

Implicancias de la muerte del neutrófilo por NETtosis en la fisiopatogenia de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica

Correspondencia:

E-mail: uribe@cmefcm.uncor.edu

Recibido: 13.12.2014

Aceptado: 13.03.2015

Autora: Loli Uribe Echevarría

Servicio de Neumonología, Sanatorio Allende, Córdoba, Argentina

La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) incluye la bronquitis crónica y el enfisema pulmonar, es actualmente la sexta causa de muerte en todo el mundo, aunque se estima que llegará a ocupar el tercer lugar en el 2020¹. Constituye la quinta causa de incapacidad después de las enfermedades cardio y cerebrovasculares. La EPOC representa asimismo una significativa carga en términos de pérdidas en productividad, y los costos directos e indirectos asociados con ella podrían ser comparables a los de las enfermedades más incapacitantes como el ataque cardíaco, cáncer de pulmón o de mama.

Los síntomas de la EPOC como la disnea, tos persistente y producción exagerada de secreciones bronquiales son agobiantes y estresantes. La progresión constante de la patología, característica típica de esta enfermedad, lleva inevitablemente a la declinación irreversible de la función pulmonar, infecciones a repetición y debilidad muscular. Las manifestaciones crónicas de la EPOC se acompañan de frecuentes internaciones, insuficiencia respiratoria y, finalmente, la muerte como consecuencia de un compromiso sistémico de la enfermedad^{2, 3}.

La gran epidemia actual de la EPOC es debido, en parte, al hábito de fumar; sin embargo, un aspecto fisiopatogénico importante es que sólo el 20% de los fumadores desarrollan EPOC, desconociéndose las bases celulares y moleculares que predicen qué fumador desarrollará la enfermedad⁴. Por otro lado, en el caso del enfisema, la falta de atenuación de los signos inflamatorios y de los parámetros patológicos, aún años después de que el paciente cesa de fumar⁵⁻⁷, constituye un verdadero desafío para las investigaciones científicas en este campo. Poder implementar mecanismos que permitan su prevención, identificar los pacientes en riesgo de desarrollar EPOC, revertir

su sub-diagnóstico, así como diagnosticarla más tempranamente a fin de incidir en la progresión de la enfermedad, constituyen importantes focos de atención tanto en áreas básicas como clínicas.

La progresión de la EPOC se asocia con infiltración de la pared de las pequeñas vías aéreas por diversos tipos celulares (macrófagos, neutrófilos, linfocitos T CD8+ y CD4+ y linfocitos B) junto a altos niveles de mediadores inflamatorios que ellos sintetizan. La interacción entre las células inflamatorias en la EPOC es compleja y la presencia de las mismas es desencadenada probablemente por el daño epitelial inducido por el humo del cigarrillo en las células epiteliales. Las células presentadoras de antígenos serían consecuentemente activadas por señales de daño provenientes del epitelio pulmonar, lo que induce una respuesta inmune polarizada a células T CD8+ con proliferación de las mismas. Esta característica histológica ha sido hallada en la vía aérea periférica de pacientes con EPOC, a diferencia de los fumadores que no han desarrollado la enfermedad⁸. Por otro lado, células T productoras de IL-17 (generadoras de un perfil Th17⁹) se asocian al desarrollo de una respuesta protectora contra infecciones pulmonares¹⁰; sin embargo, las citoquinas de este perfil inducen diversas quemoquinas, como CXCL8, CXCL1, CXCL5, IL-6 y GM-CSF, capaces de expandir neutrófilos en la médula ósea, así como el aumento de su supervivencia y reclutamiento en las vías respiratorias¹¹. En cuanto a la población de macrófagos, células claves en la inmunidad innata y adaptativa¹², se observa que en los pacientes con EPOC disminuye el fenotipo antiinflamatorio o M2, que normalmente predomina en la vía aérea, con aumento del tipo inflamatorio o M1, lo que contribuye así a amplificar el llamado de neutrófilos¹³. Ambos mecanismos contribuyen a ampliar la población de neutrófilos y cooperan significativamente en el daño tisular en las vías aéreas a través de la

excesiva actividad proteolítica de elastasas de neutrófilos, protagonista relevante en varios procesos fisiopatogénicos de la EPOC¹⁴, sin embargo, este único mecanismo resulta insuficiente para explicar las características tan heterogéneas de la EPOC.

Un factor clave implicado en la progresión de la EPOC sería la alteración en la muerte por apoptosis y/o remoción de neutrófilos, que lleva a una inadecuada presencia de estas células y al consecuente daño tisular.

La participación del macrófago a través de su función de fagocitosis, entre otras en la inmunidad innata, es el elemento directivo central en la respuesta inmune. En efecto, recientes estudios mostraron que pacientes con EPOC poseen macrófagos con serias fallas en su actividad fagocítica¹⁵, lo que resulta además en una alta incidencia de infecciones y en una constante amplificación del proceso inflamatorio.

