

Neutrófilos: Los *mártires* de la respuesta inmune innata

Neutrophils: The *martyrs* of the innate immune response

Alexia Almaraz-Arreortua¹ & Honorio Torres-Aguilar^{2*}

Fecha de recepción: 18 de noviembre de 2021

Fecha de aceptación: 28 de febrero de 2022

1 M. en C. en Biomedicina Experimental, Estudiante de Doctorado de la Facultad de Medicina y Cirugía de la Universidad Autónoma "Benito Juárez" de Oaxaca, México. Correo electrónico: alexiaarreortua1@gmail.com

2 Profesor Investigador Titular, Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma "Benito Juárez" de Oaxaca. Av. Universidad s/n, Col. Cinco Señores, Oaxaca, México. Autor de correspondencia: qbhonorio@hotmail.com. ORCID: 0000-0003-2853-4891

Resumen

Bajo condiciones normales, los neutrófilos son los leucocitos más abundantes en circulación sanguínea y forman parte de la respuesta inmune innata al ser las primeras células en reclutarse en los sitios de lesión o inflamación para eliminar y evitar la diseminación de microorganismos patógenos o agentes extraños de forma inmediata sin depender de una exposición previa. Principalmente al detectar estructuras comunes conservadas en patógenos de forma directa a través de los receptores de reconocimiento de patrones (PRR) o facilitado por moléculas solubles denominadas opsoninas, activando sus funciones efectoras que incluyen la fagocitosis con la destrucción intracelular a través del fagolisosoma, la liberación del contenido de los gránulos antimicrobianos por desgranulación y la formación de trampas extracelulares de neutrófilos (NET). En este artículo se describe la relevancia de estas células en la respuesta inmune resaltando sus características que los convierten en “los mártires” al ser capaces de morir fieles a su causa protegiendo al organismo de las infecciones.

Palabras clave: Neutrófilos, respuesta inmune innata, fagocitosis, trampas extracelulares de neutrófilos.

Abstract

Under normal conditions, the neutrophils are the leukocytes more abundant in the bloodstream, and these cells are a relevant part of the innate immune response. They are the first cells recruited to sites of injury or inflammation to eliminate and prevent the spread of pathogenic microorganisms or foreign agents immediately without depending on previous exposure. Neutrophils directly detect common structures conserved in pathogens through pattern recognition receptors (PRR) or facilitated by soluble molecules called opsonins. This recognizing activates the neutrophil effector functions, including phagocytosis, intracellular killing through phagolysosome formation, the release of antimicrobial granule contents by degranulation, or neutrophil extracellular traps (NET). This article describes the relevance of these cells in the immune response, highlighting the characteristics that make them “martyrs” as they are capable of dying faithful to their cause, protecting the body from infections.

Keywords: Neutrophils, Innate immune response, Phagocytosis, Neutrophils extracellular traps.

CICLO DE VIDA DE LOS NEUTRÓFILOS HUMANOS

El Sistema Inmune Innato (SII) es la primera línea de defensa del cuerpo contra cualquier agente invasor (bacterias, virus, parásitos, hongos, toxinas, productos químicos, etc). Este sistema, se compone de distintas barreras físicas (piel, mucosas, epitelios), mecánicas (estornudos, tos, expulsión de excreciones como la orina y las lágrimas), químicas (lisozima de la saliva, ácido del estómago), etc., además de mecanismos de defensa compuestos por células (celulares) y factores solubles (moleculares) que están presentes incluso antes de que se presente una infección. Lo anterior, le permite al SII responder con rapidez ante cualquier amenaza.

Uno de los principales componentes celulares del SII son los neutrófilos (también conocidos como polimorfonucleares - PMN) que reciben ese nombre debido a que su núcleo es multilobulado y su citoplasma contiene abundantes gránulos. Responsables de monitorear el interior de los vasos sanguíneos (endotelio vascular) con el fin de migrar y ejercer sus funciones efectoras ante señales de daño liberadas por diversas células residentes en los tejidos.-

Los neutrófilos se producen diariamente en órganos hematopoyéticos como la médula ósea, bazo y (al menos en ratones) en los pulmones por un proceso llamado granulopoyesis, encargados de renovar y mantener números constantes de granulocitos (neutrófilos, eosinófilos y basófilos) en circulación sanguínea. Los cuales surgen a partir de células troncales hematopoyéticas (HSC) que dan origen a todas las células sanguíneas, dividiéndose y originando progenitores monogranulocíticos (GMP) comprometidos (Grieshaber-Bouyer & Nigrovic, 2019), que siguen una serie de etapas o estadios intermedios celulares antes de llegar al neutrófilo maduro que se libera a circulación (Figura 2A).

Morfológicamente este proceso de granulopoyesis se visualiza por la condensación del núcleo celular de una forma redonda a una morfología en banda (arriñonada), seguida de una apariencia multilobular - segmentada, debido a que el material genético se condensa al bajar la tasa de síntesis proteica con el fin de aumentar su especialización al conservar solo aquellos componentes que le serán útiles. Así mismo, presentan formación de gránulos intracelulares que se sintetizan en el siguiente orden, primero los azurofílicos > específicos > de gelatinasa > secretores, mientras que su liberación al espacio extracelular es en orden inverso (Figura 1) (Ma, Yabluchanskiy

& Lindsey., 2013). Almacenan un arsenal de enzimas antimicrobianas, que incluyen elastasa, mieloperoxidasa, catelicidinas, defensinas y metaloproteinasas, además de otros patrones moleculares asociadas a daño (DAMP) que amplifican la señal en la zona de lesión, también llamadas alarminas por su capacidad de activar la respuesta inmune (Yang et al., 2017).

