MAP) kinases</i>	TLR:	<i>Toll-like receptors</i>
MyD88:	<i>Myeloid differentiation primary-response protein 88</i>	TNF:	<i>Tumor necrosis factor</i>
NACHT:	<i>NAIP, CIITA, HET-E, TP and TP1</i>	TOLLIP:	<i>Toll-interacting protein</i>
NAD:	<i>NACHT-associated domain</i>	TP:	<i>Telomerase-associated protein</i>
NAIPs:	<i>Neuronal apoptosis inhibitory proteins</i>	TRAFs:	<i>TNFα-receptor-associated factors.</i>
NAK:	<i>NF-κB-activating kinase</i>	TRAM:	<i>TRIF-related adaptor molecule</i>
		TRIF:	<i>TIR-domain-containing adaptor protein inducing interferon-β</i>
		UBCs:	<i>Ubiquitin-conjugating enzymes</i>
		UEVs:	<i>Ubiquitin-conjugating enzyme E variants</i>

Tabla III. «Sopa de letras».

La secuencia de Toll, determinada en el año 1988⁷², reveló una estructura tripartita: una región N-terminal extracelular que contiene series en tándem de un corto motivo rico en leucina —repetición rica en leucina (LRR)—; una estructura helicoidal monocatenaria transmembranar, y un dominio C-terminal citosólico íntimamente emparentado con el dominio C-terminal del receptor de interleuquina-1 (IL-1R) de los vertebrados⁷³ (Figura 28⁷⁴). Ello sugirió que tal dominio endocelular —región homóloga del receptor Toll y del

receptor de IL-1 (TIR)— debería estar involucrado no solo en el contexto restringido del desarrollo de los insectos sino también en la generación de la respuesta inicial a la infección por los inmunocitos humanos. La hipótesis propuesta recibió confirmación en el año 1995, cuando el grupo de Hoffmann⁷⁵, en Estrasburgo, descubrió que Toll y algunos otros miembros génicos del grupo dorsal estaban involucrados no solo en la morfogénesis sino también en la respuesta inmunológica innata a microorganismos patógenos, en la

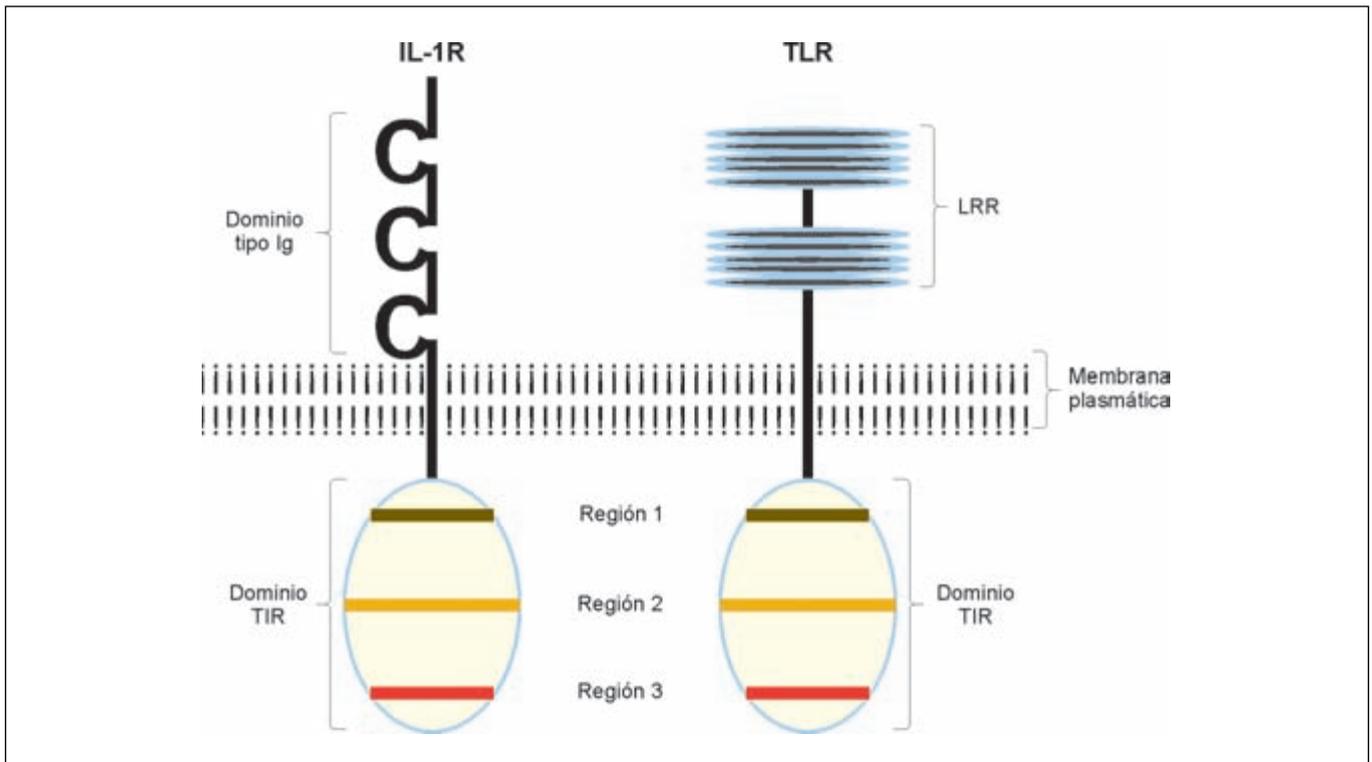


Figura 28. Los receptores tipo Toll (TLR) y los receptores de interleuquina 1 (IL-1R) comparten un dominio citoplasmático muy conservado: dominio Toll / IL-1R (TIR). El dominio TIR se caracteriza por la presencia de tres regiones homólogas (1, 2, 3). A pesar de la similitud de los dominios C-terminales, sus regiones extracelulares son completamente diferentes. IL-1R tiene tres dominios tipo inmunoglobulina (Ig); TIR tiene repeticiones en tándem de regiones ricas en leucina (LRR).

mosca⁷⁶. Poco después, se identificaron, en vertebrados, una docena de receptores homólogos a Toll: receptores tipo Toll (TLR)⁷⁷.

Hasta ese momento, los inmunólogos habían enfocado su interés sobre la respuesta inmunológica adaptativa o adquirida y, por ello, a la generación de la inmensa diversidad en los repertorios de anticuerpos⁷⁸. Por el contrario, pensaron que la respuesta innata era una parte menos importante de la respuesta inmunológica y, en este escenario, solo se ocuparon del contexto del complemento. Dos acontecimientos dados a conocer en el año 1988 dieron un vuelco a la situación: demostraron el papel importante jugado por TLR en el reconocimiento de productos microbianos, y en el acoplamiento de la inmunidad innata a la adquirida. Primero⁷⁹, la señal inducida por un potente componente inmunoestimulador de las bacterias gramnegativas —lipopolisacárido, LPS— exige TLR. Segundo⁸⁰, la activación del TLR induce la expresión de moléculas coestimuladoras requeridas para la activación de las células T en la respuesta adaptativa. Tales

hallazgos condujeron a la rápida expansión de la investigación en el campo de la respuesta inmunológica innata en general y en los TLR en particular.

El principal desencadenante de la inflamación es el reconocimiento de productos microbianos por receptores del sistema inmunológico innato. Este acontecimiento de reconocimiento molecular es, conceptualmente, bastante distinto del reconocimiento de aquellos compuestos por los receptores antigénicos de los linfocitos T y B⁸¹. La población total de linfocitos expresa miles de millones de receptores —especializados cada uno de ellos— generados aleatoriamente en la línea somática y que, en conjunto, son capaces de reconocer cualquier diana microbiana. En el año 1989, Janeway propuso que los mecanismos efectoros innatos se inician vía de la detección específica de microbios por receptores no clonales, codificados en la línea germinal, que son esenciales para la detección inmediata y control de la infección en los mamíferos⁸². Los receptores innatos están prefijados; ello significa que sus dianas microbianas han sido evolutivamente

seleccionadas y, por definición, están delimitadas. Esta «restricción»⁸³, conseguida evolutivamente, permite que unos pocos receptores innatos detecten el amplio rango de la diversidad microbiana. Esta estrategia ha sido denominada «reconocimiento de patrones moleculares asociados a patógenos» (PAMP), y los receptores innatos involucrados «receptores de reconocimiento de patrones» (PRR)⁸⁴. Así como el receptor morfogénico Toll en *Drosophila* liga Spätzle, los diferentes receptores TLR en vertebrados en general y en humanos en particular, acoplan determinados ligandos. El lipopolisacárido (LPS)⁸⁵ de las bacterias gram negativas y el correspondiente TLR de reconocimiento (TLR4) son los representantes genuinos de PAMP y de PRR, respectivamente. Sin embargo, el espectro PAMP / PRR se extiende más allá de los componentes prototípicos (**Figura 29**).

La incapacidad para identificar un receptor de LPS fue una barrera para comprender como las bacterias gram-negativas iniciaban la reacción proinflamatoria. La activación de las células del organismo infectado depende de la presencia de una proteína libre, circulante, denominada proteína acopladora de LPS (LBP) y del receptor opsónico CD14. La LBP compete con lipoproteínas respecto al LPS; LPS ligado a lipoproteínas forma micelas inertes desde el punto de vista inflamatorio, pues no liberan citoquinas⁸⁶. La forma estable de CD14, acoplado en la membrana (mCD14), asegura su anclaje a la superficie celular mediante glicosilfosfatidil-inositol. También se encuentra en la circulación en forma libre, como CD soluble (*soluble CD*, sCD14). Muchas células que son constitutivamente CD14 negativas, como las células dendríticas, fibroblastos, células musculares lisas o el endotelio

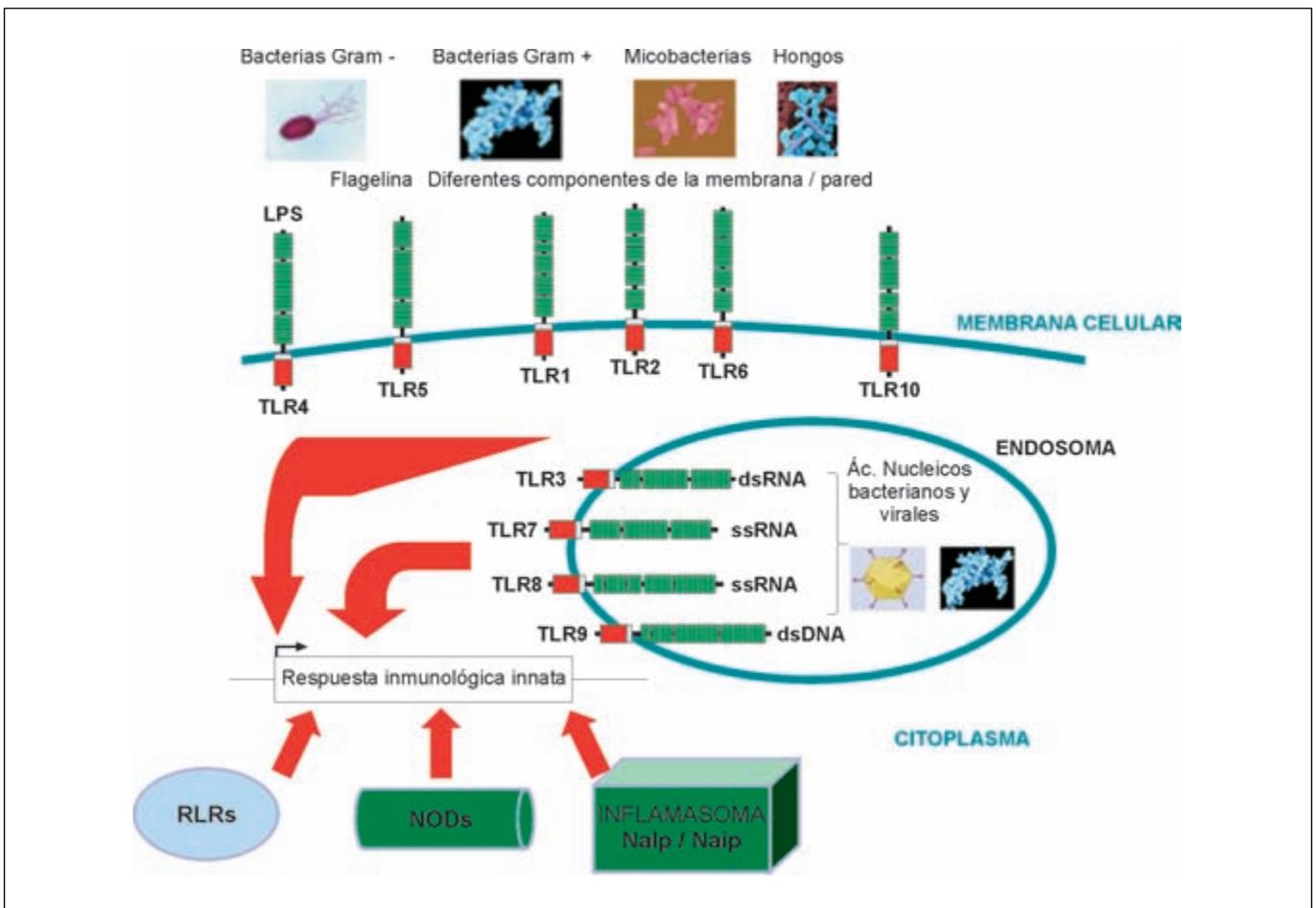


Figura 29. Esquema del sistema PAMP / PRRs. dsDNA/RNA: ácidos nucleicos de doble banda; LPS: lipopolisacárido; NALP / NAIP (componentes del inflamasoma); NOD (proteínas [receptores] que contienen un dominio de oligomerización nucleosídico); PAMP: patrones moleculares asociados a patógenos; PRR: receptores de reconocimiento de PAMP; RLRs: receptores tipo RIG (gen inducible por ácido retinoico); ssRNA: ácido ribonucleico monocatenario; TLR (receptores tipo Toll).

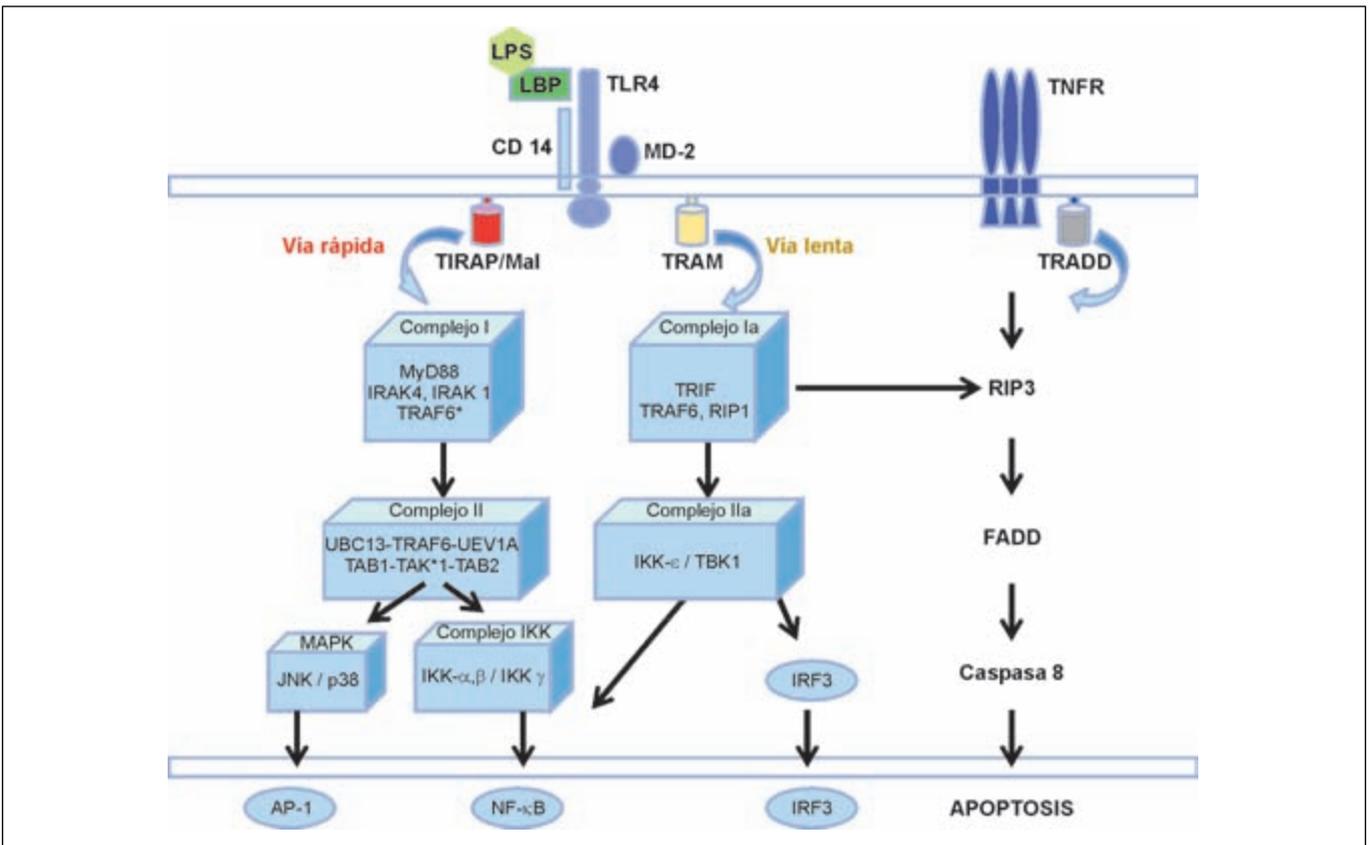


Figura 30. Diálogo en la vía TLR4. Dependiendo de la estimulación recibida la señal deberá elegir entre la vía Mal / MyD88 y la vía TRAM / TRIF; cada una de ellas conducirá a la formación de perfiles de respuesta diferentes. La primera —vía de respuesta rápida— origina una serie de complejos moleculares que concluye con la activación de los factores nucleares proinflamatorios NFκB y AP-1. Por su parte, la señal dirigida por TRAM / TRIF —vía de respuesta lenta— favorece el diálogo hacia la muerte celular a través de RIP1 / RIP3 (adaptadores en la vía de señales del factor de necrosis tumoral (TNF) a la vez que desencadena una segunda fase de producción de moléculas proinflamatorias. AP-1: proteína activadora; CD14: proteína extramembranar del complejo TLR4; FADD: dominio de muerte asociado con Fa; IFN: interferón; IKK: IκB quinasa; IRAK: quinasa asociada al receptor de interleuquina; IRF3: factor de respuesta a interferón; JNK: quinasa Jun N-terminal; LPS: lipopolisacárido; Mal: adaptador de MyD88; MD-2: glicoproteína secretada; MyD88: proteína de diferenciación mieloide; NFκB: factor nuclear κB; TAB1, 2: moléculas adaptadoras; TAK1: quinasa activada por TGFβ; TLR4: receptor tipo Toll; TIR: región homóloga de los receptores tipo Toll y de IL1; TNFR: receptor de factor de necrosis tumoral; TRAF6: factor asociado al receptor TNF; TRAM: molécula adaptadora asociada a TRIF; TRIF: dominio TIR que contiene una proteína adaptadora que induce interferón β (Modificada de: Nicholas Gay *et al.*⁸⁷; fig. 5, pág. 157).

vascular, pueden responder al complejo [LBP-LPS-sCD14]. sCD14 se encuentra en el suero de individuos sanos, pero su concentración incrementa drásticamente en pacientes con procesos inflamatorios. Ni sCD14 ni mCD14 incorporan un endodominio intracitoplasmático; es necesario un eslabón que conecte [LBP-LPS-CD14] con el interior celular. Los TLRs, que aseguran tal exigencia, reconocen los diferentes «patrones moleculares»; pero para que este reconocimiento e interacción resulte en la activación del receptor que inicia la vía de señales proinflamatoria, se requiere una nueva molécula accesoria: el correceptor MD-2, que asegura la correcta posición del receptor. Con ello queda completado el complejo inicial: [(LBP)-LPS-(CD14)]■

[TLR-MD-2]. La misión de LBP es llevar, con sCD14 o sin él, LPS hasta el complejo receptor, y la de CD14 es presentar LPS a TLR.