Otro aspecto del neutrófilo que podría ser aún más letal es la ocurrencia de un mecanismo alternativo de muerte, mediante el cual libera su ADN formando trampas extracelulares (NETs: Neutrophil Extracellular Traps) junto a antimicrobianos, denominado NETosis¹⁶. Este original proceso de muerte celular, que permite a los neutrófilos completar su función microbicida más allá de su muerte, es distinto de la apoptosis y necrosis, y necesita ser removido rápidamente para evitar daños tisulares mayores y fenómenos autoinmunes, lo que ocurriría en patologías que cursan con alteraciones en la resolución de las NETs¹⁷. Resulta interesante que el fenómeno de NETosis ha sido descrito en numerosas patologías inflamatorias como apendicitis, shigelosis, y en pulmón en la fibrosis quística, donde constituye un factor agravante de la obstrucción de la vía aérea y progresión de la enfermedad¹⁸. Recientemente, Obermayer A. y col.¹⁹ describió la presencia de NETosis en pacientes con EPOC en periodo de exacerbación, en la cual resultaría esperable este tipo de muerte del neutrófilo por cuanto es una de las primeras células efectoras para llegar al sitio de la injuria y desempeñar papeles críticos en el aclaramiento de patógenos, el reclutamiento y la activación de otras células inmunes y la reparación de tejidos. Sin embargo, no se ha identificado el proceso de NETosis en pacientes con EPOC estables ni se la ha vinculado aún en la progresión de la enfermedad y sus manifestaciones sistémicas, línea de investigación que está transcurriendo nuestro grupo de trabajo.

La inflamometría bronquial implica la evaluación de diversos parámetros inflamatorios de la vía aérea. El esputo inducido (EI) ha sido validado como una técnica no invasiva, segura y reproducible para analizar la inflamación bronquial; nuestro centro ha adoptado al EI como una importante herramienta en el diagnóstico y seguimiento de pacientes con diversas enfermedades pulmonares^{20,21}.

Por medio del EI y utilizando técnicas ultraestructurales, en nuestro Centro de Microscopía Electrónica (UNC) observamos que neutrófilos de pacientes con EPOC presentan evidencias de muerte celular no identificable como apoptosis ni como necrosis. La identificación de este mecanismo de NETosis como muerte celular y la relación con niveles de severidad representaría un avance clave en la interpretación de la EPOC y el impacto de este proceso en la progresión de la enfermedad y sus consecuencias sistémicas²². Este componente autoinmune de la enfermedad estaría promovido por la presencia de células T CD4+ autoreactivas²³, las cuales co-localizan con células B formando folículos linfoides (neogénesis linfoide peribronquiolar) presentes en paciente con EPOC²⁴, y autoanticuerpos contra células epiteliales y endoteliales en suero²⁵. En la actualidad, se consideran tres fuentes potenciales de antígenos para esta neoformación de folículos en la EPOC: 1) infecciones bronquiales, 2) componentes del humo de cigarrillo y 3) auto inflamación, incluyendo antígenos de componentes tisulares epiteliales y originados por degradación de la matriz intra y extracelular, en especial linfocitos B y anticuerpos anti-elastina²³. En este contexto, el ADN de neutrófilos y otros antígenos inducidos por la NETosis representarían una importante generación de autoantígenos, lo que constituye un atractivo campo de investigación para estudiar posibles mecanismos que mantendrían y/o agravarían el proceso inflamatorio en pacientes con EPOC.

Además de la EPOC, otra enfermedad bronquial que se caracteriza por presentar neutrofilia en el EI y con una clínica, en ocasiones indistinta, es el asma del adulto, compartiendo además con la EPOC la edad de comienzo²⁶. Llamativamente, algunas teorías sugieren que el asma, el enfisema y la bronquitis crónica serían distintas expresiones de una misma enfermedad²⁷. En consecuencia, es tentador cuestionarse qué participación asumiría la NETosis en la determinación de estas dos entidades.

Estamos en proceso de investigar aspectos fisiopatogénicos de la EPOC no evaluados hasta el presente, en búsqueda de nuevas herramientas que resulten factibles en la clínica diaria para mejorar la prevención, el diagnóstico y el tratamiento de la enfermedad.

Conflictos de intereses: la autora no presenta conflictos de intereses relacionados con la presente publicación.