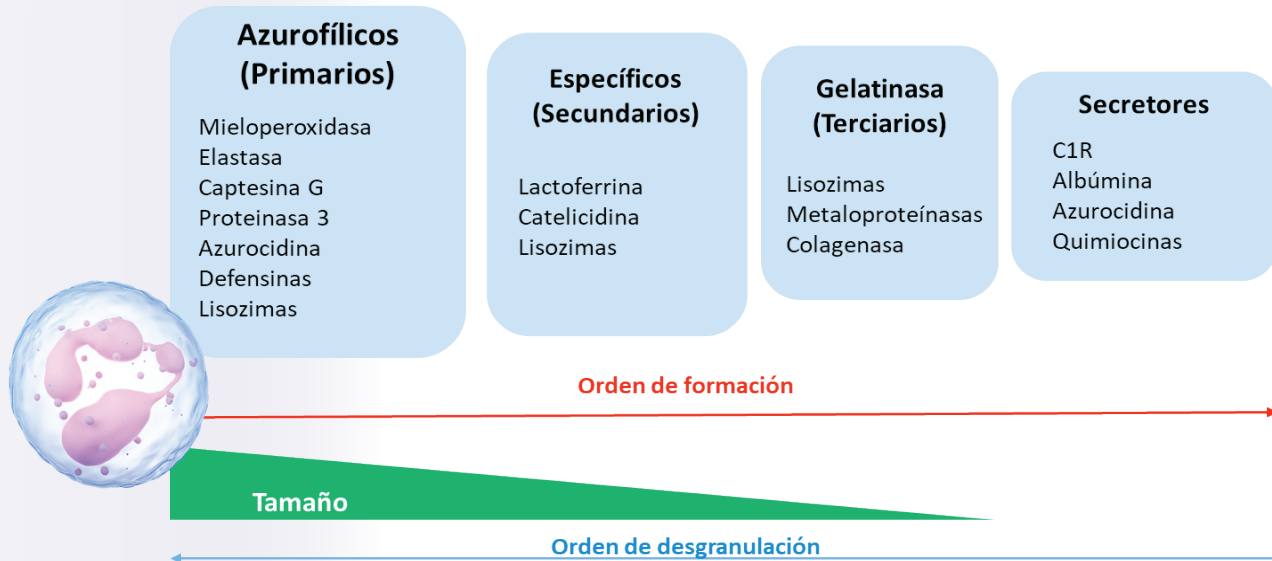


Figura 1. Tipos de gránulos en neutrófilos y sus componentes. Los diversos gránulos se forman durante el proceso de granulopoyesis caracterizados por contener un arsenal que media la migración, inflamación y procesos antimicrobianos. Su síntesis sigue un orden, primero los gránulos azurofílicos y específicos, especializados en liberar su contenido para delimitar y eliminar patógenos, seguidos de los gránulos de gelatinasa que contiene moléculas responsables de degradar la matriz extracelular para facilitar la trans migración ha tejido, como las metaloproteinasas, y por último, los gránulos secretores, los únicos que continúan formándose posterior a la maduración del neutrófilo debido a que se obtienen del medio extracelular por endocitosis. Fuente: Basada de Ma, Yabluchanskiy & Lindsey., 2013.

Los anteriores componentes son relevantes para describir y comprender las siguientes etapas intermedias que se generan antes de llegar a un neutrófilo maduro. Se inicia con un grupo altamente proliferativo en médula ósea denominado “pre-neutrófilos” que incluye diversos estadios o fases inmaduras de neutrófilos, siendo los mieloblastos, promielocitos y mielocitos (Figura 2A), caracterizados por el comienzo de la condensación del núcleo, así como de la formación de gránulos primarios “azurofílicos” y secundarios “específicos” que contienen moléculas con propiedades antimicrobianas.

En la segunda etapa, estas células se especializan y pierden la capacidad de proliferar, denominados “neutrófilos inmaduros” que incluye a los estadios de metamielocitos y neutrófilos en banda, con la síntesis de gránulos terciarios de gelatinasa y secretoras que contienen moléculas que facilitan su migración y trans migración a los tejidos. El ciclo de granulopoyesis finaliza al obtener un núcleo distintivo con 3 a 5 lóbulos denominados “neutrófilos maduros”, altamente migratorios y especializados para sus funciones efectoras (Figura 2A) (Németh, Sperandio & Mócsai., 2020). Se observan por microscopía óptica en los estudios de rutina de hematología a través de frotis sanguíneo con tinciones de Wright o Giemsa que facilitan contrastar el núcleo y sus diferentes gránulos del citoplasma.

Una vez maduros los neutrófilos migran a circulación y su liberación está estrictamente controlada, mediados por proteínas que son secretadas por diversas células que juegan un papel vital, induciendo movimientos celulares en respuesta a un gradiente químico (quimiocinas) por el proceso denominado quimiotaxis. En su membrana celular los neutrófilos expresan receptores para quimiocinas, abreviadas como CXCR, que se unen a sus respectivos ligandos de quimiocinas CXCL, que favorecen su migración por un gradiente en su concentración en circulación sanguínea o en tejido, orquestando el equilibrio entre su liberación y retención. Durante el proceso de granulopoyesis, los neutrófilos aumentan la expresión en superficie de CXCR2, como señal de madurez para poder salir a circulación donde se encuentran sus ligandos (CXCL1, CXCL2, CXCL5 y CXCL8) en las células endoteliales, bajo un gradiente del factor estimulante de colonia de granulocitos (G-CSF) que interfiere con la interacción CXCR4-CXCL12 (Rosales, 2018) (Kruger, Saffarzadeh, Weber, Rieber, Radsak, von Bernuth, Benarafa, Roos, Skokowa & Hartl., 2015).

De los vasos sanguíneos los neutrófilos se movilizan a los sitios de infección o inflamación a través del proceso conocido como cascada de adhesión de leucocitos, que sigue una serie de pasos: rodamiento en el endotelio vascular, arresto y eventualmente la trans migración o diapédesis para entrar en los tejidos (Figura 2B). Las células endoteliales y los leucocitos residentes activados por señales de daño o por patógenos, aumentan la expresión en su superficie de receptores de adhesión que favorecen la captura (es decir, el anclaje) de los neutrófilos que se encuentran circulando, por ejemplo, E y P - selectinas y las moléculas de adhesión intercelulares 1- 2 (ICAM-1/ICAM-2); mientras L-selectina facilita el enlace a otro

neutrófilo que ya está rodando. Estos cambios en el endotelio ejercen un freno en el flujo de los neutrófilos favoreciendo su rodamiento en dirección del flujo sanguíneo, simultáneamente activa la exocitosis de proteasas contenidas en los gránulos de gelatinasa y secretoras para digerir la matriz extracelular permitiéndoles llegar a la membrana basal, logrando con ello su trans migración a los tejidos periféricos al abandonar la vasculatura entre los espacios de los pericitos, las células que recubren las paredes vasculares (Figura 2B) (Liew & Kubes., 2019)(Rosales, 2018).