El dominio extracelular de los TLR consta de, aproximadamente, 20 copias en tándem del motivo LRR. Las LRR conforman una estructura en herradura cuya topología está involucrada en el reconocimiento del correspondiente ligando. A pesar de la conservación entre los dominios LRR, diferentes TLR pueden reconocer varios ligandos sin relación estructural alguna. La localización subcelular de los diferentes TLR se correlaciona de alguna manera con el patrón molecular de sus ligandos. Por ejemplo, TLR1,

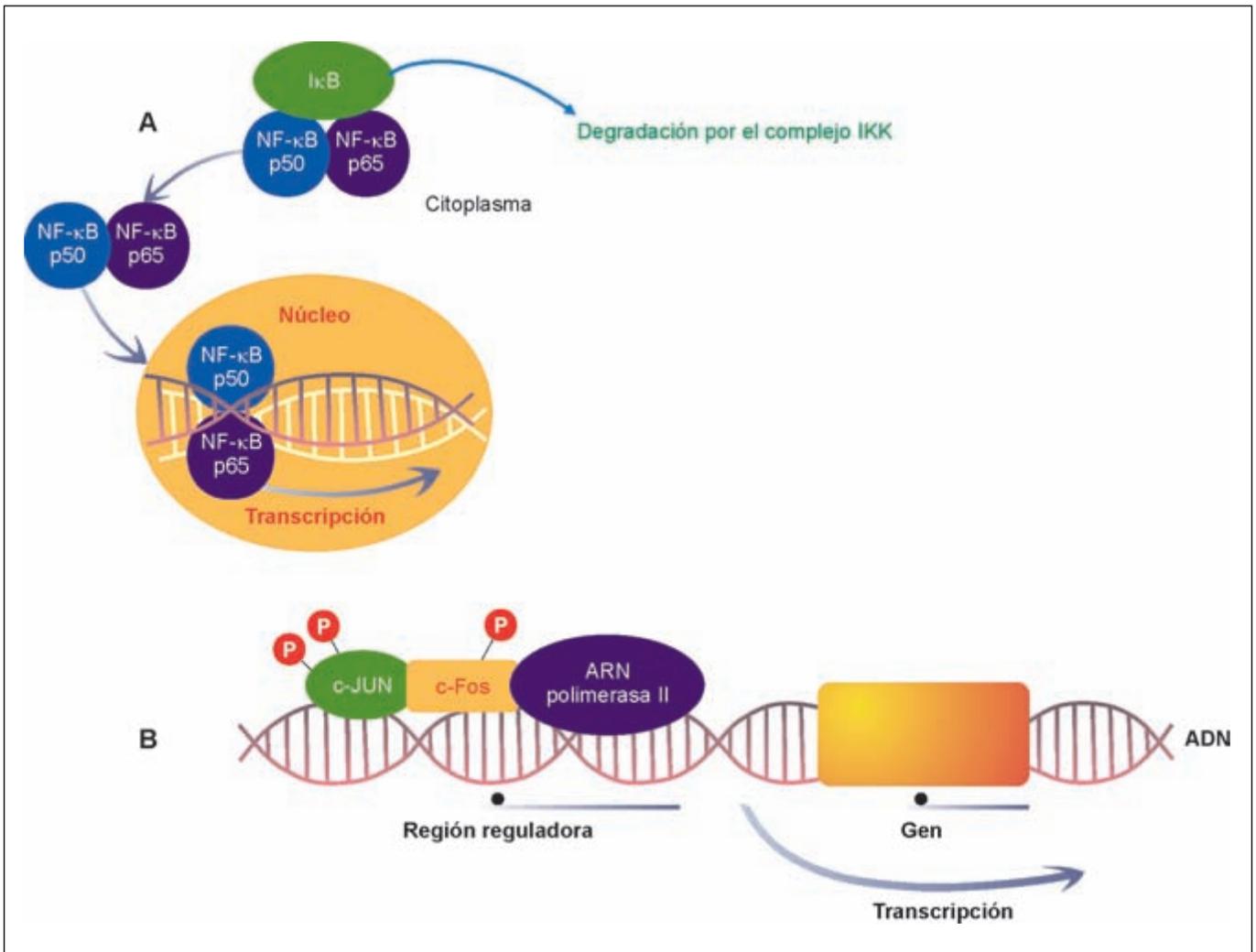


Figura 31. Los factores de transcripción son proteínas involucradas en el control y regulación de la expresión génica que, acoplándose a los elementos promotores aguas arriba de los genes, facilitan o inhiben su transcripción. Los factores de transcripción están compuestos por dos regiones principales: un dominio de acoplamiento a ADN y un dominio activador. El primero está formado por una serie de aminoácidos que reconoce secuencias específicas de bases en el ADN, cercanas al inicio de la transcripción. Los factores de transcripción se clasifican de acuerdo a la estructura del dominio de acoplamiento a ADN y características electroforéticas: dedos de zinc, hélice-vuelta-hélice, cremallera de leucina, hélice-asa-hélice y grupos de alta movilidad. Los dominios activadores de los factores de transcripción interactúan con los componentes de la maquinaria de transcripción (ARN polimerasa) y con otras proteínas reguladoras que afectan la eficiencia del acoplamiento al promotor. Los factores de transcripción pueden ser activados o inhibidos por estímulos fisiológicos, patológicos o farmacológicos. El factor nuclear κ B/Rel (Rel/NF- κ B) y la proteína activadora-1 (AP-1) son factores típicamente involucrados en el proceso inflamatorio. **(A)** Las proteínas Rel/ NF- κ B son una familia de factores de transcripción, que acoge homo- y heterodímeros caracterizados porque el dominio de dimerización y acoplamiento a ADN —región de homología Rel— está muy conservado. Los miembros de la familia incluyen p50, p52, p65, c-Rel y Rel. Los miembros mejor caracterizados son los complejos heterodimérico p50/p65 y homodimérico p50/p50. En la mayoría de las células, NF- κ B se encuentra en el citoplasma en forma inactiva acoplado a una proteína inhibidora (I κ B). I κ B enmascara el dominio de acoplamiento nuclear de NF- κ B mediante un enlace de asociación no-covalente. Un gran variedad de moléculas endógenas y exógenas, como citoquinas, virus o xenobióticos, inducen la disociación del complejo I κ B/NF- κ B. El proceso de activación de NF- κ B exige la activación previa de I κ B-quinasa por los inductores del factor de transcripción, lo que provoca una rápida fosforilación de la subunidad inhibidora. La fosforilación de I κ B se sigue de su marcaje por ubiquitina, lo que permite su reconocimiento por el proteosoma que degrada I κ B fosforilado. NF- κ B, una vez liberado, transloca al núcleo, donde se une a secuencias ADN específicas que provocan la transcripción de los genes cuyos productos están involucrados en la respuesta mediada por NF- κ B que, en el caso del proceso inflamatorio, incluyen pro-TNF- α , moléculas de adhesión, COX2 o iNOS. **(B)** Los factores de transcripción de la familia de la proteína activante-1 (AP-1) son homo- y heterodímeros de proteínas que presentan regiones de cremallera de leucina. Esta familia incluye las subfamilias: Jun (c-Jun, v-Jun, JunB, JunD), Fos (c-Fos, v-Fos, FosB, Fra1, Fra2), Fos (c-Fos, v-Fos, FosB, Fra1, Fra2) y factores de transcripción relacionados (ATF2, ATF3/LRF1, B-ATF). El control de la activación de AP-1 descansa en procesos de fosforilación/desfosforilación que regulan la formación de homodímeros o heterodímeros, que reconocen las secuencias correspondientes en ADN.

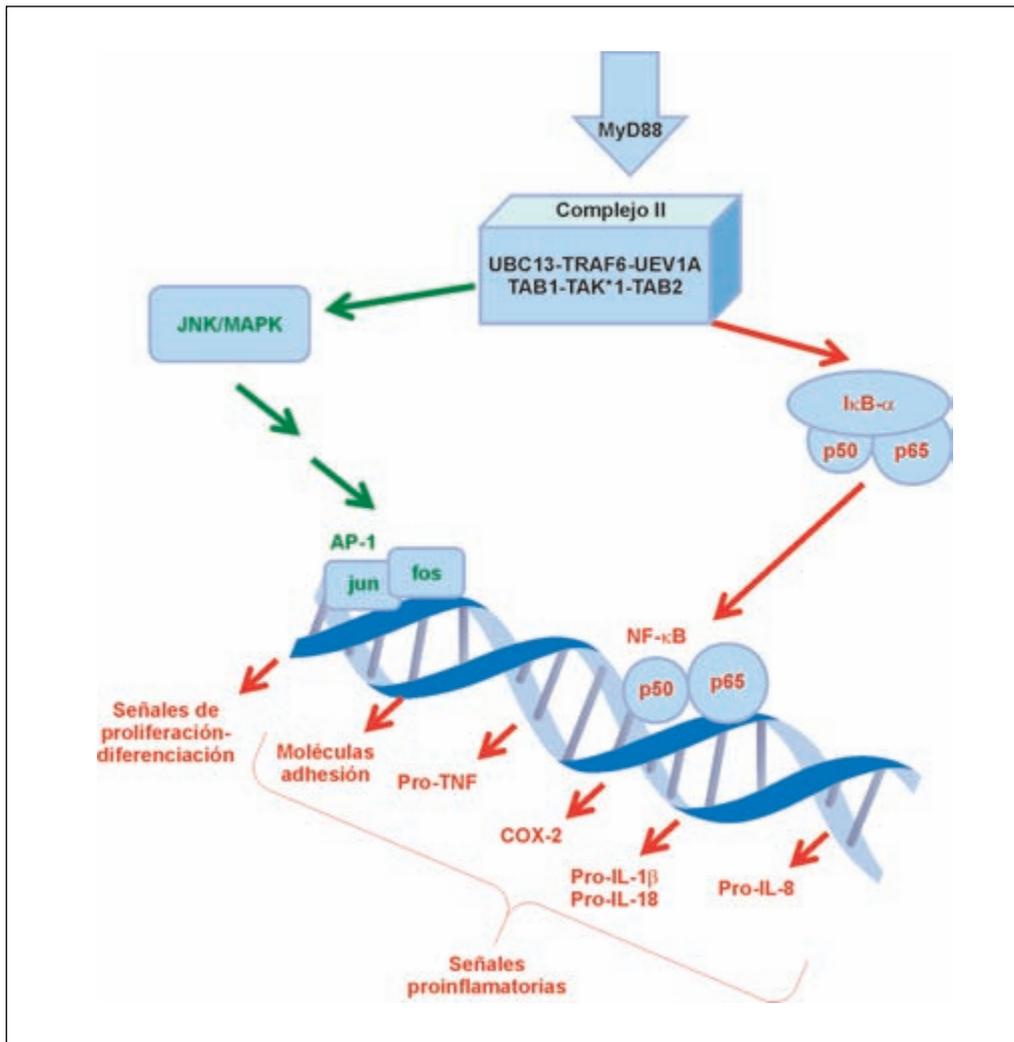


Figura 32. Esquema general del resultado de la estimulación de receptores tipo Toll (TLR). Los factores de transcripción involucrados — NF- κ B y AP-1— inducen la expresión de genes proinflamatorios (*pro-IL-1*, *8* y *18*, *pro-TNF*, moléculas de adhesión, *COX2*, *iNOS*) y de otros involucrados en la proliferación y diferenciación de inmunocitos involucrados en la respuesta innata.

TLR2 y TLR4 se localizan en la membrana celular y reconocen productos bacterianos que, en principio, actúan sobre la superficie celular. Por su parte, TLR3, TLR7 y TLR9, involucrados en reconocer estructuras nucleotídicas (mono y bicatenarias, de ARN o de ADN), se expresan en sistemas membranares intracelulares —sistema reticuloendoplásmico— y son reclutados por los compartimientos endosoma/lisosoma tras su activación.

Tras acoplar al ligando, TLR / IL-1R dimerizan y sufren un cambio conformacional requerido para poder reclutar las moléculas que inician la cadena de señales hasta el núcleo celular⁸⁷. El alistamiento de tales moléculas —«adaptadoras»— es secuencial y

ordenado, dependiendo la señal encauzada del primer eslabón de la cadena. En términos generales⁸⁸ y eligiendo el TLR4 como referencia, tras acoplamiento del LPS, el TLR activado puede elegir entre dos opciones: vías de señales dependiente o independiente de MyD88. El interruptor TIRAP / Mal pone en marcha la vía dependiente de MyD88; el interruptor TRAM, la señal independiente. En términos generales, la primera es una vía rápida; la señal independiente representa una respuesta lenta (**Figura 30**).

La activación del adaptador MyD88 recluta quinasas específicas (IRAKs) que ligan TRAF, un mediador de la señal. De esta manera, [MyD88-IRAK4-IRAK1-TRAF6] forman un primer complejo

de adaptación, en el que TRAF6 es responsable de continuar la secuencia mediante la formación de un segundo complejo heteromérico. TRAF6, activado, se libera del complejo I; tras ello, acopla dos ubiquitinas —UEV y UBC— que le permiten unirse a tres nuevos componentes: una quinasa efectora de la familia MAP-KKK —TAK1— y dos proteínas adaptadoras —TAB1 y TAB2— que acompañan a la quinasa. La ubiquitinación de TRAF6 permite activar TAK1 en el complejo II: [TRAF6-UEV1A-UBC13-TAK1*-TAB1-TAB2]. TAK1 está en condiciones de completar la señalización aguas abajo. TAK1 tiene dos opciones: actuar sobre el complejo IKK, o elegir la vía JNK/ p38. La primera culmina con la activación de NF- κ B, la segunda con la de AP-1; dos factores nucleares proinflamatorios (**Figura 31**).

El complejo IKK comprende dos subunidades catalíticas —IKK- α e IKK- β (también conocidas por

IKK-1 e IKK2) — y una subunidad reguladora —IKK- γ (también conocida como NEMO). Tras la activación por las señales procedentes aguas arriba, IKK fosforila los I κ Bs, lo que conduce a su poliubiquitinación y degradación proteosómica. La eliminación de los inhibidores deja las manos libres al factor de transcripción NF- κ B. Existe una vía alternativa de activación de NF- κ B, en la que NIK activa IKK- α que, a su vez, pone en marcha el mecanismo de conversión de un precursor inactivo de NF- κ B —p100—, en la forma transcripcionalmente activa p52. Por otro lado, TAK1 puede elegir la vía MAPK —JUN y p38— con el resultado antes indicado (**Figura 32**).

La elección del interruptor TRAM por el TIR activado, pone en marcha la vía independiente de MyD88. Esta vía inicia su camino de la mano de TRIF que, en términos generales, ocupa el papel de MyD88 en la vía rápida. La misión de TRIF es activar el factor nuclear

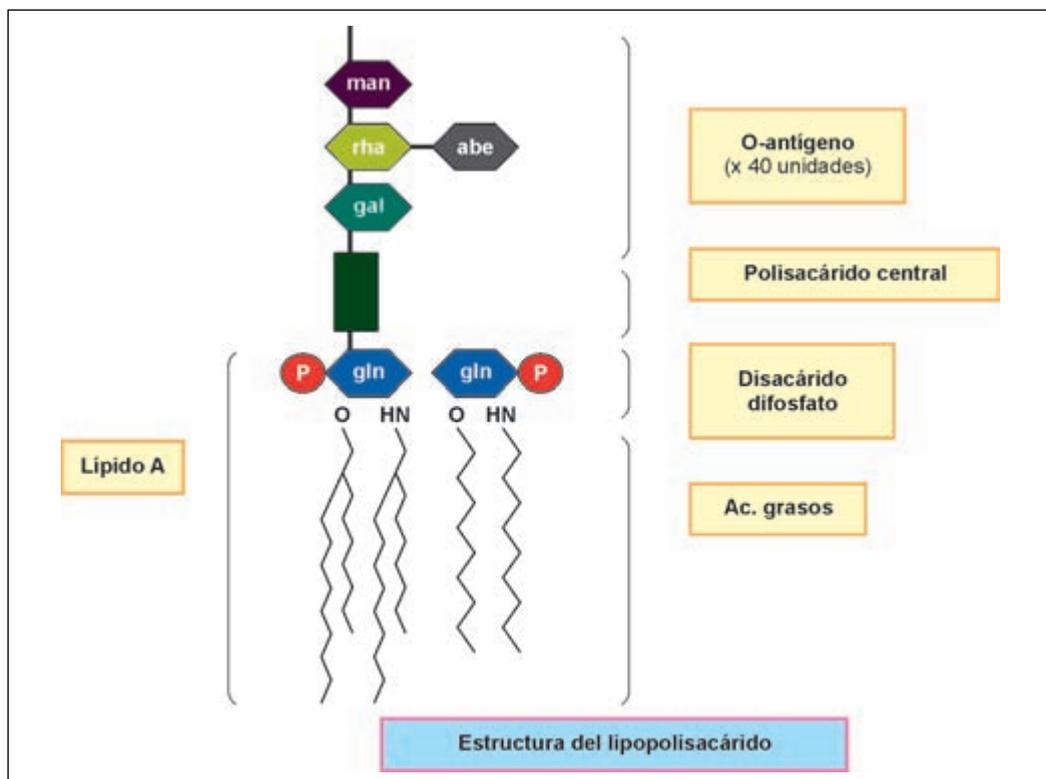


Figura 33. Los lipopolisacáridos (LPS) de las bacterias gram-negativas constan, típicamente, de un dominio hidrofóbico denominado lípido A (o endotoxina) formado por colas de ácidos grasos acilados por disacáridos bifosfato. A esta estructura sigue un oligosacárido central (core) no repetitivo, a la que sigue distalmente un polisacárido (antígeno O). Aunque los LPS de la pared de las bacterias gram negativas representan el prototipo de las endotoxinas bacterianas, otros componentes son también ligandos de los TLRs. La pared de las bacterias gram positivas contiene peptidoglicanos y ácido lipoteicoico, dos potentes agonistas; al igual que la flagelina de los apéndices bacterianos. Los denominados factores de virulencia, también detectados por algunos receptores intracelulares, son moléculas microbianas responsables de la enfermedad específica atribuida al patógeno.

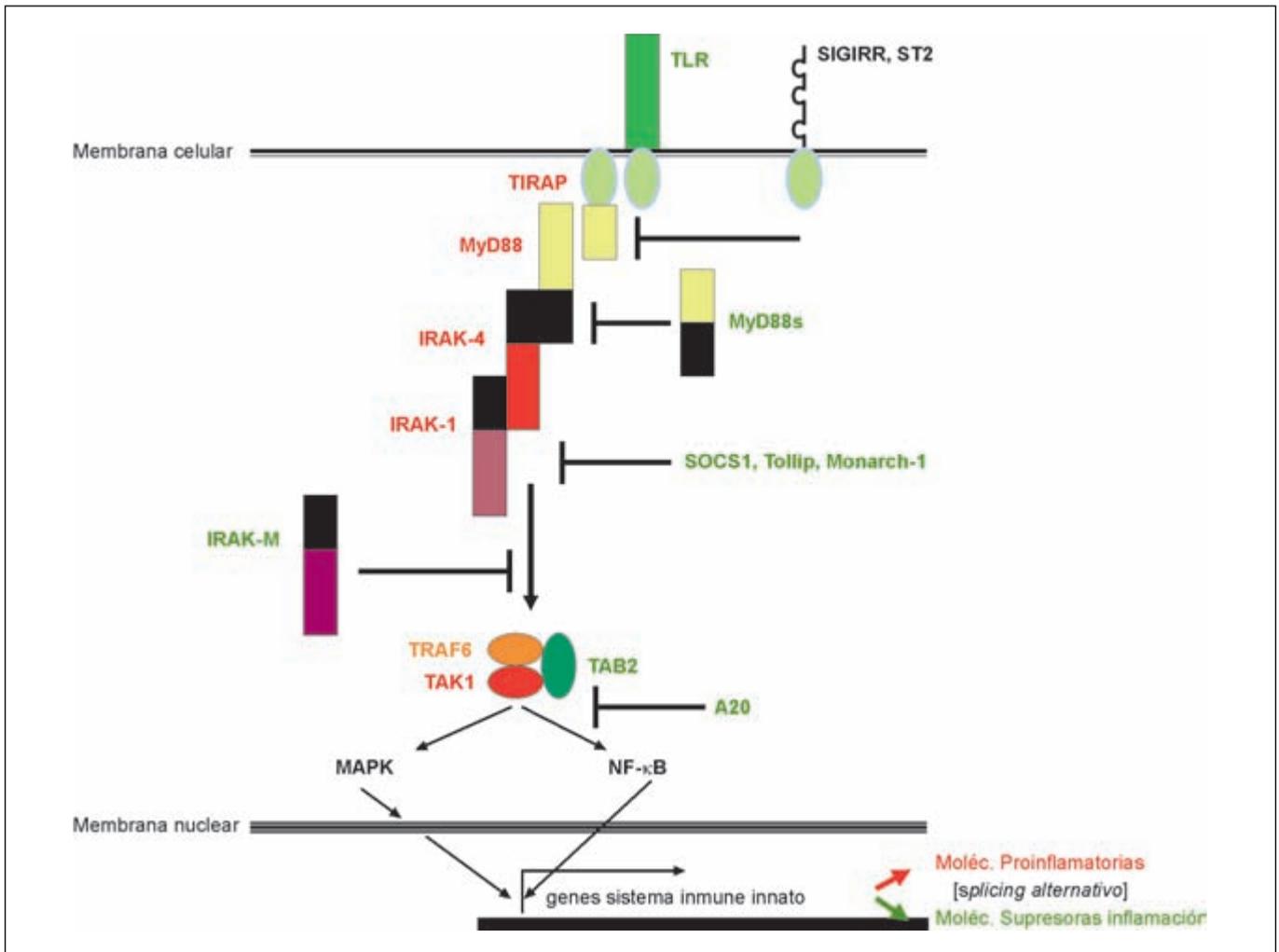


Figura 34. Modelo de señalización y control de TLR. La activación del receptor por PAMP induce ologomerización de los TLRs, que reclutan proteínas TIRAP, MyD88 e IRAK. El agrupamiento de las proteína quinasa (IRAK) induce su autofosforilación y formación de un complejo (IRAK-4/IRAK-1). La formación de este complejo provoca su liberación de la proteína adaptadora MyD88. Liberado el complejo IRAK-4/IRAK-1, inicia una serie de activaciones de moléculas situadas aguas abajo de la cascada. De este modo se activan las proteínas transductoras TRAF6 (factor-6 asociado al receptor de TNF), TAK1 (quinasa-1 activada por el factor de transformación del crecimiento) y TAB2 (*TAK1-binding protein*: proteína-2 ligada a TAK1- *Transforming growth factor-β-activated kinase-1*), que, finalmente activan los correspondientes factores de transcripción (NF-κB). Los frenos son: sMyD88 (una forma alternativa, soluble, de MyD88), que estabiliza el complejo TIRAP/MyD88/IRAK-4 impidiendo que prosiga la cascada de señales; SOCS 1 (supresor-1 de la señalización de inducida por citoquinas), Tollip (proteína de interacción con Toll) y Monarch-1, que inhiben directamente la señal de TLR-4; IRAK-M, que bloquea la activación de las moléculas transductoras por IRAK-4/IRAK-1, y A20, que bloquea el paso más distal de la cascada impidiendo la activación de los factores de transcripción por las moléculas transductoras. La señal inicial pone en marcha, por tanto, respuestas inflamatoria y antiinflamatoria; la primera dependiente de la activación de NF-κB, y la segunda de vías dependientes de MAPK (*Mitogen-activated protein kinase*: quinasa activada por mitógenos) que incidirían sobre factores de transcripción moderadores. Además de estas moléculas citosólicas, otras transmembranares que contienen un dominio TIR —SIGIRR: *single immunoglobulin IL-1R-related molecule*, y ST2: — actúan como reguladores huérfanos que se activan tras la estimulación de los TLRs y cercenan la vía de señales pretendida al bloquear las moléculas adaptadoras TIRAP y MyD88. Ratones carentes de SIGIRR o ST2 son extremadamente susceptibles a sucumbir por shock endotóxico (Modificada de: Koichi S. Kobayashi et al.⁸⁴; fig. 1, pág. 429).

IRF3, que induce la expresión del gen que codifica interferón beta (INF-β), a la vez que los genes inducibles por interferón requieren IRF3. TRIF lo consigue en dos pasos. En el primero —complejo Ia—, TRIF se une a TRAF6 y a RIP1. En el segundo paso,

dos proteínas relacionadas con IKK son las quinasas que fosforilan y activan IRF3. Estas proteínas que conforman el complejo IIa de la vía lenta son: IKK-ε (también conocida como IKK inducible, IKKi), y TBK1 (también conocida como NAK).

TLR4 es el receptor para LPS, uno de los inmunostimuladores más potentes conocidos (**Figura 33**). Los humanos albergan una impresionante cantidad de flora bacteriana comensal en el tracto intestinal, cuyos epitelios no expresan TLR4. Ello es, probablemente, la consecuencia evolutiva de una cohabitación milenaria con bacterias gram-negativas en el intestino, que proporcionan una vasta cantidad de LPS. El mecanismo de regulación negativa ha coevolucionado con la cascada de señalización inmunitaria innata. Además de en el intestino, tampoco hay expresión de TLR4 sobre los epitelios del cervix y vagina, que contienen flora bacteriana del tipo *Lactobacillus*. Por el contrario, en la tráquea y en la vejiga urinaria, donde no residen bacterias comensales, el epitelio está provisto de TLR4 y puede responder al estímulo LPS. Uno de los mecanismos que causan tolerancia bacteriana es, probablemente, la represión de la expresión en la superficie celular de TLR4, aunque existen otros mecanismos.