Bibliografía

1. Pauwels RA, Buist AS, Ma P, Jenkins CR, Hurd SS; GOLD Scientific Committee. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: National Heart, Lung, and Blood Institute and World Health Organization Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD): executive summary. *Respir Care* 2001; 46(8): 798-825.
2. Shaw JG, Vaughan A, Dent AG et al. Biomarkers of progression of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *J Thorac Dis* 2014; 6(11): 1532-1547.
3. Murray CJ, López AD. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study. *Lancet* 1997; 349(9064): 1498-504.
4. Lo Tam Loi AT, Hoonhorst SJM, Franciosi L et al. Acute and chronic, inflammatory responses, induced by smoking in individuals susceptible and non-susceptible to development of COPD: from specific disease phenotyping towards novel therapy. Protocol of a crosssectional study. *BMJ Open* 2013;3:e002178.
5. Rutgers SR, Postma DS, ten Hacken NH et al. Ongoing airway inflammation in patients with COPD who do not currently smoke. *Thorax* 2000; 55: 12-18.
6. Turato G, Di Stefano A, Maestrelli P et al. Effect of smoking cessation on airway inflammation in chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1995, 52: 1262-1267.
7. Willemse BWM, ten Hacken NHT, Rutgers B, Lesman-Leegte IGAT, Postma DS, Timens W. Effect of 1-year smoking cessation on airway inflammation in COPD and asymptomatic smokers. *Eur Respir J* 2005, 26: 835-845.
8. Saetta M, Di Stefano A, Turato G et al. CD8+ T-lymphocytes in peripheral airways of smokers with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157(3 Pt 1): 822-826.
9. Traves SL, Donnelly LE. Th17 cells in airway diseases. *Curr Mol Med* 2008; 8(5): 416-426.
10. Ye P, Rodriguez FH, Kanaly S et al. Requirement of interleukin 17 receptor signaling for lung CXC chemokine and granulocyte colony-stimulating factor expression, neutrophil recruitment, and host defense. *J Exp Med* 2001; 20; 194(4): 519-527.
11. McAllister F, Henry A, Kreindler JL et al. Role of IL-17A, IL-17F, and the IL-17 receptor in regulating growth-related oncogene-alpha and granulocyte colony-stimulating factor in bronchial epithelium: implications for airway inflammation in cystic fibrosis. *J Immunol* 2005; 1; 175(1): 404-412.
12. Mills CD, Ley K. M1 and M2 Macrophages: The Chicken and the Egg of Immunity *J Innate Immun* 2014; 6: 716-726.
13. Kunz LIZ, Lapperre TS, Snoeck-Stroband IB et al. Smoking status and anti-inflammatory macrophages in bronchoalveolar lavage and induced sputum in COPD. *Respiratory Research* 2011; 12: 34.
14. Shapiro SD. The pathogenesis of emphysema: the elastase:antielastase hypothesis 30 years later. *Proc Assoc Am Physicians* 1995; 107(3): 346-352.
15. Taylor AE, Finney-Hayward TK, Quint JK et al. Defective macrophage phagocytosis of bacteria in COPD. *Eur Respir J* 2010; 35(5): 1039-1047.
16. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science* 2004; 5; 303(5663): 1532-1535.
17. Steen VD, Powell DL, Medsger Jr TA. Clinical correlations and prognosis based on serum autoantibodies in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1988; 31(2): 196-203.
18. Marcos V, Zhou Z, Yildirim AO et al. Retraction: CXCR2 mediates NADPH oxidase-independent neutrophil extracellular trap formation in cystic fibrosis airway inflammation. *Nat Med* 2011;7; 17(7): 899.
19. Obermayer A, Stoiber W, Krautgartner WD et al. New Aspects on the Structure of Neutrophil Extracellular Traps from Chronic Obstructive Pulmonary Disease and In Vitro Generation. *PLoS ONE* 2014; (5): e97784.
20. Uribe Echevarría EM, Maldonado C, Uribe Echevarría A, Aoki A. Seguridad, reproducibilidad y validación de la técnica del esputo inducido. *Archivos de Alergia e Inmunología Clínica* 2003; 34(2): 41-46.
21. Uribe Echevarría EM, Maldonado CA, Uribe Echevarría AM, Aoki A. Neutrophil predominance in induced sputum from asthmatic patients. Therapeutic implications and role of clara cell 16-KD protein. *Medicina (B Aires)* 2011;71(4): 343-349.
22. Stefanska AM, Walsh PT. Chronic obstructive pulmonary disease: evidence for an autoimmune component. *Cell Mol Immunol* 2009; 6(2): 81-86.
23. Lee SH, Goswami S, Grudo A et al. Antielastin autoimmunity in tobacco smoking-induced emphysema. *Nat Med* 2007; 13(5): 567-569.
24. Aloisi F, Pujol-Borrell R. Lymphoid neogenesis in chronic inflammatory diseases. *Nat Rev Immunol* 2006; 6(3): 205-217.
25. Feghali-Bostwick CA, Gadgil AS, Otterbein LE et al. Autoantibodies in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2008; 15;177(2): 156-163.
26. Gibson PG, McDonald VM, Marks GB. Asthma in older adults. *Lancet* 2010; 376(9743): 803-813.
27. Postma DS, Boezen HM. Rationale for the Dutch hypothesis. Allergy and airway hyperresponsiveness as genetic factors. *Chest* 2004; 126: 96S-104.