Tras la migración al tejido, un dato relevante es que originalmente se creía que sobrevivían menos de 24 horas (de 8 a 18 horas), sin embargo, hoy se conoce bajo estudios en modelos animales que permanecen presentes en el sitio de daño durante períodos prolongados de tiempo, hasta 5 días (Grieshaber-Bouyer & Nigrovic, 2019). Parte de esto inducido por moléculas proinflamatorias y componentes microbianos que prolongan su supervivencia y mejoran su función.

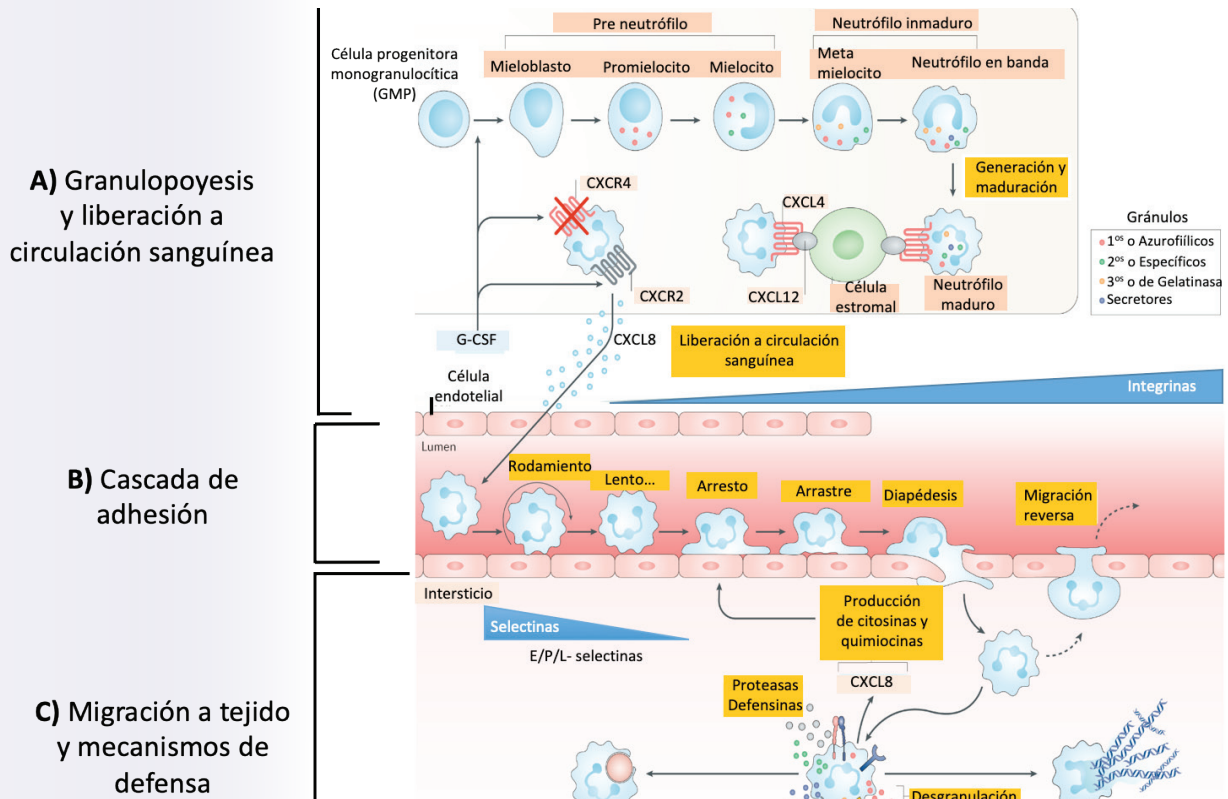


Figura 2. Ciclo de vida de los neutrófilos. (A) Granulopoyesis. La generación y maduración de los neutrófilos ocurre por el proceso denominado granulopoyesis en órganos hematopoyéticos, como la médula ósea, donde una célula progenitora monogranulocítica (GMP) se diferencia para

originar diversos estadios previos a tener un neutrófilo especializado, siendo el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) un regulador crítico que contribuye en la liberación a circulación junto con el cambio de expresión del receptor de quimiocina CXCR4 a CXCR2 en neutrófilos maduros. (B) Al detectar estímulos microbianos o inflamatorios como patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) o a daño (DAMP) experimentan una cascada de adhesión por el aumento de expresión de moléculas de adhesión en el endotelio vascular que les permite disminuir su velocidad y favorecer su rodamiento, arresto y eventualmente la diapédesis ha tejido. Posterior, (C) en los tejidos ejercen sus funciones efectoras: producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), desgranulación, fagocitosis y formación de trampas extracelulares de neutrófilos (NET), para eliminar patógenos como bacterias y hongos, delimitando la infección. Concluido su ciclo entran en apoptosis o realizan migración reversa a circulación al re-expresar CXCR4 en su superficie celular y eventualmente migrar a médula ósea para ser fagocitados por macrófagos residentes manteniendo la homeostasis. Fuente: Modificada de Németh, Sperandio & Mócsai., 2020.

¿Cómo es que los neutrófilos reconocen a los microorganismos o agentes extraños?

La detención de la amenaza la realizan a través de los diversos receptores que expresan tanto extra como intracelular, y son específicos para estructuras comunes a grupos de patógenos relacionados, no pueden distinguir diferencias sutiles entre ellos como lo hace la inmunidad adaptativa (que dirige su ataque a un antígeno específico que se ha encontrado con anterioridad, generando memoria inmunológica). Emplean dos tipos principales, el primero son los receptores de reconocimiento de patógenos (PRR) que están codificados en la línea germinal (los óvulos y espermatozoides), vigilan tanto el espacio extra como el intracelular y cuando se activan al unirse al ligando, inician la transducción de señales promoviendo las funciones (Rungelrath, Kobayashi & DeLeo., 2020).