Se han propuesto varias moléculas que inhiben la señalización TLR4. Una de ellas es IRAK-M, cuyo déficit provoca una mayor producción de citoquinas

proinflamatorias tras la estimulación de TLR4 e IL-1R. IRAK-M bloquea la disociación de IRAK-1 e IRAK-4 de MyD88, interrumpiendo la vía de señales. La activación de TLR en macrófagos induce la expresión de IRAK-M; es decir, la señal proinflamatoria activa la vía inflamatoria y, a la vez, una vía de retroalimentación inhibitoria que contribuye a estabilizar la homeostasis del sistema inmunitario innato. Otros mecanismos de control de la señal inflamatoria son la proteína supresora de las señales citoquímicas (SOCS) y la proteína interactiva con Toll (Tollip), que regulan negativamente la cascada de señales que conduce a la activación de los receptores de interferón γ , IL-4, IL-6 y LIF. SOCS y Tollip se unen a IRAK-1 interrumpiendo, como IRAK-M, la cascada de señales. Otros dos mecanismos de seguridad operan en los extremos proximal y distal de la cascada. Proximalmente, MyD88s, generado por procesamiento alternativo de *MyD88*, compete con el producto estándar interrumpiendo la vía de señales; y aguas abajo, la proteína A20 estorba directamente a NF- κ B y tiene una importancia especial en el control de la respuesta a la flora comensal. Además, Monarch-1, bloquea la vía no canónica, lenta o independiente de MyD88 de activación de NF-

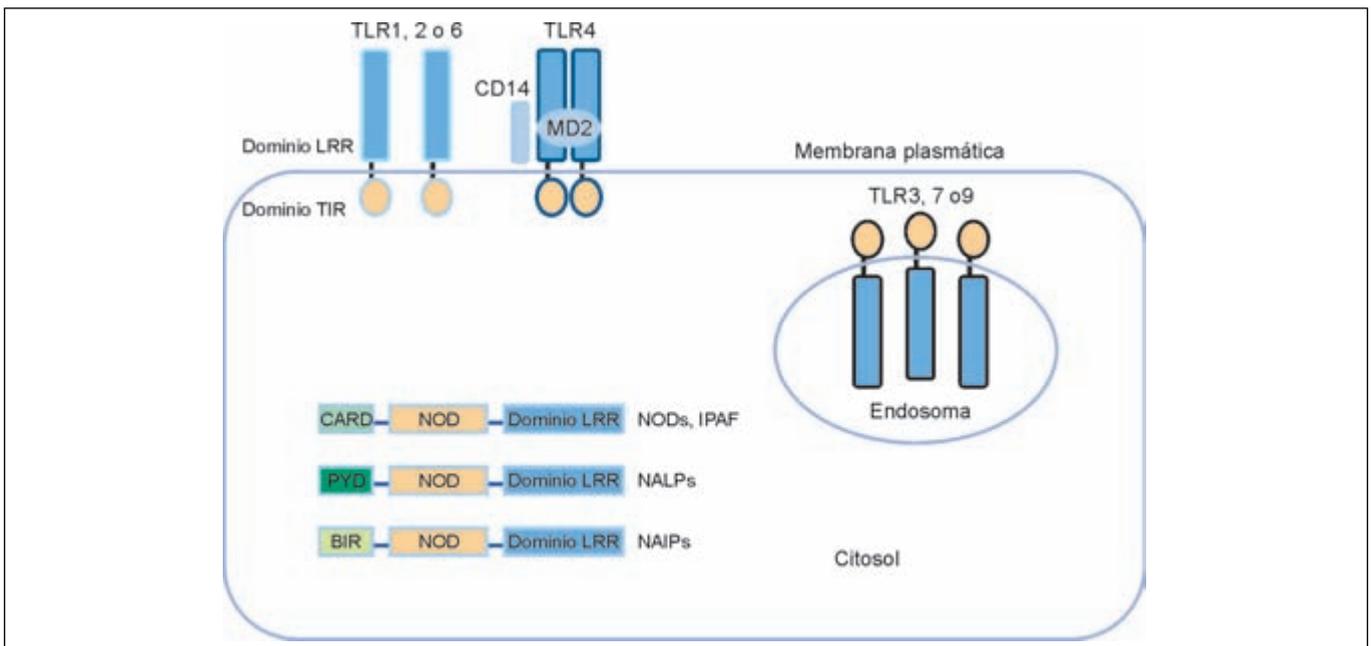


Figura 35. Esquema de las dos superfamilias de receptores de reconocimiento de patrones. Los receptores de tipo Toll (TLR) son glicoproteínas transmembranaras de tipo I, ubicados en la membrana celular o en estructuras membranas citosólicas como los endosomas. Pueden actuar como estructuras monoméricas o, en el caso del TLR4, especializado en reconocer lipopolisacárido (LPS) bacteriano, pueden dimerizar con ayuda de proteínas acopladoras (CD14, MD2). Los dominios TIR son citofílicos. Los receptores de tipo NOD (NLR) se presentan como sensores citosólicos, independientes de membranas, cuya oligomerización es condición indispensable para actuar. La superfamilia TIR puede agruparse en tres subfamilias de acuerdo con las particularidades estructurales (**Ver:** figura 36).

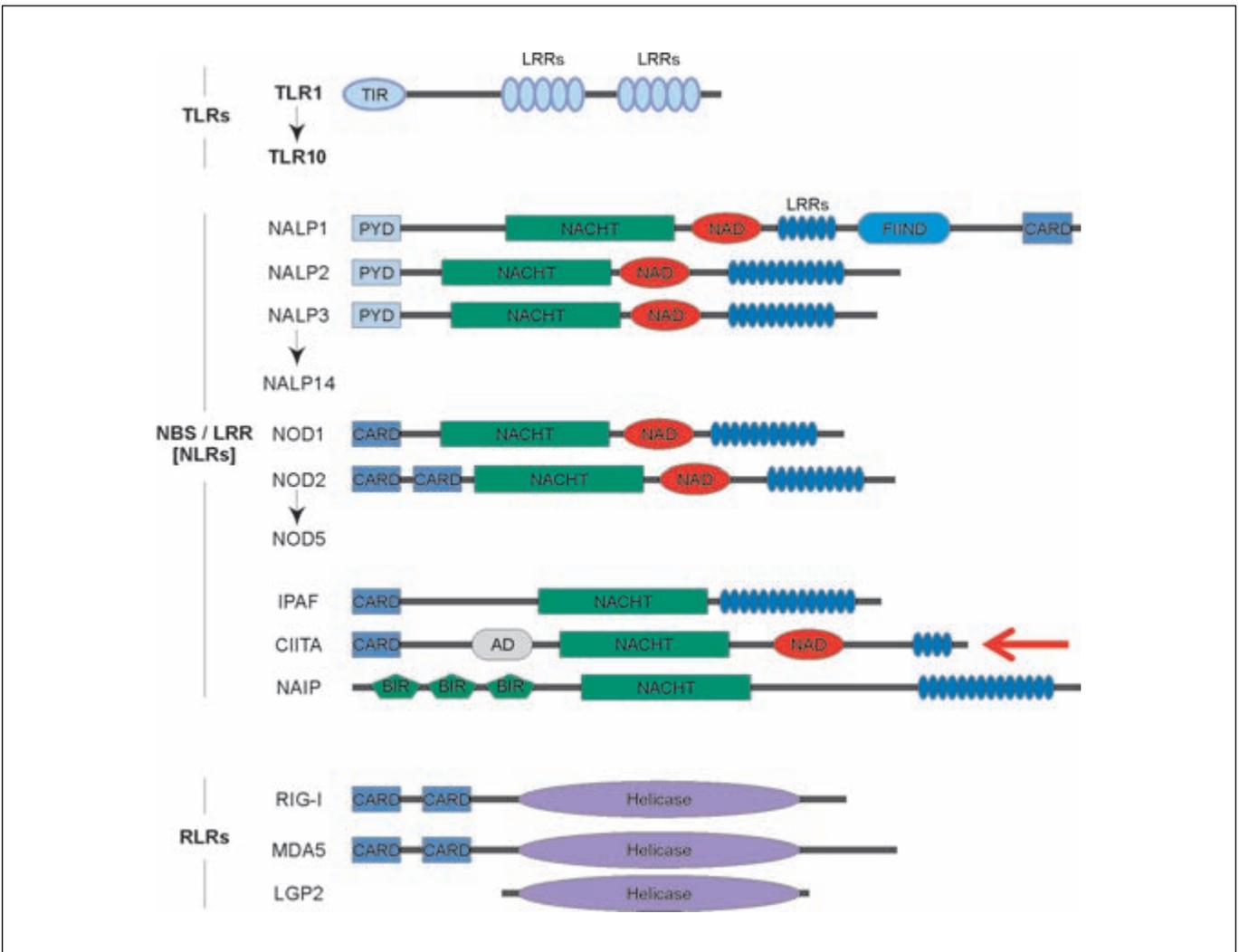


Figura 36. Esquema detallado de los diferentes receptores de reconocimiento de patrones (PRR). Los PRR pueden agruparse en tres grandes familias: TLR (receptores tipo Toll), NLR (receptores tipo NOD) y RLR (receptores tipo RIG). Los diez TLR identificados muestran una estructura bastante homogénea, diferenciándose por las distintas topologías de su dominio N-terminal (LRR). La familia NLR puede distribuirse en tres subconjuntos: NALP, NOD y NAIP / IPAF. Todos los miembros de esta superfamilia muestran tres dominios estructurales, dos similares —dominio N-terminal LRR y dominio de oligomerización (NAD)— y un dominio C-terminal distintivo (PYD, CARD o BIR). A pesar de que estructuralmente NALP e IPAF son similares, los estudios evolutivos relacionan IPAF con NAIP. Los receptores de la familia RIG presentan una estructura bastante diferente, pues aunque algunos miembros conservan un dominio CARD, presentan un dominio helicasa en vez del dominio NAP y carecen del dominio N-terminal LRR.

κ B puesta en marcha a través de TLR o del TNF-R⁸⁹ (Figura 34).

Hasta este momento, la revisión de las «moléculas de reconocimiento de patrones» se ha centrado, exclusivamente, en la familia TLR; todos sus miembros son proteínas transmembranares ubicadas en la membrana celular o en las estructuras endosómicas. Sin embargo, una segunda gran familia de PRR citosólicos participan en la detección de microorganismos patógenos capaces de penetrar en la célula o de sus productos

inyectados en ella, y también de material derivado de aberraciones metabólicas celulares, en especial cristales de ácido úrico. Estos nuevos receptores intracelulares⁹⁰ se conocen como proteínas NBD-LRR. Estas proteínas, a diferencia de los TLR, carecen del dominio TIR. Sin embargo, presentan una estructura igualmente modular en la que se identifican tres dominios característicos (Figura 35). Dos de ellos son compartidos por toda esta gran familia de receptores, y de ahí el nombre de referencia: un dominio de acoplamiento nucleotídico (NBD) muy conservado,

denominado NACHT, esencial para la oligomerización de la molécula, seguido de un dominio C-terminal que incluye varias repeticiones de secuencias ricas en leucina (LRR) similares a las de los TLR y encargadas del reconocimiento del ligando. El tercer dominio, N-terminal, es variable —CARD, PYD o BIR— para cada una de las clases de la familia —NOD e IPAF, NALP o NAIP, respectivamente— y es responsable de desencadenar la correspondiente señal que ha de

provocar la respuesta esperada (**Figura 36**). Dado que la mayoría de los miembros de esta familia tienen una estructura similar a las primeras estructuras identificadas del grupo —proteínas Nod 1 y Nod 2—, las proteínas NBD-LRR también se conocen y es prácticamente su alias, como «receptores tipo NOD» o NLR (de la misma manera que los TLRs deben su nombre a la homología del grupo con el primer miembro identificado: proteína Toll). Para complicar la sopa de letras,

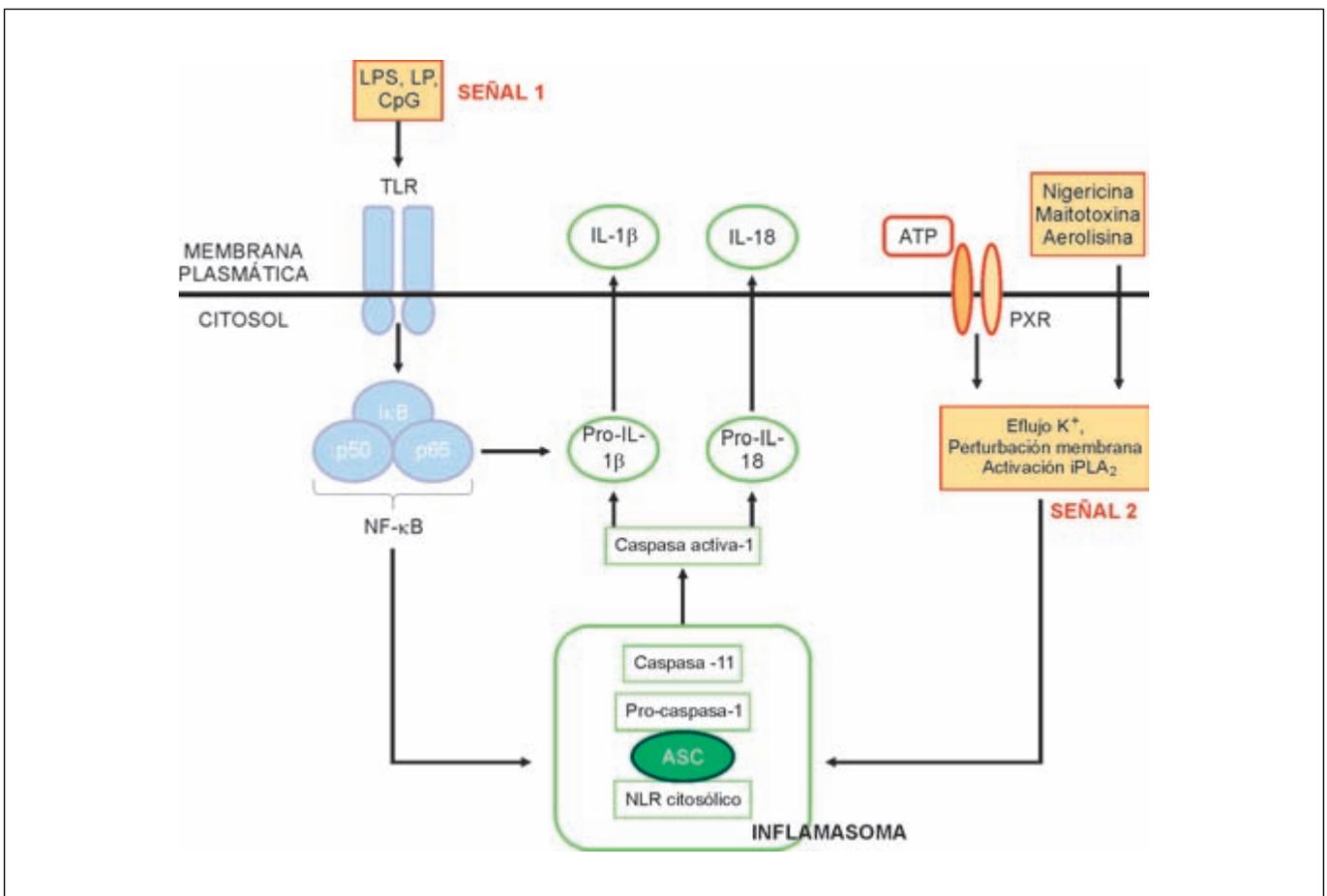


Figura 37. Se necesita la combinación de dos estímulos extracelulares distintos para inducir una activación plena del inflammasoma caspasa-1 y la liberación subsecuente de IL-1β. En la señal 1, la estimulación de las células involucradas en la respuesta innata (por ej. macrófagos) con cualquiera de los agonistas —lipopolisacárido bacteriano (LPS), dinucleótidos (CpG) o lipopéptido (LP)— de los receptores de tipo Toll (TLR), induce la síntesis de prointerleuquina-1β (pro-IL-1β) y de ciertos componentes inducibles del inflammasoma (ej. caspasa-11). Esta primera señal ceba las células y las prepara para un posible segundo estímulo que provocará la activación de caspasa-1, pro-IL-1β y pro-IL-18, y la secreción subsiguiente de citoquinas maduras. Según este esquema la simple actuación del TLR no es suficiente para activar la caspasa-1. La señal secundaria —a través, por ejemplo, de receptores purinérgicos (PXR) activados por ATP (por ej. liberado por plaquetas y otras células activadas), nigericina (un ionóforo de potasio), maitoxina (potente tóxico marino derivado de dinoflagelados) o aerolisina (toxina formadora de poros producida por *Aeromonas*)— provoca perturbaciones iónicas transmembranares, específicamente eflujo de potasio. La merma de potasio intracelular media el procesamiento de pro-IL-1β a través de la activación de fosfolipasa A₂ independiente de calcio (iPLA₂). El estímulo inicial de TLR (por ej. prestimulación por LPS) acelera el procesamiento de caspasa-1. Además, el cebo del LPS resulta en la liberación de IL-1β, que se debe a la síntesis *de novo* del pro-IL-1β. Sin embargo, ASC (*apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD*), procaspasa-1 y pro-IL1β están constitutivamente presentes en grandes cantidades en los macrófagos, y no requieren la estimulación por LPS (Modificada de: Sanjeev Mariathasan et al. ⁹²; fig. 1, pág. 33).

los NLR también se conocen como proteínas CATERPILLER.

Nod 1 y Nod 2 (NOD), que reconocen péptidos derivados de la degradación del peptidoglicano (PGN) constituyente de las paredes bacterianas se expresan en células fagocíticas (macrófagos y células presentadoras de antígenos). La interacción de NOD con sus ligandos concluye con la activación de NF- κ B. Para ello, el dominio CARD interacciona, a través de interacciones homotípicas proteína-proteína, con un adaptador (RICK) que contiene ese mismo dominio y que asegura la viabilidad de la cadena aguas abajo. También y de manera similar a lo que ocurre tras la activación de TLR, NOD habilitan una vía alternativa que, a través de MAPK/JUN, consiguen la activación del factor nuclear AP-1. La similitud funcional entre TLRs y NOD queda reforzada con probables interacciones potenciadoras entre los dos sistemas⁹¹ (**Figura 37**).

Los otros miembros de la familia NLR ofrecen un panorama distinto al de NOD. Las «proteínas inhibidoras de apoptosis de la familia NLR» (NAIPS), las «proteínas que contienen dominios NACHT (y asociados, NAD), LRR y pirina» (NALPS) y la «proteína que contiene factor activador de la proteasa que procesa procaspasa» (IPAF), están involucradas en el proceso de activación de caspasa-1; ello a través del ensamblaje de un complejo proteico citosólico conocido como inflammasoma⁹². Se requiere caspasa-1, conocida como enzima convertora de IL-1 (ICE), para procesar y luego secretar citoquinas proinflamatorias activas como IL-1 o IL-18. La IL-33, una citoquina involucrada en generar una respuesta de tipo 2 por las células T *helper*, requiere también caspasa-1 para su activación. Además, la activación del inflammasoma puede conducir a la muerte celular en ciertos tipos celulares, mediante un mecanismo denominado piroptosis⁹³. Tan rápida inducción de muerte celular puede representar un mecanismo de prevención de replicación del patógeno.

Caspasa-1 es la proteína efectora central del inflammasoma, y este actúa como un almacén molecular para la activación de aquella. La caspasa-1, la primera caspasa identificada en mamíferos, se sintetiza como un zimógeno inactivo (procaspasa-1) que, tras su activación, se ocupa de procesar otros precursores:

pro-IL-1 e IL-18. Como ocurre con sus congéneres las caspasas 8 y 9, la procaspasa-1 recluta adaptadores oligomerizados en complejos multiproteicos⁹⁴. *In vitro*, el complejo está formado por la proteína adaptadora ASC y un NLR, junto con la procaspasa-1; ello conforma el inflammasoma. Se han identificado diversos inflammasomas según el componente NLR. El más representativo es el denominado NALP-3 o inflammasoma crioprino. ASC codifica una proteína que contiene pirina (PYD) como dominio N-terminal y CARD en el C-terminal. Como proteína adaptadora para el reclutamiento de otras proteínas que también contienen ambos dominios, ASC tiene un papel central en el inflammasoma. A través de interacciones homotípicas proteína-proteína con sus propios dominios PYD y CARD, ACS actúa como un engarce directo —en ocasiones es necesaria la presencia de un adaptador accesorio— entre el sensor NALP y la caspasa efectora (**Figura 38**).

En relación con la fisiopatología del sistema, debe recordarse que varios miembros de la familia CATERPILLER están ligados genéticamente a conocidos trastornos inmunológicos⁹⁵ (**Tabla IV**). El gen *CARD15* —codifica Nod2— fue identificado como el primer gen de susceptibilidad para la enfermedad de Crohn; enfermedad inflamatoria granulomatosa crónica intestinal que pudiera deberse a una hiperrespuesta inapropiada a los organismos comensales que forman la microflora de la mucosa intestinal, más que a la respuesta a un microorganismo patógeno específico. El mismo gen ha sido involucrado en la enfermedad de Blau —raro trastorno autosómico dominante caracterizado por artritis granulomatosa, uveítis, rash cutáneo y neuropatía craneal— o en la enfermedad de injerto-contrahuésped; y Nod1 se ha asociado con la infección por *Helicobacter pylori*. Por lo que respecta a los miembros de la familia NLR relacionados con el inflammasoma, la investigación de pacientes con síndromes febriles periódicos hereditarios —síndrome de Muckle-Wells, síndrome autoinflamatorio familiar inducido por frío y enfermedad inflamatoria multisistémica de comienzo neonatal o síndrome neurocutáneo-articular infantil crónico— dio como resultado la identificación de mutaciones en el gen *CIAS1* (*Cold-induced auto-inflammatory syndrome*), que codifica criopirina o marenostrina —fiebre familiar mediterránea—, y mutaciones en NAIP se asocian con distrofia muscular espinal. Sirva de cierre a esta sec-

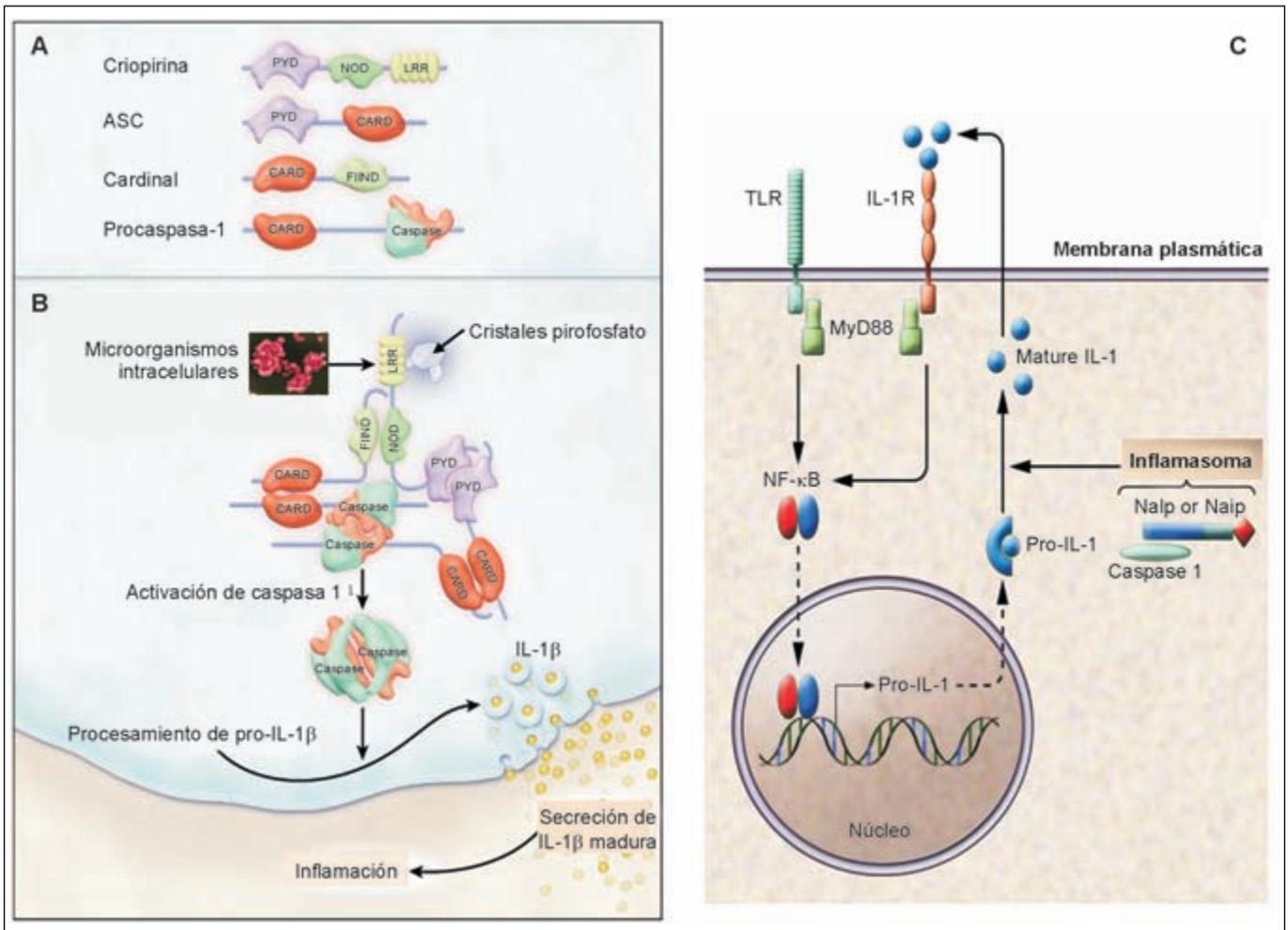


Figura 38. A-B. Inflamasoma «criopirina». Criopirina o NALP3 es el componente central del inflamasoma. Criopirina tiene tres dominios: un dominio pirina (PYD o marenostrina, producto del gen responsable de la fiebre mediterránea familiar); un segundo de oligomerización nucleosídico (NOD), y un tercer dominio de repeticiones ricas en leucina (LRR). Los otros componentes del inflamasoma son las moléculas adaptadoras ASC (*apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain (CARD)*) y cardinal, y procaspasa-1. Los respectivos dominios pueden ensamblarse, exclusivamente, una vez que la criopirina ha sido activada mediante la interacción de su dominio LRR con un cristal (urato o pirofosfato cálcico deshidratado) o con ciertas especies microbianas. El ensamblaje de los diferentes dominios conduce a la liberación de caspasa-1 que escinde la molécula de prointerleuquina-1 β , proporcionando IL-1 β cuya secreción al medio extracelular incita la inflamación. **C.** Diálogo entre las vías TLR (receptores tipo Toll) y NLR (receptores tipo NOD). Ambas familias de receptores reconocen ligandos microbianos en distintos compartimentos celulares. Los NLR son activados por la presencia de microbios citosólicos o por la acción de factores de virulencia bacterianos. Tales señales revierten sobre la respuesta transcripcional de los TLR al convertir pro-IL-1 en IL-1 activa. IL-1 interacciona con su receptor para potenciar el trabajo de los TLR (Modificada de: **A-B.** Joost P. H. Drenth *et al.*⁹²; fig. 1, pág. 731; y **C.** de Gregory M Barton⁸¹; fig. 1, pág. 414).

ción el hecho que el fundador de la familia CATERPILLER sea el gen del activador transcripcional de las moléculas tipo II del complejo principal de histocompatibilidad (CIITA).