Los PRR reconocen moléculas conservadas de microbios denominadas patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP), estructuras químicas diversas que se caracterizan por estar presentes en los microorganismos, pero no en su individuo anfitrión y ser esenciales para la supervivencia o patogenicidad. Estructuralmente pueden ser lípidos, hidratos de carbono, proteínas, lipoproteínas, glicoproteínas o ácidos nucleicos microbianos.

También pueden identificar moléculas endógenas denominadas patrones moleculares asociados a daño (DAMP), que indican señales de peligro o daño provenientes de células propias que son expresadas o liberadas en respuesta al estrés, daño tisular y/o muerte celular por necrosis (Díaz, Úbeda, López & Álvarez., 2017) causado por infecciones, pero también pueden indicar una lesión estéril por otra razón, como toxinas químicas, traumatismos o reducción del flujo sanguíneo. Por ejemplo, en algunos casos se estimula a las células sanas del sistema inmunitario para que produzcan y liberen algunos DAMP, también llamados alarminas, que aumentan la respuesta inmunitaria innata frente a las infecciones al inducir en los fagocitos la producción de una variedad de mediadores inflamatorios que incluyen TNF α , IL-1 β , IL-6 e IL-8 (Yang et al., 2017).

En general, la mayoría de los PRR son expresados en neutrófilos y se clasifican en cinco familias definidas por dominios de homología que son: los receptores tipo *toll* (TLR), los receptores lectina tipo C (CLR), los receptores tipo NOD (NLR), los receptores tipo RIG (RLR) y los sensores citosólicos de ADN (CDS) (Figura 3). Estas familias pueden agruparse en dos clases principales. La primera está constituida por los TLR y los CLR que se encuentran anclados en la membrana plasmática o en compartimentos endocíticos que detectan la presencia de ligandos microbianos en el espacio extracelular y en endosomas. Los NLR, RLR y CDS forman el segundo grupo y están localizados en el citoplasma, donde detectan la presencia de patógenos intracelulares (Díaz et al., 2017).

Es de resaltar que los neutrófilos están especializados en eliminar agentes en el espacio extracelular como bacterias y hongos, debido a que se encuentran en su último estadio de diferenciación y su tiempo de vida media corta limita perpetuar la supervivencia de patógenos intracelulares, por lo que generalmente no son células objetivo para microorganismos intracelulares.

Expresan nueve de los diez receptores tipo *toll* (TLR) funcionales reportados en humanos (excepto el TLR3), reconociendo diversos PAMP como los peptidoglicanos, el ácido lipoteicoico y las lipoproteínas de bacterias grampositivas mediado por los TLR2, así como el zimosan de levaduras. Los TLR4 reconocen el lipopolisacárido (LPS) de la pared de bacterias gramnegativas, los TLR5 la flagelina de bacterias móviles, los TLR9 intervienen en el reconocimiento de ARN no metilado; mientras que los TLR1, TLR6 y TLR10

pueden formar heterodímeros con los TLR2, aumentando la especificidad por sus ligandos (Figura 3). También reconocen DAMP como las proteínas de choque térmico (HSP) y la caja del grupo de movilidad alta 1 (HMGB1) liberadas por diversas células sometidas a estrés (Thomas & Schroder, 2013).

Por otra parte, los CLR emplean a las proteínas lectinas que se enlazan a los azúcares que se encuentran en las paredes celulares de los microorganismos, pero no en las células de los mamíferos.

Uno de ellos es el receptor de manosa que se une a azúcares terminales como la D-manosa, la L-fucosa y la N-acetil-D-glucosamina, que difieren con los glúcidos de las células eucariotas que suelen terminar con galactosa y ácido siálico. Se unen a hongos o virus como el Dengue y VIH (Thomas & Schroder, 2013), bacterias como *Salmonella*, *Streptococcus*, *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* y *Enterobacter* (Mnich, van Dalen & van Sorge, 2020). Otro tipo de CLR son las dectinas (dectina 1 y 2) que reconocen b-glucanos presentes en hongos y algunas bacterias promoviendo su fagocitosis, se unen a una gama de hongos patógenos como *Candida*, *Aspergillus*, *Coccidioides*, *Pneumocystis* y bacterias patógenas como *Mycobacteria* (Brown, 2005) (Thomas & Schroder, 2013).

En tanto, otro tipo de receptores son los *Scavenger (SR)* o carroñeros, reconocen moléculas propias modificadas, por ejemplo, células apoptóticas, desechos ricos en mineral, proteínas dañadas o directamente al patógeno (Díaz Martín et al., 2017).

Además de los PRR, los segundos receptores relevantes para los neutrófilos son aquellos que se unen a opsoninas, moléculas solubles del anfitrión que promueven la captación del microorganismo al unirse a ellos, generando el reconocimiento por los neutrófilos y su correspondiente eliminación por fagocitosis.

Es decir, las opsoninas funcionan como puente entre los microorganismos y las células. Se conocen dos tipos de opsoninas principales, los anticuerpos (IgG) y algunas proteínas del complemento (Figura 3) (Kobayashi, Malachowa & DeLeo., 2017).

Los neutrófilos pueden reconocer microorganismos opsonizados (cubiertos) con anticuerpos. Las estructuras de los anticuerpos se dividen en dos regiones: una región

variable y una región constante (Fc). La región variable es responsable de la especificidad antigénica de un anticuerpo a través del fragmento de unión a antígeno (Fab), que se une directamente a la partícula extraña sea PAMP o DAMP; y la fracción Fc es el ligando para receptores específicos en los neutrófilos.

Siendo un ejemplo claro de la tenue barrera que existe entre la respuesta inmune innata y la adaptativa al emplear anticuerpos formados por memoria inmunológica.

Una vez que los anticuerpos de tipo IgG opsonizan a los microorganismos, promueven la quimiotaxis de los neutrófilos y el reconocimiento de la porción Fc a través del receptor de alta afinidad CD64 (FcγRI, receptor de IgG) y en menor proporción los receptores de baja afinidad, CD32 (FcγRIIa) y CD16 (FcγRIIIb) (Rungelrath et al., 2020).

Las segundas opsoninas son moléculas del sistema del complemento, compuesto por una diversidad de proteínas solubles en el suero de la sangre que interactúan entre sí de modo regulado formando una cascada enzimática, permitiendo una amplificación de la respuesta humoral.

En la fagocitosis participan las proteínas C3 y C4 que intervienen en la vía alternativa del complemento, igual que los anticuerpos reconocen al microorganismo y se unen a ellos, solo que aquí el receptor principal en neutrófilos es el receptor del complemento 1 (C1R) que al reconocerlos inducen el engullimiento y la fagocitosis.

Por ejemplo, las bacterias gram (+) poseen un peptidoglicano de membrana que promueve la activación del complemento por vía alterna y los lipopolisacáridos de bacterias gram (-) pueden activar el sistema a partir de la proteína C3 que, unida a la superficie celular, se degrada y genera los fragmentos funcionales activados C3b que, a su vez, forma otros fragmentos como iC3b (Borucki, Toutonji, Couch, Mallah, Rohrer & Tomlinson, 2020), funcionando como opsoninas celulares para los receptores del complemento expresados en las células inmunitarias, incluidos los neutrófilos.

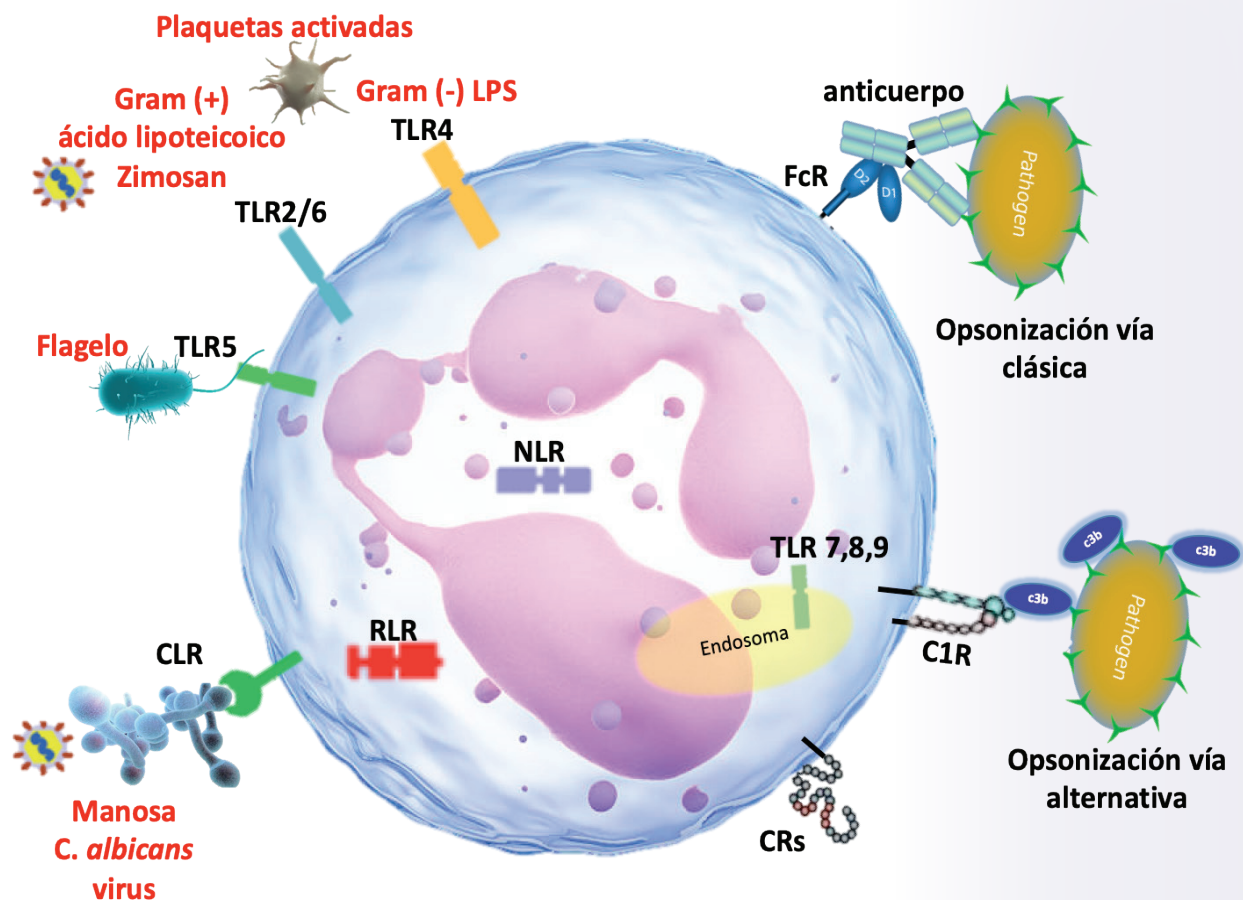


Figura 3. Receptores de reconocimiento de patrones (PRR) y opsoninas relevantes en neutrófilos. La detección de la amenaza como patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) o a daño (DAMP), los neutrófilos la realizan a través de sus receptores de reconocimiento de patógenos (PRR) que se clasifican en cinco familias por sus dominios de homología y se agrupan en dos clases según su ubicación celular: 1) anclados a la membrana plasmática o endocíticos, los receptores tipo toll (TLR) y tipo lectina (CLR), especializados en detectar la presencia de ligandos microbianos en el espacio extracelular y en endosomas., y 2) los receptores tipo NOD (NLR) y tipo RIG (RLR), localizados en el citoplasma para detectar microorganismos intracelulares. Dentro de los TLR los neutrófilos expresan nueve de los diez descritos funcionales en humanos (excepto el TLR3), con los que reconocen bacterias, hongos, virus y hasta plaquetas activadas, promoviendo la activación de sus diversas funciones. Además de ellos, existen otros receptores para las moléculas solubles que promueven la captación de los patógenos y funcionan de puente para que los fagocitos la reconozcan, llamadas opsoninas, que se unen a los receptores de la fracción cristalizable (FcR) de los anticuerpos o receptores del complemento CRs para promover su fagocitosis. Fuente: Elaboración propia.