Junto a las familias TLR y NLR existe un grupo final —hasta ahora— de PRR citosólicos ocupados en verificar ácidos nucleicos. El primero de esos receptores fue el gen inducible por ácido retinoico-I (RIG-

1). Tales receptores se denominan, colectivamente, receptores tipo RIG I (RLR). RIG-I y una proteína relacionada con la diferenciación del melanoma (MDA-5) son PRR con dominios ARN-helicasa que detectan ARN extraño en el citosol. El sistema inmunológico innato también es capaz de reconocer ADN extraño; aunque esta actividad es peor conocida, se ha identificado una proteína (DAI) comprometida con ello. Las vías sensoras de ADN y ARN inducen la

Proteína NBS-LRR	Otros nombres	Enfermedad asociada	Patología
Subfamilia Nod Nod2	Card15	Enfermedad de Crohn Síndrome de Blau	Reconocimiento incorrecto de PAMP. Activación constitutiva de NF- κ B.
Subfamilia Nalp Nalp3	Criopirina	Síndrome de Muckle-Wells CINCA (Síndrome neurológico, cutáneo y articular, crónico infantil) FCAS (Síndrome familiar auto-inflamatorio inducido por frío)	Activación de caspasa1, independiente del ligando: ↑ secreción IL-1 β . Idem. Activación inducida por frío.
Subfamilia Ipaf Naip Naip5 (ratón)	Birc1 Birc1e	Atrofia muscular espinal Susceptibilidad a infecciones por <i>Legionella pneumophila</i>	Fracaso en la inhibición de caspasa1. Idem.
Subfamilia CIITA CIITA		Síndrome de linfocitos pelados	Ausencia de expresión MHCII por bloqueo de la translocación nuclear.
Proteínas asociadas a NBS-LRR Pirina	Marenostrina	Fiebre familiar mediterránea	Reconocimiento defectuoso del ligando bacteriano y apoptosis.

Tabla IV. Enfermedades asociadas con mutaciones en proteínas NBS-LRR.

expresión de interferones tipo I y contribuyen a la inducción de un estado antiviral⁹⁶. La participación de ácidos nucleicos bacterianos está menos clara.

III. Generalización del proceso inflamatorio

La teoría prevalente ha sido que la sepsis —en principio, la situación generalizada grave que puede complicar una infección— representa una respuesta inflamatoria descontrolada. Lewis Thomas popularizó este punto de vista cuando escribió que «los microorganismos que nos invaden son meros espectadores[...] Es nuestra respuesta a su presencia lo que desencadena la enfermedad. Nuestro arsenal para combatir a las bacterias es tan poderoso y dispone de tantos mecanismos de defensa, que estamos más expuestos a sus efectos devastadores que a los propios microbios»⁹⁷.

La escena descrita por Thomas parece corroborarse, en parte, cuando tal resultado puede desencadenarse por causas ajenas a la infección. Agresiones infectivas (internas: peritonitis fecal; o externas: herida contaminada) y no infectivas (internas: pancreatitis; o externas: quemaduras externas o traumatismos

graves) provocan una reacción inflamatoria similar, cuya fisiopatología y clínica son idénticas: síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS: *Systemic Inflammatory Response Syndrome*). Esta respuesta inflamatoria está determinada, cualitativa y cuantitativamente, por factores genéticos y ambientales.

En 1991, el *American College of Chest Physicians* (ACCP) y la *Society of Critical Care Medicine* (SCCM) convinieron una Conferencia de consenso en un intento de acordar una base conceptual y un criterio clínico para definir la respuesta inflamatoria sistémica a la infección; una situación de deterioro progresivo conocida con el término generalizado de sepsis y que, en su estadio avanzado incluye la disfunción o el fracaso de diversos órganos y sistemas. La Declaración de la Conferencia ACCP/SCCM introdujo, en términos de igualdad, el «síndrome de respuesta inflamatoria sistémica»: una situación que hace referencia a los complejos hallazgos que resultan de la activación de una respuesta inmunológica innata, independientemente de la causa que la provoque, y aunque se discute si los ligandos endógenos utilizan los mismos TLR que los ligandos bacterianos (**Figura 39, Tabla V**)⁹⁸. La Declaración asumía que SIRS puede ser desencadena-

do por una infección local o generalizada, trauma, quemadura o por un proceso inflamatorio estéril como una pancreatitis. Se considera el diagnóstico de SIRS cuando el paciente tiene dos o más de los hallazgos clínicos siguientes: temperatura corporal $>38^{\circ}\text{C}$ o $<36^{\circ}\text{C}$; frecuencia cardíaca $>90\text{ m}^{-1}$; hiperventilación evidenciada por una frecuencia respiratoria $>20\text{ min}^{-1}$ o una $\text{PaCO}_2 <32\text{ mm Hg}$, y un recuento leucocitario periférico de $>12,000\text{ células }\mu\text{L}^{-1}$ o $<4,000\text{ }\mu\text{L}^{-1}$. El concepto SIRS ha sido adoptado globalmente por clínicos e investigadores, siendo su patogenia, en principio, una inundación generalizada y descontrolada de mediadores químicos proinflamatorios, inducida por factores bacterianos vía TLR, o por cualquier otro tipo de agresión que induce inflamación. Sepsis/ SIRS es un problema de primer orden, que significa la mayor causa de mortalidad en las unidades de cuidados intensivos no coronarias⁹⁹.

La «revisión» realizada en 2001¹⁰⁰ de la Conferencia ACCP/SCCM de 1991, insistió en la robustez de las definiciones consensuadas hace diez años, aunque señaló que no existe un estándar de oro con el que calibrar los criterios diagnósticos, y apuntó que, en el futuro, parámetros bioquímicos y genéticos serán más consistentes que los clínicos actualmente manejados (Tabla VI). Utilizando una variante del sistema TNM (Tumor, Nódulos o ganglios linfáticos y Metástasis) aplicado en oncología, propuso una clasificación para sepsis/SIRS denominada PIRO: predisposición (genética y epigenética), infección (características), respuesta (grado) y (disfunción) orgánica.

Una intensa vasoconstricción en la vascularización periférica es la respuesta normal en aquellas condiciones en las que la presión arterial —presión de perfusión— es demasiado baja para perfundir adecuada-

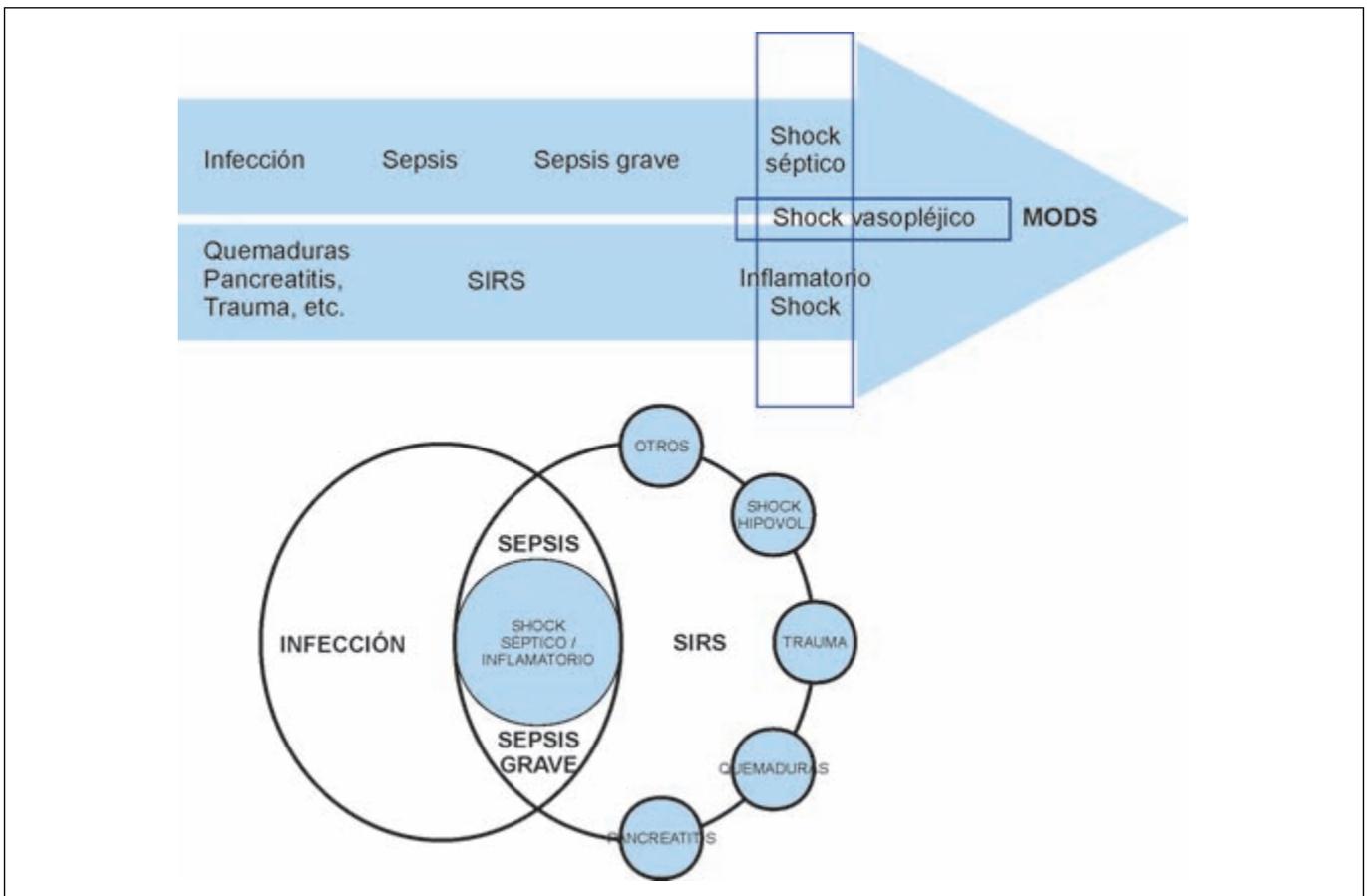


Figura 39. Sepsis (inducción por señales proinflamatorias exógenas) y SIRS (inducción por señales proinflamatorias endógenas), comparten un camino común, de gravedad progresiva, que conduce a una situación de shock vasopléjico. El desenlace final, si la enfermedad no logra controlarse, es un síndrome de fracaso multiorgánico, la causa más recuente de muerte en las unidades de cuidados intensivos no coronarias.

Infección	Fenómeno microbiano caracterizado por una respuesta inflamatoria a la presencia de microorganismos, o la invasión de tejidos del huésped normalmente estériles por aquellos organismos.
Bacteriemia	Presencia de bacterias viables en sangre.
Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica	(SIRS: <i>Systemic Inflammatory Response Syndrome</i>) respuesta inflamatoria sistémica a diversos insultos clínicos graves. La respuesta se manifiesta por dos o más de las siguientes condiciones: 1) temperatura corporal $\geq 38^{\circ}\text{C}$ o $\leq 36^{\circ}\text{C}$; 2) frecuencia cardíaca >90 latidos min^{-1} ; 3) frecuencia respiratoria >20 respiraciones min^{-1} , o $\text{PaCO}_2 < 32\text{mm Hg}$, y 4) recuento leucocitario en sangre periférica $>12,000\mu\text{L}^{-1}$, $<4,000\mu\text{L}^{-1}$ o $>10\%$ de formas inmaduras.
Sepsis	Respuesta sistémica a la infección, manifestada por dos o más de las siguientes condiciones: 1) temperatura corporal $\geq 38^{\circ}\text{C}$ o $\leq 36^{\circ}\text{C}$; 2) frecuencia cardíaca >90 latidos min^{-1} ; 3) frecuencia respiratoria >20 respiraciones min^{-1} , $\text{PaCO}_2 < 32\text{mm Hg}$, y 4) recuento leucocitario en sangre periférica $>12,000\mu\text{L}^{-1}$, $<4,000\mu\text{L}^{-1}$ o 10% de formas inmaduras.
Sepsis severa	Sepsis asociada con disfunción orgánica, hipoperfusión o hipotensión. Las alteraciones por hipoperfusión e hipotensión pueden incluir —aunque no limitarse— acidosis láctica, oliguria o una alteración aguda del estado mental.
Shock séptico / inflamatorio	Hipotensión inducida por sepsis, o por insultos clínicos graves a pesar de una adecuada fluidoterapia, y que cursa con —aunque puede no limitarse— acidosis láctica, oliguria o una alteración aguda del estado mental.
Síndrome de disfunción orgánica múltiple	(MODS: <i>Multiple Organ Dysfunction Syndrome</i>): presencia de función orgánica alterada en un paciente séptico, cuya homeostasis no puede mantenerse sin intervención.

Tabla V. Conferencia de consenso ACCP / SCCM: Definiciones.

Loci	Marcador	Frecuencia	Clínica
TNF- α [promotor: -308 (6 p21.3)]	TNF-1 α TNF2 (G/G) (A/A)	68-80% 2-5%	Susceptibilidad a sepsis/ SIRS; mal pronóstico.
IL-1 β [5 $^{\circ}$ exón: 3,953 (2 q14)]	IL-1 β IL-1 β a (C/C) (T/T)	70-75% 25-30%	
IL-1ra [2 $^{\circ}$ intrón: 86 bp (2 q14.2)]	IL-1raA1 IL-1raA2 (VNTR)	70-73% 20-25%	Susceptibilidad a sepsis/ SIRS; mal pronóstico.
PAI-1 [promotor: -674 (7 q22)]	4G/5G + 5G/5G 4G/4G (inserción/delección)	70-76% 24-27%	Susceptibilidad a sepsis/ meningocócica; mal pronóstico.
LBP	Varios		
Cd14 [promotor: -159]	VNTR		Susceptibilidad a sepsis/SIRS; mal pronóstico.
TLR4	Asp299Gly		Susceptibilidad a sepsis/SIRS; mal pronóstico.

Tabla VI. Marcadores genéticos en SEPSIS / SIRS.

mente los tejidos; tal ocurre en los estados de shock hemorrágico o cardiogénico. En otras condiciones, principalmente en las situaciones de shock séptico o

inflamatorio, la hipotensión está causada por una vasodilatación periférica resistente, incluso, a fármacos vasoconstrictores.

Sepsis/SIRS es la casusa más frecuente de shock vasodilatador, y es la vía final común de las situaciones de shock hipovolémico o cardiogénico cuando las causas originales no son solucionadas con prontitud. Cuando ocurre esto último, se denomina fase de «shock irreversible». En todas las formas de shock vasodilatador se detectan concentraciones plasmáticas marcadamente elevadas de catecolaminas y activado el sistema renina-angiotensina; ello indica que la causa de la vasodilatación e hipotensión arterial se deben a la incapacidad del músculo liso arteriolar para contraerse. Para explicar este fallo se han apuntado varias hipótesis; entre ellas, la muerte de las células vasculares debido a la hipotensión prolongada, inadecuada extracción de oxígeno por los tejidos o una producción

incrementada de prostaglandinas vasodilatadoras. Respecto al papel de las prostaglandinas debe indicarse que la vasoparálisis no es activa sino pasiva; incluso la situación de shock séptico/inflamatorio se denomina «vasopléjico». Tres mecanismos han sido involucrados en este síndrome: activación de los canales de potasio dependientes de ATP (canales K_{ATP}) en la membrana plasmática de los miocitos de la pared vascular; activación de la forma inducible de la óxido nítrico sintasa (iNOS, *inducible NO synthase*), y déficit de vasopresina (**Figura 40**)¹⁰¹.

La vasoconstricción adecuada requiere que ligandos hormonales (por ej. angiotensina II) o neurales (por ej. norepinefrina) interaccionen y activen recep-

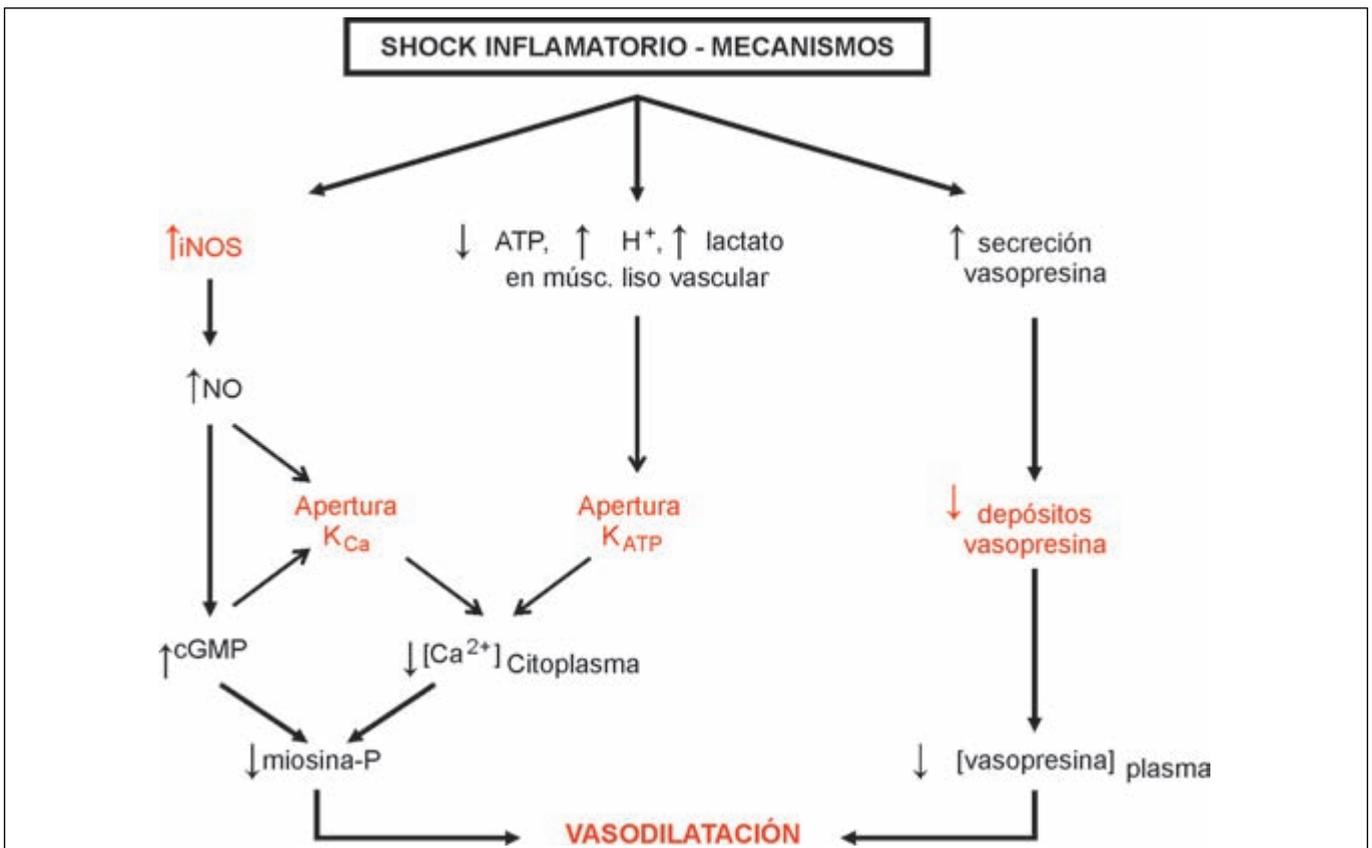


Figura 40. El shock séptico/SIRS vasodilatador se debe a la activación inapropiada de mecanismos vasodilatadores y al fallo concomitante de los mecanismos vasoconstrictores. La síntesis incontrolada de óxido nítrico (NO), al activar a la guanilato ciclasa soluble y generar cGMP, causa desfosforilación de la miosina y vasodilatación subsecuente. Además, el NO y la acidosis metabólica hiperlactacidémica activan los canales de potasio (K_{ATP} y K_{Ca}) en la membrana plasmática de los miocitos vasculares. La hiperpolarización resultante de la membrana impide que el calcio, que media la vasoconstricción inducida por norepinefrina y angiotensina II, entre en la célula. De ahí que persista la marcada vasodilatación e hipotensión a pesar de las altas concentraciones de esas hormonas en el plasma. Por el contrario, los niveles plasmáticos de vasopresina son bajos a pesar de la persistente presencia de hipotensión. Ello se debe a que aunque en la fase inicial del proceso se produce una liberación masiva de la hormona, la reserva se agota, con lo que las concentraciones plasmáticas de la hormona son insuficientes para mantener la presión arterial. Modificada de: Donald W. Landry et al.¹⁰¹; fig. 4, pág. 593.

tores en la superficie de los miocitos y, vía de segundos mensajeros, incrementen la concentración de calcio citosólico. Este incremento resulta de la liberación de calcio por los almacenes intracelulares del catión y de la entrada de calcio extracelular al citosol a través de los canales de calcio dependientes de voltaje. A concentraciones citosólicas adecuadas, el calcio forma un complejo con calmodulina, y este complejo activa una quinasa que fosforila la cadena ligera, reguladora, de miosina. La fosforilación de miosina permite la activación de miosina-ATPasa por actina y, con ello, el establecimiento de puentes entre miosina y filamentos de actina, un proceso que contrae el músculo. De manera opuesta, vasodilatadores como el péptido natriurético atrial y el óxido nítrico activan una quinasa que, interaccionando con miosina fosfatasa, desfosforilan miosina y previenen la contracción muscular.