MECANISMOS DE DEFENSA DE LOS NEUTRÓFILOS

Una vez que los receptores se unen a sus ligandos correspondientes promueven la activación del neutrófilo, teniendo una actividad antimicrobiana a partir de dos fuentes principales: 1) la producción de radicales superóxido (O_2^-) y otras especies reactivas de oxígeno (ROS), por un aumento abrupto en el consumo de oxígeno, un proceso denominado clásicamente explosión respiratoria mediada por un complejo que se ensambla en las membranas denominado NADPH-oxidasa; y 2) de sus gránulos citoplasmáticos que contienen péptidos antimicrobianos (defensinas y catelicidinas), proteínas y enzimas degradativas.

Dado que este arsenal también puede dañar los tejidos del huésped, está estrictamente regulado a través de tres principales estrategias: fagocitosis, desgranulación y liberación de trampas extracelulares de neutrófilos (NET) (Figura 2C) (Papayannopoulos, 2018). Se ha demostrado que individuos con déficit en su recuento (neutropenia) muestran susceptibilidad a infecciones bacterianas y fúngicas.

Al ser fagocitos profesionales, constituyen el mecanismo más empleado por los neutrófilos para degradar a los microorganismos eficientemente y su posterior apoptosis (muerte celular programada) sin alterar el equilibrio.

Este mecanismo es más eficaz en presencia de opsoninas que de PRR. Al unirse los antígenos a sus receptores en la membrana inicia cambios en el citoesqueleto generando la polimerización de los microfilamentos de actina próximos a la ligadura del receptor que facilitan el flujo de la membrana plasmática alrededor de la superficie microbiana hasta que se completa el proceso de engullimiento.

Los microbios ingeridos quedan así secuestrados dentro de las vacuolas unidas a la membrana conocidas como fagosomas (Rungelrath et al., 2020), que requieren para su maduración de la fusión y fisión con endosomas tempranos, tardíos y finales; así como de los gránulos citoplasmáticos, causando la desgranulación.

La última parte de la fagocitosis consiste en la formación del fagolisosoma mediado por la fusión del fagosoma tardío con lisosomas, donde se degradan los microorganismos dependientes de pH ácido, ROS y enzimas hidrolíticas (Figura 4).

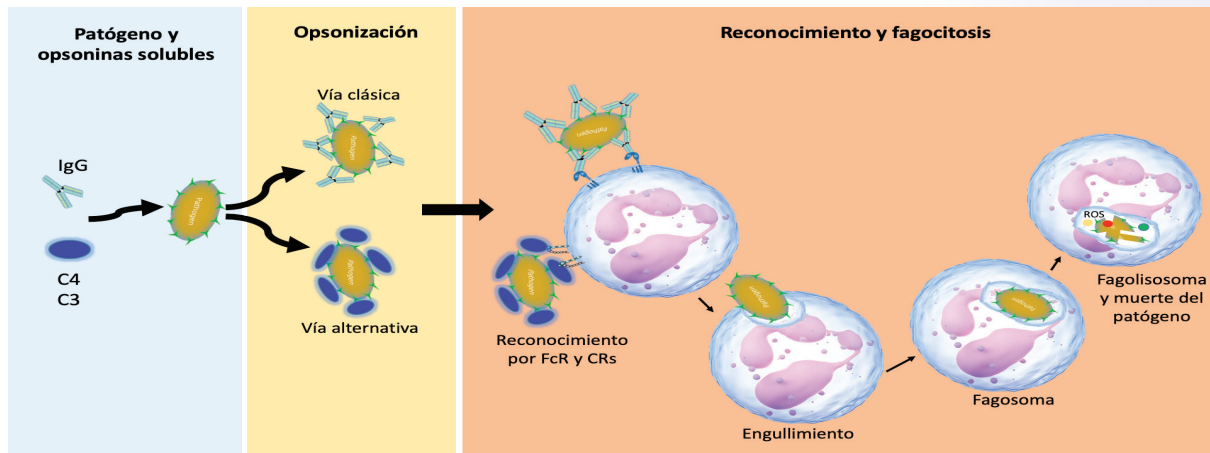


Figura 4. Proceso de fagocitosis. Los neutrófilos son fagocitos profesionales que reconocer diversos agentes extraños por moléculas solubles denominadas “opsoninas” y en menor proporción por receptores de reconocimiento de patrones (PRR). Algunas moléculas solubles del complemento (c3b, ic3b y c4b) o anticuerpos (IgG), capturan a los microorganismos y funcionan de puente con los receptores del complemento CRs o de la fracción constante de los anticuerpos (FcR) en la membrana plasmática de la célula, lo que favorece su activación y engullimiento por señales transmitidas que reorganizan los filamentos de actina del citoesqueleto justo donde se realizó el reconocimiento. Enseguida, se forma un fagosoma que madura al fusionarse con endosomas y los gránulos citoplasmáticos, continuando con la formación del fagolisosoma mediado por la fusión del fagosoma tardío con lisosomas, donde se degradan los microorganismos dependientes de pH ácido, ROS y enzimas hidrolíticas como elastasa, mieloperoxidasa y péptidos antimicrobianos. Fuente: Elaboración propia.

Sin embargo, la fagocitosis tiene limitantes, una de ellas es su capacidad para ingerir partículas mayores a 10 micras, por ejemplo, pseudohifas, hifas o bacterias en grandes concentraciones o que presenten mecanismos de evasión al sobrevivir ambientes adversos con pH ácidos, generando un proceso denominado “fagocitosis frustrada”, donde los neutrófilos exocitan los gránulos y su contenido al espacio extracelular. Como consecuencia o de forma independiente existen numerosos informes que describen la capacidad de los hongos, casi exclusivamente patógenos oportunistas, para activar el tercer mecanismo de defensa, la liberación de trampas extracelulares de neutrófilos (NET); y no sólo ellos, también bacterias como *S. aureus* que son capaces de evadir la fagocitosis y algunos virus que, a pesar de su

tamaño pequeño, las inducen por diferencia en sus cargas electrostáticas (Kobayashi et al., 2017). También se han reportado en procesos de inflamación estéril, es decir, inducidas por plaquetas activadas, cristales de urato monosódico e inmunocomplejos.