Además, la vasodilatación patológica y la resistencia a vasoconstrictores que caracteriza al shock séptico/SIRS, vasodilatador y vasopléjico, no puede comprenderse sin entender el papel del potencial de membrana en la regulación del tono vascular. El potencial de reposo de la membrana de las células musculares lisas vasculares oscila entre -30 y -60 mV. La positividad del potencial (despolarización) abre los canales de calcio dependientes de voltaje, incrementando la concentración de calcio citosólico e induciendo vasoconstricción. Al contrario, la hiperpolarización cierra esos canales e induce relajación. También, dado que la vasoconstricción mantenida requiere la entrada de calcio extracelular, la hiperpolarización impide la vasoconstricción aun en presencia de ligandos vasoconstrictores. Una variedad de canales y de transportadores iónicos, en especial canales de potasio, contribuyen al potencial de membrana de los miocitos vasculares. De los cuatro tipos conocidos de canales de potasio en la membrana plasmática de estas células, el canal K_{ATP} es el mejor conocido por tener un papel crítico en la patogénesis del shock vasopléjico.

La apertura de los canales K_{ATP} permite un eflujo de potasio, lo que hiperpolariza la membrana e impide la entrada de calcio a la célula: la activación farmacológica (por ej. diazóxido) de los canales K_{ATP} inhibe la vasoconstricción inducida por catecolaminas o por angiotensina II. Los canales son activados fisiológicamente por la disminución de la concentración intracelular de ATP, y por el incremento de las concen-

traciones citosólicas de hidrogeniones o de lactato, un mecanismo que liga el metabolismo celular con el tono vascular y con el flujo de sangre arteriolo-capilar. En condiciones fisiológicas de reposo los canales K_{ATP} permanecen cerrados, y sus inhibidores (por ej. sulfonilurea, un antidiabético) no causan vasodilatación. Sin embargo, en condiciones hipermetabólicas o de hipoxia, la activación de estos canales causa vasodilatación que puede ser revertida con los fármacos indicados. Activadores neurohormonales de canales K_{ATP} también pueden estar implicados en algunas formas de shock vasopléjico. Péptido natriurético atrial, péptido relacionado con el gen calcitonina y adenosina pueden activar canales K_{ATP} . Las concentraciones plasmáticas de esos tres compuestos están incrementadas en el shock vasopléjico y en las fases avanzadas —shock irreversible— de shock hipovolémico. El canal K_{ATP} también es activado por iNOS.

Un incremento de la síntesis de óxido nítrico contribuye a la hipotensión y a la resistencia a los fármacos vasopresores que ocurren en el shock vasopléjico¹⁰². La producción incrementada de NO, resultado de la expresión de la iNOS, es un hecho constante en el shock vasopléjico y en la fase irreversible del shock hipovolémico. Ello ocurre en varios tipos celulares; entre otros, en los miocitos y en los endotelios vasculares. La inducción de la expresión de iNOS se debe a la activación de NF- κ B provocada por IL-1 β , IL-6, TNF- α , INF- γ y adenosina. La acción vasodilatadora de NO está mediada por la activación de la fosfatasa de la cadena ligera de miosina y, también, por activar canales de potasio dependientes de calcio (canales K_{Ca}); activación, en ambos casos, en los miocitos vasculares. En condiciones normales, una de las funciones de este canal es mitigar el efecto de vasoconstrictores —por hiperpolarización de la membrana—, y tal efecto es característico de los tipos de shock que, ahora, nos ocupa. NO activa canales K_{Ca} por dos mecanismos: por nitrosilación directa del canal, y a través de la activación de una proteína quinasa dependiente de cGMP. Los inhibidores de la síntesis de NO y los bloqueantes de canales K_{Ca} revierten, al menos parcialmente, la hiporrespuesta vascular a los vasoconstrictores en el shock vasopléjico.

La conservación de agua es la principal acción de la vasopresina, una hormona secretada bajo control osmótico que regula la permeabilidad de los tubos

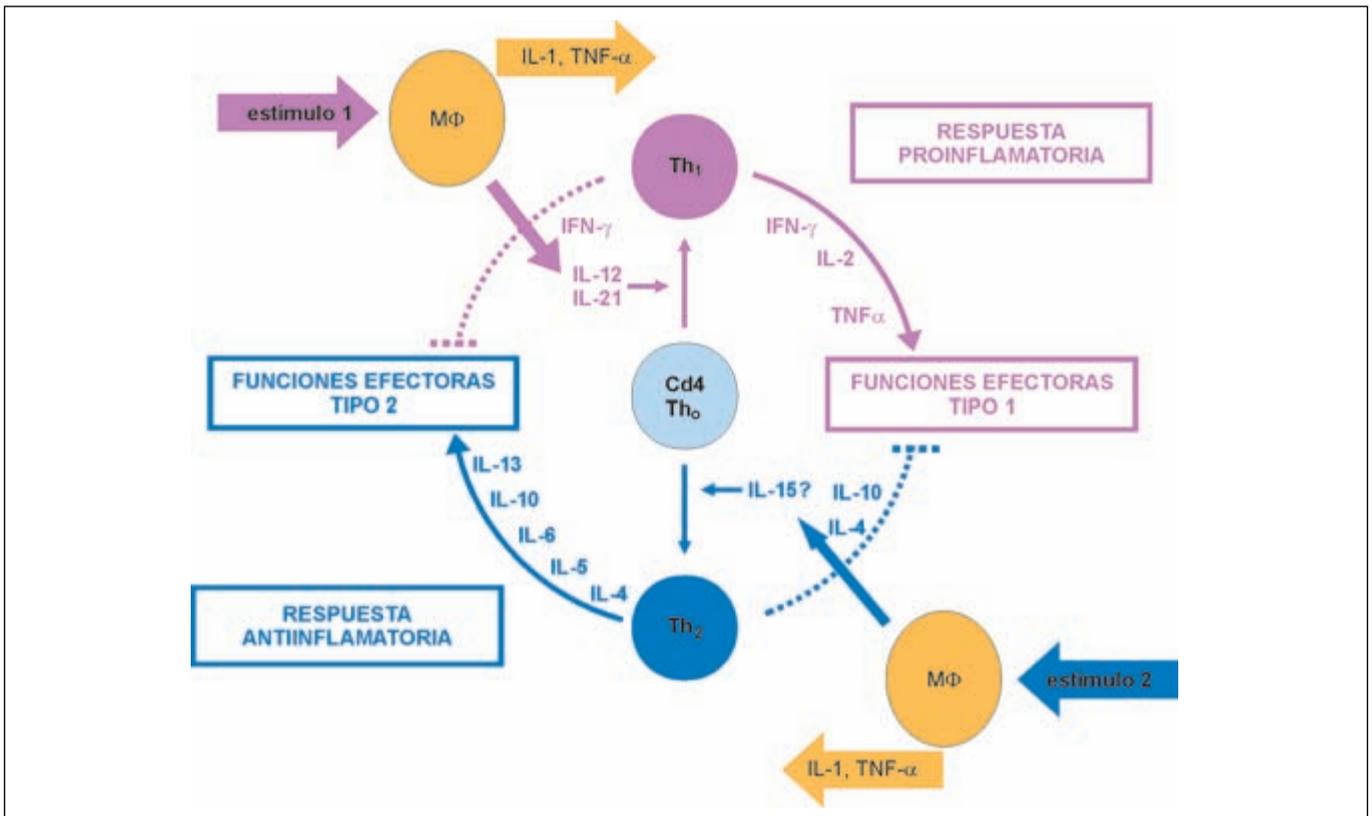


Figura 41. El equilibrio entre la respuesta proinflamatoria y antiinflamatoria depende de un complejo entramado de señales citoquímicas. Los macrófagos responden a señales activadoras según patrones bien establecidos pero mal comprendidos. Un determinado estímulo activa los macrófagos que responden produciendo y liberando citoquinas inflamatorias —IL-1 y TNF- α — y, además, señales que condicionan el futuro de células CD4 Th₀. Si el macrófago libera IL-12, CD4 Th₀ compromete su destino hacia un fenotipo tipo 1 (CD4 Th₁), que define una respuesta proinflamatoria que se traduce en la producción de IL-2, TNF- α e interferón γ (INF- γ). Si los macrófagos responden al estímulo inicial liberando IL-15, CD4 Th₀ compromete su destino hacia un fenotipo tipo 2 (CD4 Th₂), que define una respuesta antiinflamatoria que se traduce en la producción de IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10. Además, cada tipo de respuesta bloquea la contraria, lo que potencia el efecto final. El resultado final de una respuesta tipo 1 será un cuadro, en principio, de defensa del organismo, y la de una respuesta de tipo 2 condicionará, a la postre, una situación de anergia.

colectores renales al agua. Sin embargo, la vasopresina está también involucrada en la homeostasis cardiovascular, secretándose bajo control barorreflejo y provocando vasoconstricción. Mientras que su efecto renal lo consigue con concentraciones plasmáticas del orden de 1-7 pg ml⁻¹, el efecto vasoconstrictor ocurre a concentraciones plasmáticas bastante superiores, del orden de 10-200 pg ml⁻¹. En condiciones normales la contribución de la vasopresina al tono vascular es mínima, pero en situaciones de hipotensión, de cualquier causa, se produce una liberación masiva de la neurohormona; por ello, su participación es importante para mantener la homeostasis circulatoria en las primeras fases de shock; de hecho, individuos con diabetes insípida toleran muy mal la situación de shock. Sin embargo, cuando el shock progresa, la concentración plasmática de vasopresina disminuye paulatinamente,

provocando un cuadro opuesto al de secreción inapropiada de vasopresina. Tal agotamiento se debe a la depleción de los depósitos de la neurohormona en el hipotálamo tras el doble estímulo, osmótico y barorreflejo, mantenido y a una producción poco eficaz. La acción de la vasopresina en pacientes con shock vasopléjico es interesante no sólo porque no tiene efecto en individuos normales, sino porque el shock es resistente a los efectos vasopresores de otras sustancias como norepinefrina, angiotensina II y endotelina. Entre otros efectos, la vasopresina inactiva canales K_{ATP} en los miocitos vasculares; amortigua el incremento, en esas mismas células, del cGMP inducido por NO, y disminuye la síntesis de iNOS estimulada por citoquinas.

Aunque las citoquinas se consideran las principales culpables —«tormenta citoquímica»— del shock séptico

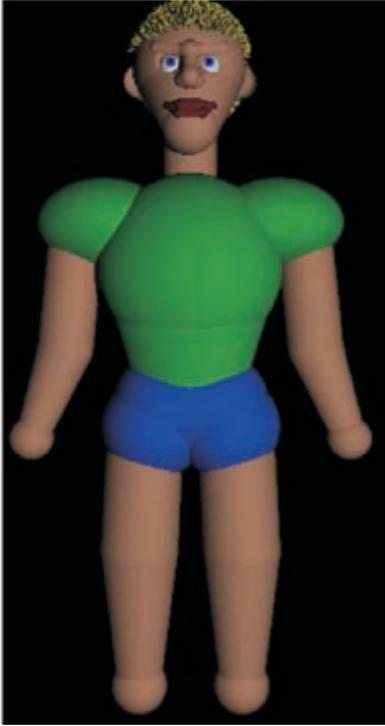
<p>Síndrome cerebral: conciencia alterada, confusión, psicosis.</p> <p>Síndrome de distrés respiratorio agudo: taquipnea PaO₂ < 70mm Hg SaO₂ < 90% PaO₂ / FIO₂ <300.</p> <p>Fracaso hepático: ↑ enzimas ↓ albúmina ↑ PT.</p> <p>Síndrome metabólico: ↑ catabolismo resistencia a la insulina.</p> <p>Síndrome respiratorio periférico: ↑ Hb-P₅₀</p>		<p>Shock: taticardia hipotensión edema masivo generalizado vasoplejía.</p> <p>Fracaso gastrointestinal: síndrome compartimental translocación bacteriana</p> <p>Fracaso renal agudo: oligoanuria ↑ creatininemia.</p> <p>Coagulación intravascular diseminada: ↓ plaquetas ↑ PT / APTT ↓ Proteína C_a ↑ dímeros D.</p>
--	---	--

Figura 42. El síndrome de disfunción o fracaso orgánico múltiple (MODS) afecta a diferentes órganos y sistemas. El síndrome respiratorio periférico se refiere a un incremento de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno; ello dificulta su extracción por los tejidos, contribuyendo a la distorsión metabólica celular. La causa del incremento de la afinidad por el O₂, que se traduce en una disminución de la p50 —presión parcial de oxígeno arterial (27 mm Hg), a la que la hemoglobina presenta una saturación de O₂ del 50%—, es una perturbación del metabolismo del eritrocito que compromete la producción de 2,3-bifosfoglicerato, un modulador alostérico de la hemoglobina que facilita la cesión de oxígeno. A ello se une un trastorno respiratorio central (síndrome de distrés respiratorio agudo) y progresivamente la claudicación del resto de la economía.

co/SIRS, la compleja problemática de la situación deja abiertas innumerables preguntas. En primer lugar, no es aplicable el paradigma «*bench-to-bed*»; en este caso, lo que es válido en el ratón no lo es en el humano. Los protocolos de tratamiento basados en el bloqueo farmacológico de los mediadores químicos fracasan en la clínica humana¹⁰³. Ello ha obligado a buscar nuevas dianas, aunque la estrategia no ha variado¹⁰⁴. El conocimiento actual de las vías de señales celulares que median la respuesta a los microbios ha demostrado que el concepto del bloqueo de la endotoxina, a efectos de prevenir las complicaciones sépticas, es simplista. El ejemplo paradigmático son los ratones C3H/HeJ, que son resistentes a endotoxina sobre la base de una mutación en el gen *TLR4*, y sin embargo presentan mayor mortalidad a la inyección de bacterias completas. Otro es la ineficacia, en clínica humana, del tratamiento con anticuerpos antiendotoxina en pacientes con shock séptico.

Los pacientes con sepsis/SIRS presentan manifestaciones consistentes con inmunosupresión, incluyendo una pérdida de hipersensibilidad diferida, incapacidad de acabar con la infección desencadenante y una predisposición a infecciones nosocomiales. Una razón para el fracaso de la estrategia antiinflamatoria en pacientes con sepsis/SIRS puede ser el cambio del síndrome con el tiempo. Inicialmente, el cuadro puede caracterizarse por una tormenta citoquímica proinflamatoria; pero si la situación persiste, se produce un desplazamiento hacia una situación inmunosupresora antiinflamatoria¹⁰⁵.

Las células CD4 T están programadas para secretar citoquinas con dos perfiles distintos y antagónicos. Pueden secretar citoquinas con propiedades inflamatorias (Th1) como TNF- α , IL-2 o INF- γ , o citoquinas con propiedades antiinflamatorias (Th2) como IL-4 o IL-10. Los factores que determinan si las células CD4

T tendrán un comportamiento Th1 o Th2 se desconocen con precisión, pero entre ellos destacan el tipo del patógeno, el tamaño del inóculo o el sitio de infección¹⁰⁶. Por su parte, las células mononucleares de pacientes con quemaduras extensas o con trauma grave tienen reducidos los niveles de citoquinas Th1, pero incrementados los niveles de citoquinas Th2, y la reversión de la respuesta Th2 mejora la supervivencia entre los pacientes con sepsis/SIRS. Se ha señalado que el incremento progresivo de IL-10 —indicador de respuesta Th2— predice un desenlace fatal (**Figura 41**).

Anergia es un estado de indiferencia al antígeno. Las células T son anérgicas cuando no son capaces de proliferar o de secretar citoquinas en respuesta a sus antígenos específicos. Pacientes en shock séptico/SIRS tienen niveles reducidos de células T circulantes, y sus células T remanentes son hipo o anérgicas. Por su parte, células apoptóticas —gran número de células epiteliales intestinales y linfocitos mueren por apoptosis en tal situación— pueden provocar, al menos en parte, anergia o respuesta Th2 inducidas por sepsis/SIRS.

En el extremo opuesto a la anergia se sitúa el denominado síndrome de shock tóxico (*Toxic shock syndrome*, TSS)¹⁰⁷. El TSS es una enfermedad de comienzo hiperagudo —el shock séptico se instaura progresivamente—, caracterizada por fiebre, erupción cutánea e hipotensión, que puede desembocar, también rápidamente, en una situación letal de fracaso orgánico múltiple. La enfermedad está causada por superantígenos (SAG) bacterianos secretados por *Staphylococcus aureus* y estreptococos del grupo A. Los SAG puentean la presentación antigénica normal; ello, al acoplarse a las moléculas del MHC de la clase II sobre la superficie de las células presentadoras de antígenos, y a regiones variables específicas de la cadena beta del receptor antigénico de las células T. A través de esta interacción, los SAG activan las células T que transmiten órdenes de una magnitud muy superior a las incitadas por la presentación antigénica normal, y que resultan en una liberación masiva de citoquinas que, se cree, es responsable de la espectacularidad del TSS.

Un mecanismo potencial de apoptosis linfocítica puede deberse a la liberación de glucocorticoides inducida por la situación de estrés inflamatorio,

aunque tales hormonas son un fármaco bien asumido¹⁰⁸. La autopsia de pacientes fallecidos por sepsis/SIRS descubre una pérdida masiva, por apoptosis¹⁰⁹, de células inmunocompetentes, en especial de células B, células T CD4 y células dendríticas foliculares, que disminuyeron la producción de anticuerpos, la activación de macrófagos y la presentación antigénica, respectivamente. Otros dos hallazgos constantes en las autopsias son necrosis centrolobulillar hepática junto con necrosis focales cerebrales y miocárdicas, y la discordancia entre los hallazgos histopatológicos y el síndrome responsable de la muerte de estos pacientes. El hallazgo patognomónico es una situación generalizada de «hibernación celular» o de «aturdimiento celular» como ocurre durante la fase de preinfarto del miocardio. Presumiblemente la sepsis/SIRS activa mecanismos de defensa que inducen a las células a mantener, exclusivamente, las funciones básicas. En resumen, la autopsia no revela porqué mueren los pacientes con sepsis/SIRS.

La causa última de la muerte en pacientes con sepsis/SIRS es el fracaso orgánico múltiple¹¹⁰. Típicamente, los pacientes desarrollan, en la fase inicial, problemas funcionales en un solo órgano —por ej. fracaso respiratorio que exige respiración mecánica—; si la enfermedad persiste, irán apareciendo problemas en otros órganos y sistemas, hasta abocar en un fracaso multiorgánico que acarrea, sin son más de tres los afectados, la muerte del paciente (**Figura 42**). La patogénesis del síndrome de fracaso multiorgánico (*Múltiple organ dysfunction syndrome*, MODS) es multifactorial y no bien comprendida. La hipoperfusión e hipoxia tisular son los factores dominantes. Por otro lado, los factores involucrados provocan un depósito generalizado de fibrina que causa oclusión microvascular y extravasación, que comprometen aún más la oxigenación tisular, y trastornos en la homeostasis microvascular que resultan de la producción de sustancias vasoactivas como PAF, histamina y prostanoïdes. Los infiltrados celulares, especialmente neutrófilos, dañan directamente los tejidos al liberar enzimas lisosómicas y especies reactivas —radicales libres— derivadas del metabolismo del oxígeno. TNF- α y otras citoquinas incrementan la expresión de iNOS y la de su producto NO, que causa mayor inestabilidad vascular y que puede contribuir a deprimir, de manera directa, el miocardio. A parte de la hipoxia, las células pueden ser disóxicas —incapacidad de utilizar el oxígeno dispo-

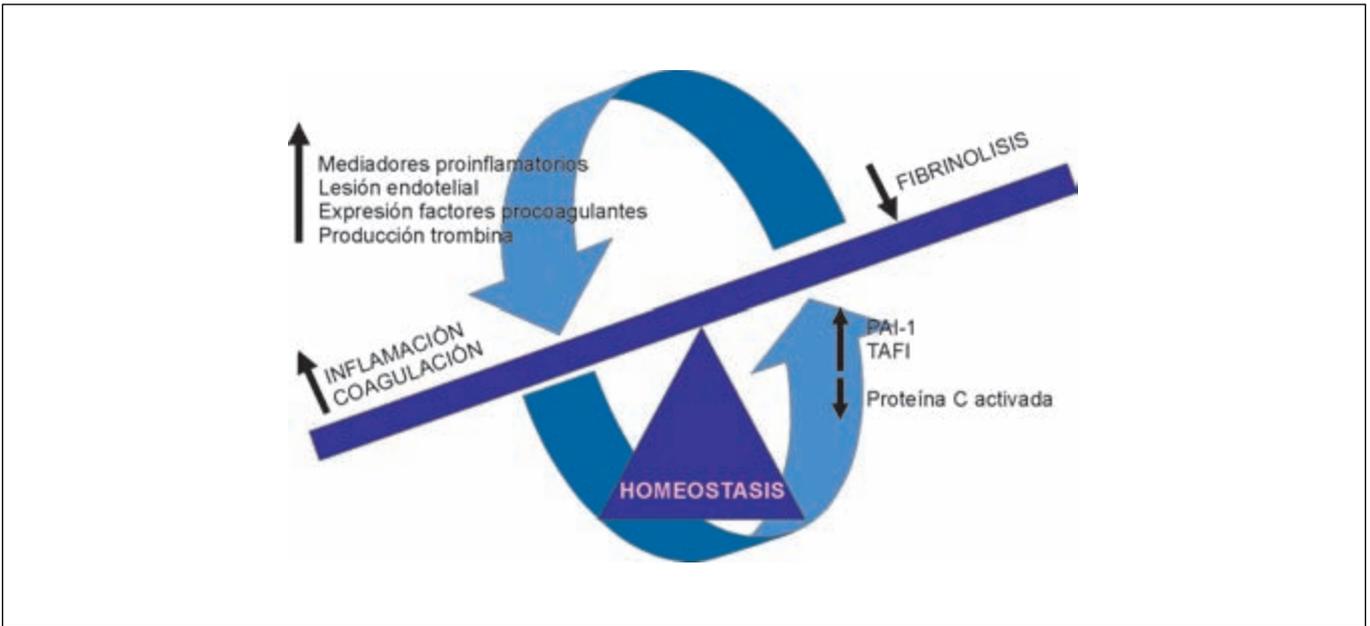


Figura 43. La pérdida de la homeostasis en sepsis/SIRS se debe a un predominio de los factores proinflamatorios y procoagulantes, sobre los antiinflamatorios y fibrinolíticos. PAI-1: inhibidor del activador de plasminógeno-1; TAFI: inhibidor de fibrinólisis activada por trombina (*Thrombin-activable fibrinolysis inhibitor*).

nible—, otra consecuencia del exceso de la producción de NO, que interfiere la respiración mitocondrial.

En la situación de sepsis/SIRS se produce una liberación de factor tisular por monocitos y células endoteliales que, tras activarse por micropartículas circulantes¹¹¹, dispara la producción de trombina a través de la vía extrínseca de la coagulación. La activación de PAR1 por trombina puede representar el engarce entre coagulación e inflamación (ver **Figura 10**). PAR1 es expresado sobre la superficie de plaquetas, células endoteliales y neutrófilos. La activación de PAR1 sobre las células endoteliales por trombina conduce a la liberación de mediadores inflamatorios como PG y NO, mientras que la activación de PAR1 en neutrófilos conduce a la trans migración de estas células hacia el espacio extracelular. Por último, la activación de PAR1 en plaquetas conduce a su adhesión al endotelio y agregación subsiguiente, que potencia el sistema de coagulación y favorece los depósitos de fibrina. Independientemente de la activación de PAR1, la trombina está directamente involucrada en la coagulación al convertir fibrinógeno en fibrina. Por otro lado, el Factor X activado puede actuar directamente sobre las células endoteliales activando una vía no hemostática que utiliza EPR-1, que sinergia su efecto con la activación de PAR1 endotelial por trombina,

para forzar al endotelio a producir masivamente IL-6 y NO. El Factor Xa utiliza la vía clásica de la coagulación para incrementar la concentración de trombina al estimular la conversión de protrombina a trombina.

Una causa adicional del estado procoagulante en sepsis/SIRS es el incremento en la producción del procoagulante PAI-1, y la depresión expresiva de tres factores anticoagulantes: antitrombina, inhibidor del factor tisular y proteína C¹¹². Tales anticoagulantes naturales tienen particular importancia porque, además de su efecto amortiguador sobre la generación de trombina, ejercen propiedades antiinflamatorias al impedir la activación de los factores de transcripción NF- κ B y AP-1. La proteína C (PC) es una serina-proteasa, dependiente de vitamina K que, tras ser activada (*activated-Protein C*, aPC) por trombina complejada con trombomodulina, detiene el proceso de coagulación inactivando los factores V y VIII activados. Por otro lado, aPC utiliza el receptor EPCR como un correceptor de APR1 que, tras esta interacción, induce señales antiinflamatorias que incitan la expresión de la inmunomoduladora MCP-1 (*Monocyte chemoattractant protein*). La interacción entre EPCR y APR1 impide a este último responder a trombina. Además, aPC inhibe PAI-1. El factor V Leyden —una variante del factor V de la coagulación— causa un cuadro de hiper-

coagulabilidad por ser resistente a la aPC; por su parte, la administración de proteína C en sepsis/SIRS ha demostrado resultados optimistas.

El cuadro referido de hipercoagulabilidad e hipofibrinolisis (**Figura 43**) se traduce en el denominado síndrome de «coagulación intravascular diseminada» (*Disseminated intravascular coagulation, DIC*), que expresa el fracaso orgánico más precoz del MODS, y

cuya traducción clínica es un síndrome paradójicamente hemorrágico que justifica la denominación de «coagulopatía por consumo» con la que también se conoce al síndrome¹¹³. El hecho distintivo de DIC es la formación intravascular diseminada de fibrina que provoca la oclusión trombótica de los pequeños vasos (**Figura 44**). La coagulación intravascular compromete el aporte de sangre a tejidos y a órganos y, junto con las alteraciones hemodinámicas y metabólicas,

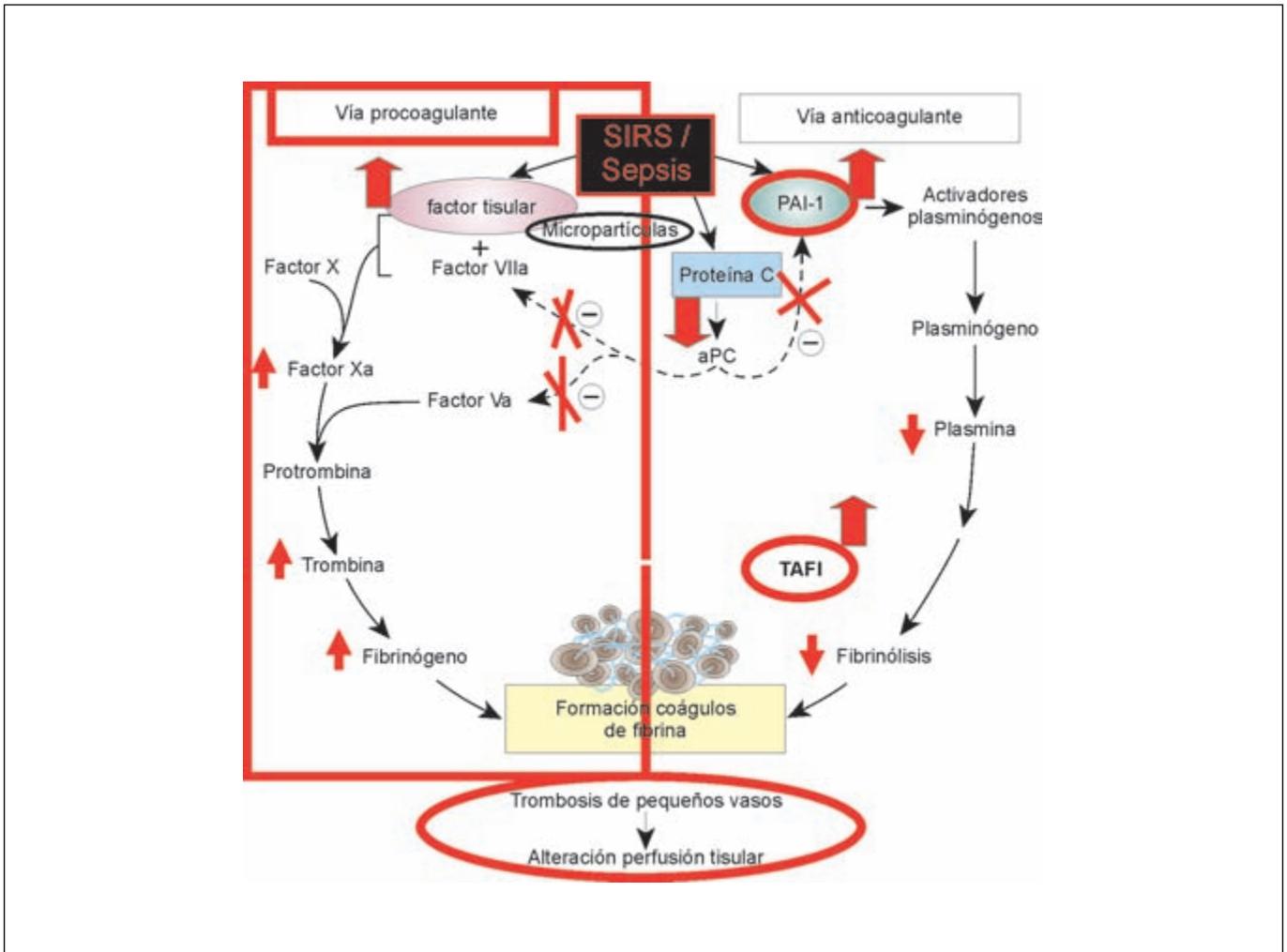


Figura 44. Sepsis/SIRS alteran el equilibrio homeostático normal entre mecanismos procoagulantes y anticoagulantes. Se produce una secreción incrementada de factor tisular que es activado por micropartículas. El factor tisular activado activa, a su vez, al factor VII. Los factores tisular y VII activados inician la vía extrínseca de la coagulación que provoca un aumento significativo de producción de trombina, que genera fibrina a partir de fibrinógeno. Simultáneamente, incrementa la producción de inhibidor del activador de plasminógeno-1 (PAI-1), que resulta en una disminución de la producción de plasmina y, con ello, un fracaso de los mecanismos fibrinolíticos; la fibrina es convertida en productos de degradación (*Fibrin degradation products, FDP*), de especial significado en diagnóstico clínico del síndrome de coagulación intravascular diseminada. Sepsis/SIRS también causa una disminución de la producción del anticoagulante natural proteína C, cuya activación (aPC) inhibe las vías extrínseca (inhibe al factor VII activado) e intrínseca (inhibe al factor V activado), de la coagulación. La aPC también es un potente antitrombótico, a la vez que inhibe PAI-1 y TAFI. Todo ello hace que la disminución de aPC tenga un importante efecto procoagulante, cuyo resultado neto es la formación de depósitos de fibrina en el territorio microvascular, que provoca una alteración de la oxigenación tisular y, finalmente, daño celular. Modificada de: Jonathan Cohen¹¹³; fig. 2, pág. 887.

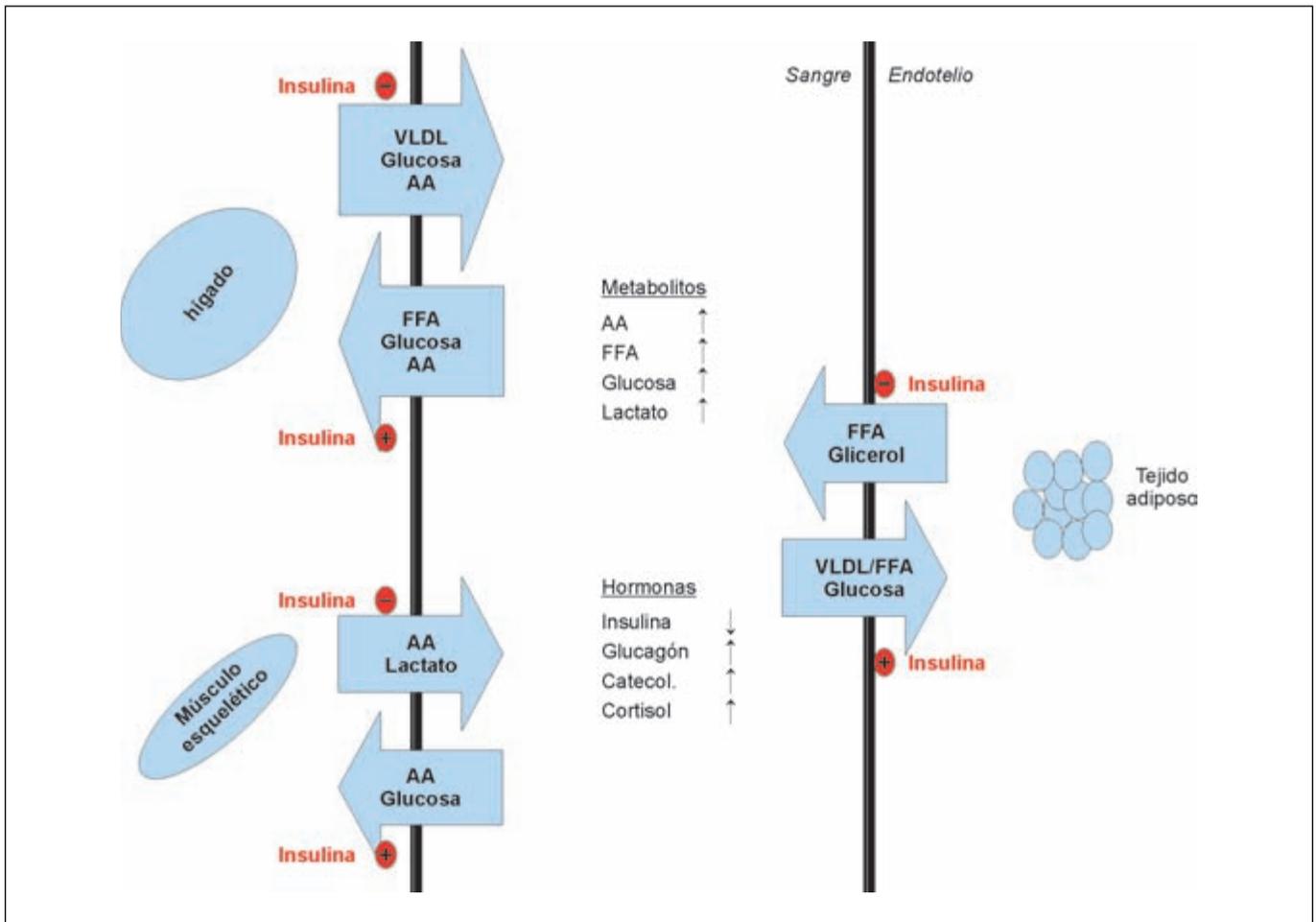


Figura 45. Sepsis/SIRS induce cambios en el perfil hormonal y metabólico. Modificada de: Soren Andersen *et al.*¹¹⁸; fig. 1, pág. 415.

contribuye al MODS. A la vez, la utilización masiva y la subsiguiente depleción de factores de coagulación y de plaquetas resultantes de la coagulación progresiva y mantenida inducen hemorragia masiva que, en ocasiones, puede ser el primer síntoma del síndrome.

El síndrome DIC tiene un efecto dominó, al que siguen, secuencialmente o en paralelo, el fracaso de otros órganos —síndrome de distrés respiratorio agudo¹¹⁴; fracaso renal agudo¹¹⁵; disfunción gastrointestinal acompañada de hemorragia digestiva y translocación bacteriana¹¹⁶, o insuficiencia cardíaca¹¹⁷— que agravan, progresivamente, el pronóstico de la situación. Por su repercusión sobre todo el panorama descrito, junto con DIC, los disturbios endocrinos y metabólicos en la sepsis tienen especial relevancia¹¹⁸.

La respuesta metabólica inicial a la sepsis está estrechamente regulada por cambios endocrinos

específicos, que inactivan vías anabólicas e incrementan la actividad hipofisaria anterior. Durante la sepsis, no solo varía la cantidad de hormonas sino también el patrón de secreción. La resistencia a la insulina es una de las características del paciente séptico, y parece que, en la respuesta metabólica a la sepsis, se perturba el equilibrio entre insulina y sus hormonas contrarreguladoras —cortisol, glucagón, hormona del crecimiento y catecolaminas—, que estimulan la gluconeogénesis y la glicogenólisis hepáticas e inhiben la captación de glucosa mediada por insulina. En la situación séptica, el conjunto de respuestas endocrinas se torna hacia el catabolismo (**Figura 45**). En condiciones basales, el nivel de glucosa está regulado por la oferta hepática, siendo el sustrato metabólico principal los ácidos grasos libres (*Free-fatty acid*, FFA). Parece que durante la sepsis, uno de los problemas metabólicos principales es la incapacidad de utilizar FFA como sustrato metabólico. Normalmente, la oferta hepática

de glucosa depende de la glicogenolisis y resíntesis a partir de carbonos reciclados (por ej. lactato y glicerol), y en mucho menor grado por gluconeogénesis a partir de aminoácidos (AA) como alanina y glutamina; todo ello está marcadamente alterado en la sepsis. La resistencia periférica a la insulina resulta en una disponibilidad incrementada de FFA y de AA como resultado de un desplazamiento hacia lipolisis y proteolisis. La función hepática como reguladora de la glucemia también se ve afectada como resultado de la resistencia hepática a la insulina, lo que se traduce en un incremento de la oferta hepática de glucosa, primero resultante de glicogenolisis y, luego, de gluconeogénesis.

La pérdida de masa muscular resultante de la posturación y de la respuesta catabólica es significativa en sepsis, que se caracteriza por una inhibición de la síntesis y un incremento de la degradación proteicas. Los AA liberados al torrente circulatorio son captados por el hígado, que los utiliza para sintetizar proteínas APR y como sustrato gluconeogénico, en competencia con enterocitos y polimorfonucleares neutrófilos, que también utilizan glutamina como sustrato energético. Los responsables del cuadro metabólico son IL-1, que induce un incremento indirecto de la producción de cortisol tras provocar la liberación hipofisaria de ACTH, y TNF- α , que induce directamente la libe-

ración de cortisol por las glándulas suprarrenales. El músculo séptico, aunque capta glucosa mediante un transportador independiente de insulina, es resistencia al efecto anabólico de esta y, también, a IGF-1 (*Insulin-like growth factor-1*) que media la acción de la hormona de crecimiento.

La concentración plasmática de FFA se eleva significativamente, en parte como resultado de la resistencia hepática a la insulina y, en parte, por la resistencia del tejido adiposo a esta misma hormona. La glucosa es metabolizada en el hepatocito a malonil-CoA, que inhibe la carnitina-palmitoil transferasa, la enzima de la membrana mitocondrial responsable del transporte de los FFA de cadena larga al interior mitocondrial para su oxidación. El acumulo de malonil-CoA también incrementa la síntesis hepática de FFA, triglicéridos y VLDL (*Very low-density lipoproteins*). Se conoce que existen receptores de FFA entre otros, en las células del sistema inmunológico.

La hiperglicemia incrementa la cascada de adhesión leucocitaria; efecto que no es dependiente de cambios en la osmolaridad sino de un incremento en la expresión de moléculas de adhesión (**Figura 46**). Glucosa y FFA, en concentraciones elevadas, incrementan la concentración celular de especies reactivas de oxígeno que, tras interactuar con NO, dan lugar a nuevos radicales que activa NF- κ B, responsable de la expresión de aquellas moléculas. Por otro lado, la hiperglicemia y la resistencia a la insulina afectan las funciones básicas de los fagocitos, lo que podría acarrear consecuencias negativas sobre la función fagocítica en la sepsis. El MIF es una citoquina reguladora que regula la función de los macrófagos y contrarresta los efectos de los glucocorticoides sobre estas células. MIF es secretado constitutivamente por la hipófisis anterior, por las células inmunocompetentes en respuesta a los estímulos proinflamatorios y por las células β pancreáticas en respuesta a la estimulación por glucosa actuando de manera autocrina para estimular la secreción de insulina. MBL (*Mannose-binding lectin*) juega un papel importante en la inmunidad innata; un déficit de MBL, que depende de insulina, se asocia con una susceptibilidad incrementada a las infecciones. Por último, la insulina tiene un efecto anticitoquinético, en especial respecto a TNF- α e IL-6, y TNF- α e IL-1 β están involucrados en el desarrollo de la resistencia a la insulina característica de la sepsis.

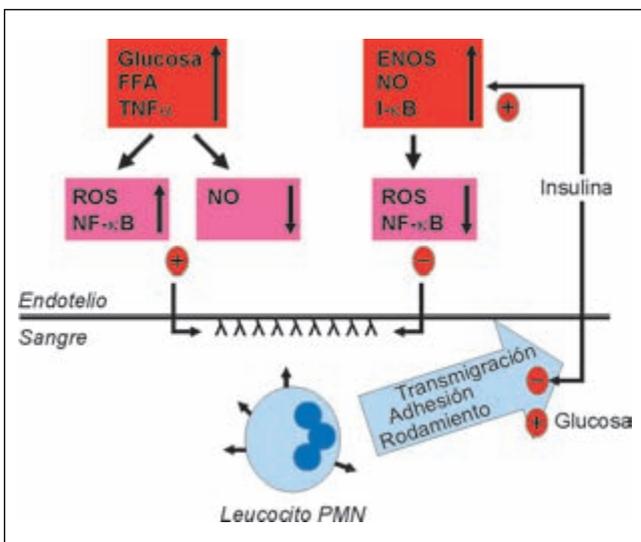


Figura 46. Efectos de la insulina y de glucosa, ácidos grasos libres (FFA) y citoquinas proinflamatorias, sobre la expresión de moléculas de adhesión celular (*Cell adhesion molecule, CAM*) y de las interacciones entre leucocitos y endotelio. Modificada de: Soren Andersen et al.¹¹⁸; fig. 2, pág. 417.

Un nuevo ingrediente que se considera en el MODS son las consecuencias crónicas del shock séptico¹¹⁹. Pacientes que se han recuperado del MODS muestran, a los treinta días de dar por resuelta la situación, una mortalidad del 30-50%; y algunos estudios señalan la persistencia de un riesgo significativo de morir, durante, al menos, los ocho años siguientes del alta hospitalaria. Ello parece significar que la inflamación generalizada y grave, que significa el cuadro de shock inflamatorio, pone en marcha una respuesta inflamatoria, disregulada, que tiene consecuencias a largo plazo respecto a la respuesta del huésped a otros retos.

Retomando el sentir de Lewis Thomas —«un observador de la biología»—, es la inflamación desmedida cuando se produce —«fuego amigo»—, más que la agresión, la causa principal de la enfermedad y su desenlace. Existe un amplio consenso sobre que la sepsis/SIRS es el resultado de la incapacidad de controlar la respuesta inflamatoria. Y desde el lado de las repercusiones a largo plazo de la inflamación, son abundantes y vienen de lejos los datos que ligan hipercolesterinemia y aterogénesis, pero solo recientemente se ha apreciado que son mecanismos inflamatorios los que acoplan ambos términos. El reclutamiento leucocitario y la expresión de citoquinas proinflamatorias caracterizan las fases iniciales del ateroma, y vías inflamatorias promueven trombosis, una complicación letal de la aterosclerosis. Por su parte, el espectro de enfermedades inflamatorias del sistema nervioso central se ha ido expandiendo desde las enfermedades autoinmunes clásicas, como la esclerosis múltiple, a aquellas en las que, como el Alzheimer, existe una respuesta inmune innata provocada por la producción local de proteína- β amiloide, una proteína de la fase aguda de la respuesta inflamatoria. Y datos recientes apoyan el concepto de que la inflamación es un componente crítico de la progresión tumoral. Muchos cánceres se desarrollan a partir de infección, irritación e inflamación, y se ha hecho evidente que el microambiente tumoral, que está orquestado en gran parte por células inflamatorias, es un participante indispensable en el proceso neoplásico, apoyando la proliferación, la supervivencia y la migración celular.

«La vida es breve; la ciencia, extensa; la ocasión, fugaz; la experiencia, insegura; el juicio, difícil. Es

preciso no sólo disponerse a hacer lo debido uno mismo, sino además [que colaboren] el enfermo, los que le asisten, y las circunstancias externas», así comienzan los *Aforismos* hipocráticos. Aplíquese a la inflamación.