Las trampas extracelulares de neutrófilos (NET) se producen por el reconocimiento de PAMP o DAMP por una gran gamma de receptores específicos, tanto PRR como del complemento (Figura 5). Una vez que se une a su ligando, el receptor conduce a la liberación intracelular de iones de calcio (Ca^{+2}) desde el retículo endoplásmico hacia el citoplasma, lo cual incrementa la actividad de diversas proteínas de señalización que inducen el ensamblaje del complejo NADPH oxidasa, antes mencionado, incrementando la producción de ROS y favoreciendo la translocación al citoplasma de enzimas como elastasa y mieloperoxidasa contenidas en los gránulos azurofílicos, específicamente en un complejo denominado azurosoma. Enseguida, estas enzimas degradan los filamentos de actina del citoesqueleto para bloquear la fagocitosis y posterior a esto, se traslocan al núcleo para catalizar la descondesación de la cromatina junto con otras enzimas.

Las NET se caracterizan por liberar fibras de cromatina con ADN y componentes nucleares (histonas), citoplasmáticos y granulares (mieloperoxidasa, elastasa, proteínasa 3, captesina G, péptidos antimicrobianos) del neutrófilo que forman una red que delimita a diversos microorganismos en el espacio extracelular y a su vez los degrada (Figura 5) (Brinkmann, Reichard, Goosmann, Fauler, Uhlemann, Weiss, Weinrauch & Zychlinsky., 2004).

Existen dos tipos de vías de formación de NET, la suicida (NETosis), que va acompañada de la muerte del neutrófilo, y la vía vital, donde las redes son liberadas por exocitosis de vesículas, quedando un citoplasto con capacidad aún de fagocitar (Papayannopoulos, 2018). Por anterior, es que los neutrófilos se consideran “los mártires” de la respuesta inmune innata al ser capaces de morir por proteger de antígenos o agentes dañinos al cuerpo humano, evitando el establecimiento de infecciones; es decir, mueren por defender fiel su causa.

Por ello, cada vez que observes pus en una herida, recuerda que tus neutrófilos están trabajando las 24 horas para delimitar las infecciones y protegerte.

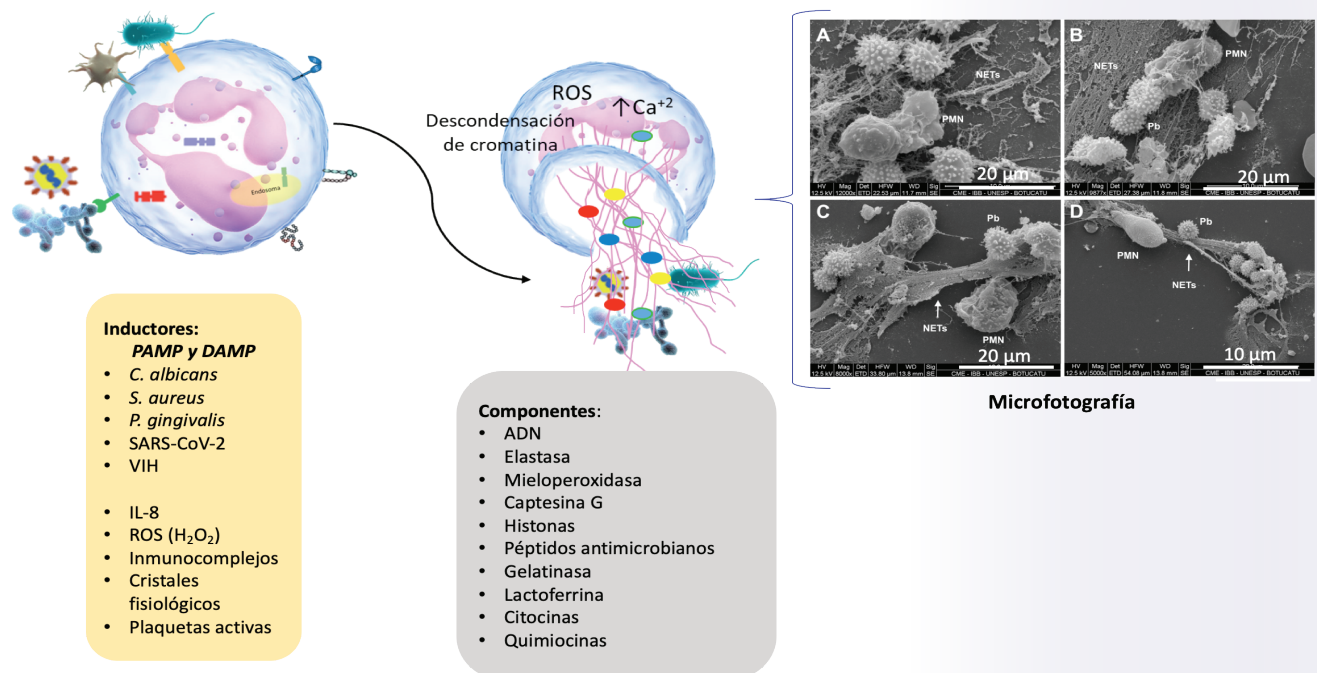


Figura 5. Liberación de trampas extracelulares de neutrófilos (NET). Gran diversidad de inductores activan a los neutrófilos para liberar NET, desde microorganismos (bacterias, hongos, virus), DAMP, citocinas e incluso plaquetas activadas y cristales en condiciones no infecciosas. El proceso comienza por la activación del neutrófilo por un receptor o un conjunto de ellos que generan aumento de calcio intracelular y de especies reactivas de oxígeno (ROS), favoreciendo que enzimas como elastasa y mieloperoxidasa degraden filamentos de actina inhibiendo la fagocitosis, además de su traslocación al núcleo para iniciar la descondensación de la cromatina. Finalmente, componentes nucleares, granulares y citoplasmáticos se mezclan para generar la liberación de redes de ADN con proteínas accesorias con actividad antimicrobiana y proinflamatoria para restringir la diseminación y eliminar a los microorganismos patógenos en el espacio extracelular. En la microfotografía se muestran NETs inducidas *in vitro* por el hongo *P. brasiliensis* obtenidas por microscopía electrónica de barrido. Fuente: Elaboración propia con microfotografía de Della, Bachiega, de Quaglia, de Campos, De Faveri, Marques, Ximenes & Dias., 2015.