BIBLIOGRAFÍA Y NOTAS

1. Weiss U (2002) Nature insight: Inflammation. *Nature* **420**: 845. Medzhitov R (2008) Origin and physiological roles of inflammation. *Nature* **454**: 428-35.
2. Ley K (2001) History of inflammation research. En: Klaus Ley, ed. *Physiology of Inflammation*. Oxford: Oxford University Press; pág. 1-10. El libro de K. Ley ofrece, en 24 cap. que ocupan 525 pág. escritas, en colaboración, por 42 autores una panorámica general de la inflamación; aunque ya tiene media docena de años, es uno de los mejores y actualizados textos sobre inflamación.
3. Bryan CP (1974) *Ancient Egyptian medicine: The Papyrus Ebers*. Chicago, IL: Ares Publishers Inc. Spiegel AD, Springer CR (1997) Babylonian Medicine, Managed Care and Codex Hammurabi, Circa 1700 BC. *Journal of Community Health* **22**: 69-89.
4. *Tratados hipocráticos. VI: Enfermedades*. Traducciones, introducciones y notas de Assela Alamillo Sanz y M.^a Dolores Lara Nava. Madrid: Editorial Gredos-Biblioteca Clásica 143, 1990.
5. Aurelio Cornelio Celso. *Los ocho libros de la Medicina*. Traducción directa del latín, prólogo y notas de Agustín Blázquez. Barcelona: Gráficas Diamante - Obras Maestras, 1966; vol. I: libros I-IV, vol. II: libros V-VIII.
6. Galeno de Pérgamo. *Sobre la localización de las enfermedades*. Traducción y notas de Salud Andrés Aparicio. Madrid: Editorial Gredos S A – Biblioteca Clásica 248, 1997.
7. *Tratados hipocráticos. VIII: Sobre la naturaleza del hombre*. Introducción, traducción y notas de Jorge Cano Cuenca. Madrid: Editorial Gredos S A – Biblioteca Clásica 307, 2003. Klibansky R, Panofsky E, Saxo F (1991) La melancolía en la literatura fisiológica de la Antigüedad. 1. La doctrina de los cuatro humores. En: Raymond Klibansky et al., eds. *Saturno y la Melancolía. Estudios de historia de la filosofía de la naturaleza, la religión y el arte*. Versión española de María Luisa Balsero. Madrid: Alianza Editorial S A – Alianza Forma 100. San Isidoro de Sevilla. Acerca de la medicina: Sobre los cuatro humores del cuerpo. En: *Etimologías*. Texto

- latino, versión española y notas por José Oroz Reta y Maule-A. Marcos Casquero. Madrid: BAC, 2004.
8. Dutrochet R (1824) *Recherches anatomiques et physiologiques sur la structure intime des animaux et des végétaux, et sur leur motilité*. Paris: Ballière et Fils.
 9. Wagner R (1839) *Erläuterungstafeln zur Physiologie und Entwicklungsgeschichte*. Leipzig: Leopold Voss.
 10. Virchow RLC (1871) *Die Cellularpathologie in Ihrer Begründung auf Physiologische und Pathologische Gewebelehre*, 4^a ed. Berlin: August Hirschwald Verlag.
 11. Addison W (1843) *Experimental and practical researches on inflammation and on the origin and nature of tubercles of the lung*. London: Churchill. Waller AV (1846) Microscopic observation on the perforation of the capillaries by the corpuscles of the blood, and on the origin of mucus and pus-globules. *London, Edinburgh and Dublin Philosophical Magazine* **29**:397-405.
 12. Brown H (1995) Ilya Mechnikov and his studies on comparative inflammation. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* **209**: 99-101.
 13. Cohnheim J (1877) *Lectures on General Pathology: A Handbook for Practitioners and Students*. Londres: The New Sydenham Society, 1889.
 14. Schultze MJS (1865) Ein heizbarer Objecttisch und seine Verwendung bei Untersuchungen des Blutes. *Archiv. F. Mikroskop Anatomie* **1**:1-42.
 15. Arthus NM (1903) Injections répétées de serum du cheval chez le lapin. *Comptes rendus des séances de la Société de biologie (Paris)* **55**: 817-20.
 16. Clark ER, Clark EL (1935) Observations on changes in blood vascular endothelium in the living animal. *American Journal of Anatomy* **57**: 385-438.
 17. Urtubey L (1937) Concepto filosófico de la inflamación. Causas, límites, terreno. Conferencia desarrollada en la Facultad de Medicina de Valencia el 23 de abril de 1937. Separata de *Anales de la Universidad de Valencia*, Segunda época. Valencia: Gráficas Vives Mora.
 18. Heilmeyer HCL, Kähler HJ (1962) *Die entzündung und ihre steuerung*. Basel/Stuttgart: Benno Schwabe Co. – Verlag. Versión española de F. Cervantes –La inflamación. Su regulación y tratamiento- para Ediciones Toray S. A. (Barcelona), 1964; págs. xi-xii.
 19. Büchner F (1950) *Allgemeine Pathologie*. Munich/Berlin: Urban & Schwarzenberg.
 20. Thomas L (1971) Adaptive aspects of inflammation. En: B. K. Forscher, J. C. Houck, eds. *Immunopathology of inflammation*. Proceedings Symposium International Inflammation Club (Brook Lodge, Augusta MI USA. Juln 1970) Amsterdam: Excerpta Medica; pág. 1-10.
 21. Weissmann G (1974) Introduction. En: Gerald Weissmann, ed. *Mediators of inflammation*. New York / London: Plenum Press; pág. 6-7.
 22. Auron PE, Webb AC, Rosenwasser LJ, Mucci SF, Rich A, Wolff SM, Dinarello CA (1984) Nucleotide sequence of human monocyte interleukin 1 precursor cDNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **81**: 7907-11. Liu C-C, Steffen M, Frank King, Young JD-E (1987) Identification, isolation, and characterization of a novel cytotoxin in murine cytolytic lymphocytes. *Cell* **51**:393-403. Bevilacqua MP, Pober JS, Wheeler ME, Cotran RS, Gimbrone MA (1985) Interleukin 1 acts on cultured human vascular endothelium to increase the adhesion of polymorphonuclear leukocytes, monocytes, and related leukocyte cell lines. *Journal of Clinical Investigation* **76**: 2003-11. Bevilacqua MP, Pober JS, Mendrick DL, Cotran RS, Gimbrone MA (1987) Identification of an inducible endothelial-leukocyte adhesion molecule. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA* **84**: 9238-42.
 23. Vejlens G (1938) The distribution of leukocytes in the vascular system. *Acta Pathologica and Microbiologica Scandinavica* Suppl 33:1-239.
 24. Marchesi VT, Florey HW (1960) Electron micrographic observations on the emigration of leukocytes. *Quarterly Journal of Experimental Physiology and Cognitive Medical Science* **45**: 343-8. Marchesi VT, Gowans JL (1964) The Migration of Lymphocytes through the Endothelium of Venules in Lymph Nodes: An Electron Microscope Study. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* **159**: 283-90.
 25. Goldman AJ, Cox RG, Brenner H (1967) Slow viscous motion of a sphere parallel to a plane wall - II Couette flow. *Chemical Engineering Science* **22**:653-60. Atherton A, Born GVR (1972) Quantitative investigations of the adhesiveness of circulating polymorphonuclear leucocytes to blood vessel walls. *Journal of Physiology (Lond)* **222**: 447-74. Atherton A, Born GVR (1973) Relationship between the velocity of rolling granulocytes and that of the blood flow in venules. *Journal of Physiology (Lond)* **233**: 157-65.
 26. Abrahamson HA (1927) The mechanisms of the inflammatory process. I. The electrophoresis of the blood cells of the horse and its relation to leukocyte emigration. *Journal of Experimental Medicine* **46** (6): 987-1002.
 27. Jaffe EA, Nachman RL, Becker CG, Minick CR (1973) Culture of human endothelial cells derived from umbilical veins: identification by morphologic

- and immunologic criteria. *Journal of Clinical Investigation* **52**:2745-56.
28. Stamper HB, Woodruff JJ (1976) Lymphocyte homing into lymph nodes: In vitro demonstration of the selective affinity of recirculating lymphocytes for high-endothelial venules. *Journal of Experimental Medicine* **144**:828-33.
 29. Zweifach BW, Grant L, McCluskey RT, eds (1965) *The Inflammatory process*. New York: Academic Press. Gallin JI, Goldstein IM, Syderman R, eds (1992) *Inflammation. Basic principles and clinical correlates*, 2^a. ed. New York: Raven Press Ltd.
 30. Nathan C (2002) Points of control inflammation. *Nature* **420**: 846-52.
 31. Bunting M, Harris ES, McIntyre TM, Prescott SM, Zimmerman GA (2002) Leukocyte adhesion deficiency syndromes: adhesion and tethering defects involving [beta] 2 integrins and selectin ligands. *Current Opinion in Hematology* **9**: 30-5.
 32. Biesma DH, Hannema AJ, van Velzen-Blad H, Mulder L, van Zwieten R, Kluijft I, Roos D (2001) A family with complement factor D deficiency. *Journal of Clinical Investigation* **108**: 233-40. Cascales Angosto M (2007) NADPH oxidasa fagocítica y enfermedad granulomatosa crónica. En: M.^a Cascales y Pedro G^a Barreno, eds. *Bioquímica y Fisiopatología del Sistema Inmunológico*. Madrid: Instituto de España; pp 135-68.
 33. Soiffer R, Lynch T, Mihm M, Jung K, Rhuda C, Schmollinger JC, Hodi FS, Liebster L, Lam P, Mentzer S, Singer S, Tanabe KK, Cosimi AB, Duda R, Sober A, Bhan A, Daley J, Neuberger D, Parry G, Rokovich J, Richards L, Drayer J, Berns A, Clift S, Cohen LK, Mulligan RC, Dranoff G (1998) Vaccination with irradiated autologous melanoma cells engineered to secrete human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor generates potent antitumor immunity in patients with metastatic melanoma. *Proceedings of the National Academy of Science USA* **95**: 13141-6.
 34. Morales A (1996) Intravesical therapy of bladder cancer: an immunotherapy success story. *International Journal of Urology* **3**: 329-333.
 35. Nathan C (2002) *Ibid*³⁰.
 36. Zhou B-BS, Elledge SJ (2000) The DNA damage response: putting checkpoints in perspective. *Nature* **408**: 433-9. García Barreno P (2001) Maquinaria de reparación del ADN. En: María Cascales, ed. *Proliferación celular y cáncer 2000*. Madrid: Real Academia Nacional de Farmacia, Monografía VIII, págs. 145-75. Lehmann AR (2001) The xeroderma pigmentosum group D (*XPD*) gene: one gene, two functions, three diseases. *Genes & Development* **15**: 15-23. Lilley DMJ, White MF (2001) The junction-resolving enzymes. *Nature Review of Molecular Cell Biology* **2**: 433-43. Norbury CJ, Hickson ID (2001) Cellular responses to DNA damage. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* **41**: 367-402. Coussens LM, Werb Z (2002) Inflammation and cancer. *Nature* **420**: 860-7. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroğlu M, Lunec J (2003) Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB Journal* **17**: 1195-214. Wu Z-H, Shi Y, Tibbetts RS, Miyamoto S (2006) Molecular linkage between the kinase ATM and NF- κ B signalling in response to genotoxic stimuli. *Science* **311**: 1141-6.
 37. Bartek J, Lukas J (2006) The stress of finding NEMO. *Science* **311**: 1110-1.
 38. Pockley AG (2001) Heat shock proteins in health and disease: therapeutic targets or therapeutic agents? *Expert Reviews in Molecular Medicine*. En: www-ermm.cbcu.cam.ac.uk (visitado: sept 2008). Cascales M^a (2002) *Proteínas del estrés y carabinas moleculares. Proyecciones clínicas y terapéuticas*. Discurso inaugural del Curso académico. Madrid: Real Academia Nacional de Farmacia. En: www.ranf.com/publi/ina.html (visitado: sept 2008). Macario AJL, Conway de Macario E (2005) Sick chaperones, cellular stress, and disease. *The New England Journal of Medicine* **353**: 1489-501. Zhang K, Kaufman RJ (2008) From endoplasmic-reticulum stress to the inflammatory response. *Nature* **454**: 455-62.
 39. Müller S, Scaffidi P, Degryse B, Bonaldi T, Ronfani L, Agresti A, Beltrame M, Bianchi ME (2001) The double life of HMGB1 chromatin protein: architectural factor and extracellular signal. *The EMBO Journal* **20**: 4337-40. Scaffidi P, Misteli T, Bianchi ME (2002) Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation. *Nature* **418**: 191-5. Czura CJ, Yang H, Tracey KJ (2003) High mobility group box-1 as a therapeutic target downstream of tumor necrosis factor. *The Journal of Infectious Diseases* **187** (Suppl. 2): S391-6. Yang H, Wang H, Czura CJ, Tracey KT (2005) The cytokine activity of HMGB1. *Journal of Leukocyte Biology* **78**: 1-8.
 40. Schiffmann E, Corcoran BA, Wahl SM (1975) N-Formylmethionyl peptides as chemoattractants for leucocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **72**: 1059-62. Carp H (1982) Mitochondrial N-formylmethionyl proteins as chemoattractants for neutrophils. *Journal of Experimental Medicine* **155**: 264-75. Mills JS, Miettinen HM, Vlases MJ, Jesaitis AJ (1999) The N-formyl peptide receptor. Structure, signalling, and disease. En: Charles N. Sheran, Peter A. Ward, eds. *Molecular and Cellular Basis of Inflammation*.

- Totowa, New Jersey: Humana Press; cap. 10, pág. 215-45. Wenzel-Seifert K, Seifert R (2001) Chemoattractant receptor-G-protein coupling. En Klaus Ley², *Ibid*, pág 146-88. Fu H, Karlsson J, Bylund J, Movitz C, Karlsson A, Dchlgren C (2006) Ligand recognition and activation of formal peptide receptors in neutrophils. *Journal of Leukocyte Biology* **79**: 247-56.
41. Los mastocitos o células cebadas de Ehrlich, cuyas vías de diferenciación y heterogeneidad todavía no son bien conocidas, se originan de precursores del linaje hematopoyético y circulan por los sistemas sanguíneo y linfático antes de acomodarse en los tejidos y adquirir sus características efectoras finales. Los mastocitos producen una impresionante batería de mediadores que confiere a la célula cierta distinción en el sistema inmunológico. Muchos de tales mediadores –histamina, proteasas (triptasa) y TNF- α - son liberados muy rápidamente mediante exocitosis a partir de abundantes reservas intracelulares. Tras la activación, los mastocitos sintetizan, también rápidamente, metabolitos activos de ácido araquidónico, prostaglandinas y leucotrienos; y también se activa con rapidez un programa de expresión génica que conduce a la síntesis de novo de varias citoquinas, quimioquinas y, de nuevo, TN F- α . De esta guisa, el mastocito activado influye sobre el sistema vascular a través de los potentes metabolitos vasoactivos histamina e eicosanoides; sobre monocitos y linfocitos a través de las propiedades quimiotácticas y diferenciales de quimioquinas y citoquinas, y sobre la matriz extracelular a través de potentes hidrolasas. Benoist C, Mathis D (2002) Mast cells in autoimmune disease. *Nature* **420**: 875-8.
 42. Schneider E, Rolli-Derkinderen M, Arock M, Dy M (2002) Trends in histamine research: new functions during immune responses and hematopoiesis. *Trends in Immunology* **23**: 255-63.
 43. Tilley SL, Coffman TM, Koller BH (2001) Mixed messages: modulation of inflammation and immune responses by prostaglandins and thromboxanes. *The Journal of Clinical Investigation* **108**: 15-23. Soberman RJ, Christmas P (2003) The organization and consequences of eicosanoid signalling. *The Journal of Clinical Investigation* **111**: 1107-13.
 44. Cocks TM, Moffatt JD (2000) Protease-activated receptors: sentries for inflammation? *Trends in Pharmacological Sciences* **21**: 103-8. Cirino G, Napoli C, Bucci M, Cicala C (2000) Inflammation-coagulation network: are serine protease receptors the knot? *Trends in Pharmacological Sciences* **21**: 170-2. Fiorucci S, Distrutti E (2002) Role of PAR2 in pain and inflammation. *Trends in Pharmacological Sciences* **23**: 153-5. Ossovskaya VS, Bunnett NW (2004) *Protease-Activated Receptors: Contribution to Physiology and Disease. Physiological Reviews* **84**: 579-621.
 45. Marinissen MJ, Gutkin JS (2001) G-protein-coupled receptors and signalling networks: emerging paradigms. *Trends in Pharmacological Sciences* **22**: 368-76. Pierce KL, Premont RT, Lefkowitz RJ (2002) Seven-transmembrane receptors. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **3**: 639-50.
 46. McIntyre TM, Zimmerman GA, Prescott SM (1999) Biologically active oxidized phospholipids. *The Journal of Biological Chemistry* **274**: 25189-92. Prescott SM, Zimmerman GA, Stafforini DM, McIntyre TM (2000) Platelet-activating factor and related lipid mediators. *Annual Review of Biochemistry* **69**: 419-45. Fukushima N, Ishii I, Contos JAJ, Weiner JA, Chun J (2001) Lysophospholipid receptors. *Annual Reviews of Pharmacology & Toxicology* **41**: 507-34. Hla T, Lee M-J, Ancellin N, Paik JH, Kluk MJ (2001) Lysophospholipids – Receptors revelations. *Science* **294**: 1875-8.
 47. Böckmann S, Paegelow I (2000) Kinins and kinin receptors: importance for the activation of leukocytes. *Journal of Leukocyte Biology* **68**: 587-92. Eriksson U, Danilczyk U, Penninger JM (2002) Just the beginning: novel functions for angiotensin-converting enzymes. *Current Biology* **12**: R745-52. Schmaier AH (2002) The plasma kallikrein-kinin system counterbalances the rennin-angiotensin system. *The Journal of Clinical Investigation* **109**: 1007-9.
 48. Ibelgaufts H (2006) *COPE: Cytokines & Cells Online Pathfinder Encyclopaedia* (version 18.0) En: <http://www.copewithcytokines.de> (visitado: sept 2008). Fernández EJ, Lolis E (2002) Structure, function, and inhibition of chemokines. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* **42**: 469-99. Ozaki K, Leonard WJ (2002) Cytokine and cytokine receptor pleiotropy and redundancy. *The Journal of Biological Chemistry* **277**: 29355-8. Luster AD (1998) Chemokines – Chemotactic cytokines that mediate inflammation. *The New England Journal of Medicine* **338**: 436-45.
 49. ILs-1 = 17 kDa (153-159 aminoácidos); IL-6 = 185 aa.; TNF- α = 157 aa., no glicosilado).
 50. Los datos de clonación han permitido agrupar los receptores de citoquinas en una familia génica y dos subfamilias. La familia de receptores de citoquinas tipo 1 (CRF1: *cytokine receptor family type 1*) incluye, entre otros, los receptores de IL-2, IL-4, IL-5, IL-6 e IL, y también los de trombopoyetina, hormona del crecimiento y prolactina. La familia de receptores de citoquinas tipo 2 (CRF2), comprende, entre otros,

- los receptores de IFNs e IL-10. Por su parte, aproximadamente, 500-10000 receptores de alta afinidad para TNF- α se expresan sobre la superficie de todos los tipos celulares somáticos a excepción de los eritrocitos. El receptor contiene en su extremo C-terminal citosólico un “domino muerte” involucrado en la apoptosis. Al menos tres isoformas conforman la familia de TNF-Rs; además existe una forma trunca-da soluble que bloquea, por competencia, las acciones de la interacción del TNF con su receptor *in situ*.
51. Witko-Sarsat V, Rieu P, Descamps-Latscha B, Lesavre P, Halbwachs-Mecarelli L (2000) Neutrophils: molecules, functions and pathophysiological aspects. *Laboratory Investigation* **80**: 617-53. Juliano RL (2002) Signal transduction by cell adhesion receptors and the cytoskeleton: Functions of integrins, cadherins, selectins, and immunoglobulin-superfamily members. *Annual Review of Pharmacology & Toxicology* **42**: 283-323. Kubes P (2002) Introduction: The complexities of leukocyte recruitment. *Seminars in Immunology* **14**: 65-72. Marshall D, Haskard DO (2002) Clinical overview of leukocyte adhesion and migration: where are we now? *Seminars in Immunology* **14**: 133-40. Muller WA (2002) Leukocyte-endothelial cell interactions in the inflammatory response. *Laboratory Investigation* **85**: 521-33. Olson TS, Ley K (2002) Chemokines and chemokine receptors in leukocyte trafficking. *American Journal of Physiology – Regulatory Integrative & Comparative Physiology* **283**: R7-R28. Muller WA (2002) Leukocyte-endothelial cell interactions in the inflammatory response. *Laboratory Investigation* **82**: 521-33. Shimaoka M, Takagi J, Springer TA (2002) Conformational regulation of integrin structure and function. *Annual Review of Biophysic & Biomolecular Structure* **31**: 485-516. Weber C (2003) Novel mechanistic concepts for the control of leukocyte transmigration: specialization of integrins, chemokines, and junctional molecules. *Journal of Molecular Medicine* **81**: 4-19. Lekstrom-Himes JA, Gallin JI (2000) Immunodeficiency diseases caused by defects in phagocytes. *The New England Journal of Medicine* **343**: 1703-14. Cook-Mills JM, Deem TL (2005) Active participation of endothelial cells in inflammation. *Journal of Leukocyte Biology* **77**: 487-95. Ley K, Brooke A (acceso: dic 2006) *Inflammation: The leukocyte adhesion cascade*. En: <http://bme.virginia.edu/ley/menu.html> (visitado: sept 2008).
 52. Lawrence MB (2001) *In vitro* models of leukocyte adhesion. En: *Ibid*²; pág. 204-21.
 53. Savill J, Haslett C (1991) Resolution of inflammation. En: *Ibid*²; pág. 496-25. Elghetany MT, Lacombe F (2003) Physiologic variations in granulocytic surface antigen expression: impact of age, gender, pregnancy, race, and stress. *Journal of Leukocyte Biology* **75**: 157-62.
 54. Delves PJ, Roit IM (2000) The immune system. *New England Journal of Medicine* **343**: 37-49 (1ª parte), 108-17 (2ª parte). Miyasaki KT (acceso: dic. 2006). Course name & number: Oral Biology 471b: *Basic immunology* (Course materials). En: http://www.dent.ucla.edu/Curriculum/course_outline.asp?id=99 (visitado: sept 2008).
 55. Baumann H, Gauldie J (1994) The acute phase response. *Immunology Today* **15**: 74-80. Steel DM, Whitehead AS (1994) The major acute phase reactants: C-reactive protein, serum amyloid P component and serum amyloid A protein. *Immunology Today* **15**: 81-8. C. Hack E, Wolbink G-J, Schalkwijk C, Speijer H, Hemens WT, van den Bosch H (1997) A role for secretory phospholipase A₂ and C-reactive protein in the removal of injured cells. *Immunology Today* **18**: 111-5. Tilg H, Dinarello CA, Mier JW (1997) IL-6 and APPs: anti-inflammatory and immunosuppressive mediators. *Immunology Today* **18**: 428-32. Hasday JD, Singh IS (2000) Fever and the heat shock response: distinct, partially overlapping processes. *Cell Stress & Chaperones* **5**: 471-80.
 56. Libby P (2002) Inflammation in atherosclerosis. *Nature* **420**: 868-74. Merlini G, Bellotti V (2003) Molecular mechanisms of amyloidosis. *The New England Journal of Medicine* **349**: 583-96.
 57. Blobel GC, Schiemann WP, Lodish HF (2000) Role of transforming growth factor β in human disease. *The New England Journal of Medicine* **342**: 1350-8.
 58. Walport MJ (2001) Complement. *New England Journal of Medicine* **344**: 1058-66 (1ª parte), **344**: 1140-4 (2ª parte). Mastellos D, Lambris JD (2002) Complement: more than a ‘guard’ against invading pathogens? *Trends in Immunology* **23**: 485-91. Gerard C (2003) Complement C5a in the sepsis syndrome – Too much of a good thing? *The New England Journal of Medicine* **348**: 167-9.
 59. Hack CE, Wolbink G-J, Schalkwijk C, Speijer H, Hermans WT, van den Bosch H (1997) A role for secretory phospholipase A₂ and C-reactive protein in the removal of injured cells. *Immunology Today* **18**: 111-5.
 60. Ganz T, Lehrer RI (1999) Antibiotic peptides from higher eukaryotes: biology and applications. *Molecular Medicine Today* **5**: 292-7. Levy O (2000) Antimicrobial proteins and peptides of blood: templates for novel antimicrobial agents. *Blood* **96**: 2664-72. Hancock REW, Chapple DS (2002) Peptide antibiotics. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **43**: 1317-23. Yang D, Biragyn A, Kwak LW, Oppenheim JJ (2002) Mammalian defensins in

- immunity: more than just microbicidal. *Trends in Immunology* **23**: 291-6. Zasloff M (2002) Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature* **415**: 389-95. Zudaire E, Portal-Núñez S, Cuttita F (2006) The central role of adrenomedullin in host defense. *Journal of Leukocyte Biology* **80**: 237-44.
61. Matsuzaki K (1999) Why and how are peptide-lipid interactions utilized for self-defense? Magainins and tachyplesins as archetypes. *Biochimica et Biophysica Acta* **1462**: 1-10. Shai Y (1999) Mechanism of the binding, insertion and destabilization of phospholipid bilayer membranes by α -helical antimicrobial and cell non-selective membrane-lytic peptides. *Biochimica et Biophysica Acta* **1462**: 55-70. Yang L, Weiss TM, Lehrer R, Huang HW (2000) Crystallization of antimicrobial pores in membranes: magainin and protegrin. *Biophysical Journal* **79**: 2002-9.
62. Aitken AE, Richardson TA, Morgan ET (2006) Regulation of drug-metabolizing enzymes and transporters in inflammation. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* **46**: 123-49. Serhan CN (2007) Resolution phase of inflammation: Novel endogenous anti-inflammatory and proresolving lipid mediators and pathways. *Annual Review of Immunology* **25**: 101-37.
63. Brash AR (1999) Lipoxygenases: occurrence, functions, catalysis, and acquisition of substrate. *The Journal of Biological Chemistry* **274**: 23679-82. McIntyre TM, Zimmerman GA, Prescott S (1999) Biologically active oxidized phospholipids. *The Journal of Biological Chemistry* **274**: 25189-92. Seeds MC, Bass DA (1999) Regulation and metabolism of arachidonic acid. *Clinical Reviews in Allergy and Immunology* **17**: 5-26. Campbell WB (2000) New role for epoxyeicosatrienoic acids as anti-inflammatory mediators. *Trends in Pharmacological Sciences* **21**: 125-7. Willoughby DA, Moore AR, Colville-Nash PR (2000) Cyclopentanone prostaglandins – new allies in the war on inflammation. *Nature Medicine* **6**: 137-8. Brash AR (2001) Arachidonic acid as bioactive molecule. *The Journal of Clinical Investigation* **107**: 1339-45. Fitzpatrick FA, Soberman R (2001) Regulated formation of eicosanoid. *The Journal of Clinical Investigation* **107**: 1347-51. Funk CD (2001) Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology. *Science* **294**: 1871-5. Serhan CN, Oliy E (2001) Unorthodox routes to prostanoid formation: new twists in cyclooxygenase-initiated pathways. *The Journal of Clinical Investigation* **107**: 1481-89. Riedemann NC, Ward PA (2002) Oxidized lipid protects against sepsis. *Nature Medicine* **8**: 1084-5. Serhan CN (2007) Resolution phase of inflammation: novel endogenous anti-inflammatory lipid mediators and pathways. *Annual Review of Immunology* **25**: 1001-37.
64. Marnett LJ, Rowlinson SW, Goodwin DC, Kalgutkar AS, Lanzo CA (1999) Arachidonic acid oxygenation by COX-1 and COX-2. *The Journal of Biological Chemistry* **274**: 22903-6. FitzGerald GA, Loll P (2001) Series introduction: COX in a crystal ball: current status and future promise of prostaglandin research [Perspective series: Prostaglandins and their precursors (G. A. FitzGerald, Series ed.)] *The Journal of Clinical Investigation* **107**: 1335-7. Smith WL, Langenbach R (2001) Why there are two cyclooxygenase isozymes. *The Journal of Clinical Investigation* **107**: 1491-5. Soberman RJ, Christmas P (2003) The organization and consequences of eicosanoid signalling. *The Journal of Clinical Investigation* **111**: 1107-12.
65. Harris SG, Padilla J, Koumas L, Ray D, Phipps RP (2002) Prostaglandins as modulators of immunity. *Trends in Immunology* **23**: 144-50. Wallin RPA, Lundqvist A, Moré SH, von Bonin A, Kiessling R, Ljunggren H-G (2002) *Trends in Immunology* **23**: 130-5. Pockley AG (2003) Heat shock proteins as regulators of the immune response. *The Lancet* **362**: 469-76.
66. Cronstein BN (1999) Adenosine and its receptors during inflammation. En: Charles N Sheran & Peter A Ward, eds. *Molecular and Cellular Basis of Inflammation*. Totowa, New Jersey: Humana Press; cap 12, pág 259-74. Linden J (2001) Molecular approach to adenosine receptors: receptor-mediated mechanisms of tissue protection. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* **41**: 775-87.
67. Sternberg EM, ed (1977) Neural-immune interactions in health and disease (Perspectives series: Cytokines and the brain). *The Journal of Clinical Investigation* **100**: 2641-7. Tilg H, Dinarello CA, Mier JW (1997) IL-6 and APPS: anti-inflammatory and immunosuppressive mediators. *Immunology Today* **18**: 428-32. Melmed S (2001) The immunoneuroendocrine interface. *The Journal of Clinical Investigation* **108**: 1563-6. Webster JI, Tonelli L, Sternberg EM (2002) Neuroendocrine regulation of immunity. *Annual Review of Immunology* **20**: 125-63.
68. Arzt E (2001) gp130 cytokine signalling in the pituitary gland: a paradigm for cytokine-neuro-endocrine pathways. *The Journal of Clinical Investigation* **108**: 1729-33. Auernhammer CJ, Melmed S (2001) The central role of SOCS-3 in integrating the neuro-immunoendocrine interface. *The Journal of Clinical Investigation* **108**: 1735-403. Kishimoto T (2005) Interleukin-6: From basic science to medicine – 40 years in immunology. *Annual Review of Immunology*

- 23: 1-23. Rose-John S, Scheller J, Elson G, Jones SA (2006) Interleukin-6 is coordinated by membrane-bound and soluble receptors: role in inflammation and cancer. *Journal of Leukocyte Biology* **80**: 227-36.
69. Tracey KJ (2002) The inflammatory reflex. *Nature* **420**: 853-9. Molina PE (2005) Neurobiology of the stress response: contribution of the sympathetic nervous system to the neuroimmune axis in traumatic injury. *Shock* **24**: 3-10. Libert C (2003) A nervous connection. *Nature* **421**: 328-9.
70. Anderson KV, Nüsslein-Volhard C (1984) Information for the dorsal-ventral pattern of the *Drosophila* embryo is stored as maternal mRNA. *Nature* **311**: 223-7. Anderson KV, Bokla L, Nüsslein-Volhard C (1985) Establishment of dorsal-ventral polarity in the *Drosophila* embryo: the induction of polarity by the *Toll* gene product. *Cell* **42**: 791-8.
71. Belvin MP, Anderson KV (1996) A conserved signaling pathway: the *Drosophila* toll-dorsal pathway. *Annual Review of Cell and Development Biology* **12**: 393-416.
72. Hashimoto C, Hudson KL, Anderson KV (1988) The *Toll* gene of *Drosophila*, required for dorsal-ventral embryonic polarity, appears to encode a transmembrane protein *Cell* **52**: 269-79.
73. Schneider DS, Hudson KL, Lin TY, Anderson KV (1991) Dominant and recessive mutations define functional domains of *Toll*, a transmembrane protein required for dorsal-ventral polarity in the *Drosophila* embryo. *Genes and Development* **5**: 797-807.
74. Akira S, Takeda K (2004) Toll-like receptor signalling. *Nature Reviews Immunology* **4**: 499-511.
75. Lemaitre B, Nicolas E, Michaut L, Reichhart J-M, Hoffmann JA (1996) The dorsoventral regulatory gene cassette *spätzle/Toll/cactus* controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell* **86**: 973-83.
76. Los insectos, que carecen de la alta especificidad y memoria inmunológicas características de los vertebrados, pueden combatir la invasión de microbios eficientemente produciendo péptidos antimicrobianos específicos. Tras la infección, *Drosophila* sintetiza rápidamente una batería de antibióticos en el cuerpo graso —un equivalente funcional del hígado— que secreta en la hemolinfa. Esos compuestos se clasifican en dos grupos, uno agrupa péptidos antibacterianos —cecropinas, dipterocina, drosocina, attacina y defensina—; el segundo representado por el antifúngico drosocina. Los genes de los dos grupos de péptidos se expresan diferencialmente: drosocina requiere la activación de la vía *Toll*. **Ver:** Akira S (2000) Toll-like receptors: lessons from knockout mice. *Biochemical Society Transactions* **28**: 551-6.
77. Rock FL, Hardiman G, Timans JC, Kastelein RA, Bazan JF (1998) A family of human receptors structurally related to *Drosophila* Toll. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **95**: 588-93.
78. Di Noia JM, Neuberger MS (2007) Molecular mechanisms of antibody somatic hypermutation. *Annual Review of Biochemistry* **76**: 1-22.
79. Poltorak A, He XL, Smirnova I, Liu M-Y, Van Huffel C, Du X, Birdwell D, Alejos E, Silva M, Galanos C, Freudenberg M, Ricciardi-Castagnoli P, Layton B, Beutler B (1998) Defective LPS signalling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in *Tlr4* gene. *Science* **282**: 2085-8.
80. Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway CA (1997) A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature* **388**: 394-7.
81. Barton GM (2008) A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. *The Journal of Clinical Investigation* **118**: 413-20.
82. Janeway CA (1989) Approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology. *Cold Spring Harbor Symposia in Quantum Biology* **54** (Pt.1): 1-13.
83. En la rama adaptativa del sistema inmunológico, los timocitos puberales expresan moléculas CD4 y CD8 —son CD4⁺CD8⁺—, pero la relación de esas células con moléculas HLA hace que aquellas escondan o enseñen una u otra, con lo que los timocitos maduros serán del tipo CD4⁺CD8⁺ o del tipo CD4⁻CD8⁺. Que finalmente se exprese una u otra molécula está determinado por el tipo de receptor de la célula T (TCR). Algunos TCR prefieren interactuar con moléculas HLA-clase I y otros con moléculas HLA-clase II. Ello se denomina «restricción TCR».
84. Medzhitov R, Janeway C (2000) Innate immunity. *The New England Journal of Medicine* **343**: 338-44. Beutler B (2002) Toll-like receptors: how they work and what they do. *Current Opinion in Hematology* **9**: 2-10. Janeway CA, Medzhitov R (2002) Innate immune recognition. *Annual Review of Immunology* **20**: 197-216. Takeda K, Kaisho T, Akira S (2003) Toll-like receptors. *Annual Review of Immunology* **21**: 335-76. Beutler B (2004) Inferences, questions and possibilities in Toll-like receptor signalling. *Nature* **430**: 257-63. Murphy TJ, Paterson HM, Mannick JA, Lederer JA (2004) Injury, sepsis, and the regulation of Toll-like receptor responses. *Journal of Leukocyte Biology* **75**: 400-7. Yoshimura A, Mori H, Oishi M, Aki D, Hanada T (2004) Regulation of TLR signalling and inflammation by SOCS family proteins. *Journal of Leukocyte Biology* **75**: 422-7. Kobayashi KS, Flavell RA (2004) Shielding the double-edged sword: negative regula-

- tion of the innate immune system. *Journal of Leukocyte Biology* **75**: 428-33. Miggin SM, O'Neill LAJ (2006) New insights into the regulation of TLR signalling. *Journal of Leukocyte Biology* **80**: 220-6.
85. Raetz CRH, Whitfield C (2002) Lipopolysaccharide endotoxins. *Annual Review of Biochemistry* **71**: 635-700.
86. Rauchhaus M, Coats AJS, Anker SD (2000) The endotoxin-lipoprotein hypothesis. *The Lancet* **356**: 930-3.
87. Akira S (2000) Toll-like receptors: lessons from knockout mice. *Biochemical Society Transactions* **28**: 551-6. Akira S, Takeda K (2004) Toll-like receptors signalling. *Nature Reviews Immunology* **4**: 499-511. West AP, Koblansky AA, Ghosh S (2006) Recognition and signalling by toll-like receptors. *Annual Review of Cell and Development Biology* **22**: 409-37. Gay NJ, Gangloff M (2007) Structure and function of toll receptors and their ligands. *Annual Review of Biochemistry* **76**: 141-65. Bauer S, Hartmann G, eds (2008) *Toll-like Receptors (TLRs) and Innate Immunity*. Berlin: Springer.
88. La noción de una asociación monógama entre un TLR en particular y su ligando, como en el caso de TLR4 y LPS, es una simplificación. Por ejemplo, TLR2 puede ser activado por componentes de las paredes celulares de levaduras y de micobacterias; y, aunque los TLRs suelen formar homodímeros, mayor complejidad introduce el hecho de que los TLRs pueden ser capaces de combinarse en heterodímeros para formar un repertorio capaz de distinguir con precisión ligandos estrechamente relacionados. Por otra parte, los polimorfismos en la familia de las proteínas Toll pueden proporcionar parte de la explicación del porqué de la enorme variabilidad en la respuesta individual, a lo que parecen ser similares agresiones infecciosas.
89. Lich JD, Ting JP-Y (2007) CATERPILLER (NLR) family members as positive and negative regulators of inflammatory responses. *Proceedings of the American Thoracic Society* **4**: 263-6.
90. Chamaillard M, Girard SE, Viala J, Philpott DJ (2003) Nods, Nalps and Naip: intracellular regulators of bacterial-induced inflammation. *Cellular Microbiology* **5**: 581-92. Tschopp J, Martinon F, Burns K (2003) NALPS: A novel protein family involved in inflammation. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **4**: 95-104. Inohara N, Chamaillard M, McDonald C, Nuñez G (2005) NOD-LRR proteins: role in host-microbial interactions and inflammatory diseases. *Annual Review of Biochemistry* **74**: 355-83.
91. Strober W, Murray PJ, Kitani A, Watanabe T (2006) NOD1 and NOD2. *Nature Review Immunology* **6**: 9-20.
92. Drenth JPH, van der Meer JWM (2006) The inflammasome – A linebacker of innate defense. *The New England Journal of Medicine* **355**: 730-2. Mariathasan S, Monack DM (2007) Inflammasome adaptors and sensors: intracellular regulators of infection and inflammation. *Nature Reviews Immunology* **7**: 31-40. Martinon F, Tschopp J (2007) Inflammatory caspases and inflammasomes: master switches of inflammation. *Cell Death and Differentiation* **14**: 10-22.
93. Fink SL, Cookson BT (2005) Apoptosis, pyroptosis, and necrosis: mechanistic description of dead and dying eukaryotic cells. *Infection and Immunity* **73**: 1907-16.
94. Las caspasas son cisteína-aspartato proteasas, que se sintetizan como zimógenos inactivos y sufren un proceso proteolítico durante su activación. En términos generales, las caspasas se agrupan en apoptóticas e inflamatorias. El conjunto de caspasas que degradan los sustratos específicos que producen los cambios asociados a la apoptosis se denominan caspasas ejecutoras que, en los mamíferos, están representadas por las caspasas -3, -6 y -7. En la mayor parte de las ocasiones, las caspasas apoptóticas ejecutoras son activadas por caspasas iniciadoras (caspasas -10, -8, -2 o -9). El mecanismo de activación de estas caspasas iniciadoras depende críticamente de la estructuración de plataformas a partir de elementos reclutados, tales como el complejo inducido por señales de muerte para la caspasa-8 y la caspasa-10; el PYDosoma para la caspasa-2, y, la mejor conocida, el apoptosoma, para la caspasa 9. Tales plataformas integran señales celulares que conducen a la formación de una enzima activa eficaz que inicia cascadas de señales específicas. Estas plataformas son complejos multiproteicos ensamblados sobre una proteína, que actúa a modo de un esqueleto central y que, característicamente, posee tres dominios principales: una región involucrada en el reconocimiento del ligando, un dominio que dirige la oligomerización y un tercer dominio implicado en reclutar las caspasas. El ejemplo prototípico es la proteína de andamiaje apoptosómico APAF-1 (*Apoptosis protease-activating factor*). APAF-1 contiene un dominio CARD para el reclutamiento de la caspasa 9; un dominio NB-ARC que permite la oligomerización del complejo, y un dominio de repetición WD (triptófano-ácido aspártico) —similar a LRR— que reconoce el citocromo *c* mitocondrial, la señal que conduce a la apoptosis por activación del apoptosoma. Ver: Leist M, Jäättelä M (2001) Four deaths and a funeral: from caspases to alternative mechanisms. *Nature Reviews*

- Molecular Cell Biology* **2**: 589-97. Macfarlane M, Williams AC (2004) Apoptosis and disease: a life or death decision. *EMBO Reports* **5**: 674-8. Shintani T, Klionsky DJ (2004) Autophagy in health and disease: a double-edged sword. *Science* **306**: 990-5.
95. Martinon F, Pétrilli V, Mayor A, Tardivrel A, Tschopp J (2006) Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome. *Nature* **440**: 237-41. Strober W, Murray PJ, Kitani A, Watanabe T (2006) Signalling pathways and molecular interactions of NOD1 and NOD2. *Nature Reviews Immunology* **6**: 9-20. Ting JP-Y, Kastner DL, Hoffman HM (2006) CATERPILLER, pyrin and hereditary immunological disorders. *Nature Reviews Immunology* **6**: 183-95.
 96. Kawai T, Akira S (2006) Innate immune recognition of viral infection. *Nature Immunology* **7**: 131-7.
 97. Thomas L (1972) Germs. *The New England Journal of Medicine* **287**: 553-5.
 98. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee: Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RMH, Sibbald WJ (1992) Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest* **101**: 1644-55 & *Critical Care Medicine* **20**: 864-74. Tsan M-F, Gao B (2004) Endogenous ligands of Toll-like receptors. *Journal of Leukocyte Biology* **76**: 524-9.
 99. Es un hecho admitido que el cuadro de sepsis/shock séptico es un problema clínico de primer orden; ello, por ser uno de los principales contribuyentes a la morbilidad y mortalidad hospitalaria, por la confusión terminológica utilizada para describir el cuadro, y porque su base fisiopatológica en general e inmunológica en particular, no están bien comprendidas, de lo que se deriva terapéuticas poco eficaces. De la prolífica bibliografía sobre el tema se han escogido tres: (1) Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M (2003) The epidemiology of sepsis in United States from 1979 through 2000. *The New England Journal of Medicine* **348**: 1546-54. Revisa, aproximadamente, 750 millones de hospitalizaciones en EE. UU, durante un periodo de 22 años, identificando 10.319,418 casos de sepsis, que fue más frecuente en hombres que en mujeres, y en personas de color. La incidencia, entre 1979 y 2000, tuvo un incremento anual de un 8.7 %; la tasa de sepsis debida a hongos incrementó un 207 %, siendo las bacterias gram-positivas el patógeno predominante a partir de 1987. La tasa de mortalidad hospitalaria disminuyó desde el 27.8 %, durante el periodo 1979-1984, al 17.9 %, durante el periodo 1995-2000, aunque el número total de muertes sigue incrementando. El MODS es la causa principal de mortalidad en sepsis, siendo esta menor entre aquellos pacientes en los que fracasan menos de tres órganos. (2) La segunda referencia bibliográfica es un número especial del *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* (vol **35**, nº 9, págs 529-696, 2003) que recoge las actas de un simposio sobre sepsis que tuvo lugar en mayo de 2003, bajo el patrocinio de la Fundación Nobel (*Nobel Symposium* No. 124: *Septicemia and shock – Pathogenesis and novel therapeutic strategies*). (3) Munforf RS (2006) Severe sepsis and septic shock. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease* **1**: 467-96.
 100. International Sepsis Definitions Conference: Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent J-L, Ramsay G (2003) 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ ATLS/SIS International sepsis definitions Conference. *Critical Care Medicine* **31**: 1250-6.
 101. Landry DW, Oliver JA (2001) The pathogenesis of vasodilatory shock. *The New England Journal of Medicine* **345**: 588-95.
 102. Michel T, Feron O (1997) Nitric oxide synthases: nitric oxide and nitric oxide synthases. *Journal Clinical Investigation* **100**: 2146-52. Nathan C (1997) Inducible nitric oxide synthase: what difference does it make? *Journal Clinical Investigation* **100**: 2417-23. Colasanti M, Suzuki H (2000) The dual personality of NO. *Trends in Pharmacological Science* **21**: 249-51. Saul PW (2002) Regulation of endothelial nitric oxide synthase. *Annual Review of Physiology* **64**: 749-74.
 103. Rittirsch D, Hoesel LM, & Ward PA (2006) The disconnect between animal models of sepsis and human sepsis. *Journal of Leukocyte Biology* **81**: 137-43.
 104. Riedemann NC, Guo R-F, Ward PA (2003) Novel strategies for the treatment of sepsis. *Nature Medicine* **9**: 517-24. Matthay MA, Ware LB (2004) Can nicotine treat sepsis? *Nature Medicine* **10**: 1161-2.
 105. Hotchkiss RS, Karl IE (2003) The pathophysiology and treatment of sepsis. *The New England Journal of Medicine* **348**: 138-50.
 106. Moine P, Abraham E (2004) Immunomodulation and sepsis: impact of the pathogen. *Shock* **22**: 297-308.
 107. McCormick JK, Yarwood JM, Schlievert PM (2001) Toxic shock syndrome and bacterial superantigens: an update. *Annual Review of Microbiology* **55**: 77-104.
 108. Rhen T, Cidlowski JA (2005) Antiinflammatory action of glucocorticoides – New mechanisms for old drugs. *The New England Journal of Medicine* **353**: 1711-23.
 109. Hotchkiss RS, Nicholson DW (2006) Apoptosis and caspases regulate death and inflammation in sepsis.

- Nature Review of Immunology* **6**: 813-22.
- 110.** Barie PS, ed (2000) Solving the puzzle of multiple organ dysfunction syndrome. *Surgical Infections* **1**: 153-54. Todo el número está dedicado a MODS; nueve artículos de revisión cubren todos los aspectos del síndrome: pág. 155-248.
 - 111.** Las Micropartículas son fragmentos membranares — 0.1-1 μm — procedentes de células activadas, que han incurrido en apoptosis o en piroptosis. Su presencia anómala en el plasma representa un indicador fiable de daño celular. Las micropartículas —exponen fosfatidilserina procoagulante tras el fallo del equilibrio flip-flop de la membrana (**Ver**: figura 21)— contribuyen a las respuestas hemostática, inflamatoria y angiogénica. Representan una superficie fosfolipídica adicional para la activación hemostática, fundamentalmente del factor tisular y de los factores de contacto XII-quininógeno. **Ver**: Morel O, Toti F, Hugel B, Bakouboula B, Camoin-Jau L, Dignat-George F, Freyssinet J-M (2006) Procoagulant microparticles. Disrupting the vascular homeostasis equation? *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology* **26**: 2594-604. Furie B, Furie BC (2008) Mechanisms of thrombus formation. *The New England Journal of Medicine* **359**: 938-49.
 - 112.** Okajima K (2001) Regulation of inflammatory responses by natural anticoagulants. *Immunological Reviews* **184**: 258-74.
 - 113.** Levi M, Cate HT (1999) Disseminated intravascular coagulation. *The New England Journal of Medicine* **341**: 586-92. Jonathan Cohen (2002) The immunopathogenesis of sepsis. *Nature* **420**: 885-91.
 - 114.** Ware LB, Matthay MA (2000) The acute respiratory distress syndrome. *The New England Journal of Medicine* **342**: 1334-49.
 - 115.** Schrier RW, Wang W (2004) Acute renal failure and sepsis. *The New England Journal of Medicine* **351**: 159-69.
 - 116.** Deitch EA, Xu D-Z, Lu Q (2006) Gut lymph hypothesis of early shock and trauma-induced multiple organ dysfunction syndrome: a new look at gut origin sepsis. *Journal of Organ Dysfunction* **2**: 70-9.
 - 117.** Kelly RA, Smith TW (1997) Cytokines and cardiac contractile function. *Circulation* **95**: 778-81.
 - 118.** Andersen SK, Gjedsted K, Christiansen C, Tønnsen E (2004) The roles of insulin and hyperglycemia in sepsis pathogenesis. *Journal of Leukocyte Biology* **75** (3): 413-21. Hotamisligil GS (2006) Inflammation and metabolic disorders. *Nature* **444**: 860-7.
 - 119.** Benjamin CF, Hogaboam CM, Kunkel SL (2004) The chronic consequences of severe sepsis. *Journal of Leukocyte Biology* **75**: 408-12.