Es importante puntualizar que muchos de estos agentes derivados de las NET (así como ROS) no discriminan entre huésped y microbio, para limitar el daño a las células y tejidos durante y después de la respuesta inflamatoria existe una constante comunicación con su entorno tanto celular como con factores solubles, restableciendo la homeostasis posterior a controlar y eliminar la infección. Por lo que, cuando las NETs se

forman se activan simultáneamente mecanismos encargados de su degradación y eliminación, desde enzimas que degradan el ADN (DNasas) hasta la activación de los macrófagos que fagocitan y eliminan tanto proteínas como restos celulares. De los tres mecanismos de defensa, las NET son las que se asocia a prolongar procesos de inflamación cuando existe una desregulación en su producción y eliminación, debido a que una remoción defectuosa incrementa las posibilidades de generar autoreactividad a componentes propios, ocasionando enfermedades autoinmunes, afecciones por las que el sistema inmunitario del cuerpo ataca los tejidos sanos al confundirlos con tejidos ajenos.

Al final del ciclo de vida todos aquellos neutrófilos envejecidos sufren muerte celular programada (apoptosis), proceso que se acompaña de condensación de cromatina nuclear, fragmentación del ADN y vacuolización citoplasmática con posterior eliminación de restos celulares por los macrófagos.

También pueden favorecer la reexpresión de CXCR4 que eventualmente conduce a la migración reversa (Reusch et al., 2021) a microvasculatura pulmonar y el reingreso a los tejidos donde se originaron como medula ósea y bazo para su eliminación. Proceso que se demostró en modelos murinos y se ha planteado como una forma de reciclar moléculas o proteínas directamente para el ciclo y control de la granulopoyesis, fundamental para el mantenimiento homeostático del sistema inmunitario.

REFERENCIAS

- Brinkmann, V., Reichard, U., Goosmann, C., Fauler, B., Uhlemann, Y., Weiss, D. S., Weinrauch, Y., & Zychlinsky, A. (2004). Neutrophil Extracellular Traps Kill Bacteria. *Science*, 303(5663), 1532-1535. <https://doi.org/10.1126/science.1092385>
- Brown, G. Dectin-1: a signalling non-TLR pattern-recognition receptor. *Nat Rev Immunol* 6, 33-43 (2006). <https://doi.org/10.1038/nri1745>
- Borucki, D. M., Toutonji, A., Couch, C., Mallah, K., Rohrer, B., & Tomlinson, S. (2020). Complement-Mediated Microglial Phagocytosis and Pathological Changes in the Development and Degeneration of the Visual System. *Frontiers in immunology*, 11, 566892. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.566892>
- Della Coletta, A. M., Bachiega, T. F., de Quaglia e Silva, J. C., Victoriano de Campos Soares, Â. M., De Faveri, J., Marques, S. A., Marques, M. E. A., Ximenes, V. F., & Dias-Melicio, L. A. (2015). Neutrophil Extracellular Traps Identification in Tegumentary Lesions of Patients with Paracoccidioidomycosis and Different Patterns of NETs Generation In Vitro. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 9(9). <https://doi.org/10.1371/>

JOURNAL.PNTD.0004037

Díaz Martín, D., Úbeda Cantera, M., López Suárez, A., & Álvarez de Mon Soto, M. (2017). Respuesta inmune innata y sus implicaciones fisiopatológicas. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 12(24), 1388-1397. <https://doi.org/10.1016/J.MED.2016.12.009>

Grieshaber-Bouyer, R., & Nigrovic, P. A. (2019). Neutrophil heterogeneity as therapeutic opportunity in immune-mediated disease. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 10, Issue MAR, p. 346). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00346>

Kobayashi, S. D., Malachowa, N., & DeLeo, F. R. (2017). Influence of Microbes on Neutrophil Life and Death. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 0(MAY), 159. <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2017.00159>

Kruger, P., Saffarzadeh, M., Weber, A. N. R., Rieber, N., Radsak, M., von Bernuth, H., Benarafa, C., Roos, D., Skokowa, J., & Hartl, D. (2015). Neutrophils: Between Host Defence, Immune Modulation, and Tissue Injury. In *PLoS Pathogens* (Vol. 11, Issue 3, pp. 1-22). Public Library of Science. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004651>

Liew, P. X., & Kubes, P. (2019). The Neutrophil's Role During Health and Disease. *Physiological Reviews*, 99(2), 1223-1248. <https://doi.org/10.1152/PHYSREV.00012.2018>

Ma, Y., Yabluchanskiy, A., & Lindsey, M. L. (2013). Neutrophil roles in left ventricular remodeling following myocardial infarction. *Fibrogenesis & Tissue Repair* 2013 6:1, 6(1), 1-10. <https://doi.org/10.1186/1755-1536-6-11>

Mnich, M. E., van Dalen, R., & van Sorge, N. M. (2020). C-Type Lectin Receptors in Host Defense Against Bacterial Pathogens. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 10, 309. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00309>

Németh, T., Sperandio, M., & Mócsai, A. (2020). Neutrophils as emerging therapeutic targets. *Nature Reviews Drug Discovery*, 19(4), 253-275. <https://doi.org/10.1038/s41573-019-0054-z>

Papayannopoulos, V. (2018). Neutrophil extracellular traps in immunity and disease. In *Nature Reviews Immunology* (Vol. 18, Issue 2, pp. 134-147). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.105>

Rosales, C. (2018). Neutrophil: A Cell with Many Roles in Inflammation or Several Cell Types? *Frontiers in Physiology*, 0(FEB), 113. <https://doi.org/10.3389/FPHYS.2018.00113>

Rungelrath, V., Kobayashi, S. D., & DeLeo, F. R. (2020). Neutrophils in innate immunity and systems biology-level approaches:an update. *Wiley Interdisciplinary Reviews. Systems Biology and Medicine*, 12(1), e1458. <https://doi.org/10.1002/WSBM.1458>

Thomas, C. J., & Schroder, K. (2013). Pattern recognition receptor function in neutrophils. *Trends in Immunology*, 34(7), 317-328. <https://doi.org/10.1016/J.IT.2013.02.008>

Yang, De et al. "Alarmins and immunity." *Immunological reviews* vol. 280,1 (2017): 41-56. doi:10.1111/imr.12577