

Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

Volumen
Volume **18**

Número
Number **4**

Octubre-Diciembre
October-December **2005**

Artículo:

Papel de las células epiteliales en la
respuesta inmune del pulmón

Derechos reservados, Copyright © 2005:
Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

**Otras secciones de
este sitio:**

- ☞ Índice de este número
- ☞ Más revistas
- ☞ Búsqueda

*Others sections in
this web site:*

- ☞ *Contents of this number*
- ☞ *More journals*
- ☞ *Search*



edigraphic.com

Papel de las células epiteliales en la respuesta inmune del pulmón

BRUNO TONATIUH RIVAS-SANTIAGO*,†
 MARTHA TORRES ROJAS*
 KAREN BOBADILLA LOZOYA*,§
 EDUARDO SADA DÍAZ*

* Departamento de Investigación en Microbiología, INER.
 México, D.F.

† Departamento de Patología Experimental, Centro de Investigación
 y Estudios Avanzados del IPN, México D.F.

§ Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, México, D.F.
 Trabajo recibido: 22-VI-2005; aceptado: 03-X-2005

RESUMEN

El sistema respiratorio se encuentra en contacto con agentes patógenos; sin embargo, gracias a la respuesta inmune innata de éste, sólo en raras ocasiones se produce la enfermedad.

Palabras clave: Células epiteliales, péptidos antimicrobianos, defensinas, inmunidad innata.

Key words: Epithelial cells, antimicrobial peptides, defensins, innate immunity.

Las células epiteliales del tracto respiratorio desempeñan un papel importante para evitar la colonización del pulmón por agentes infecciosos, identificando a los microorganismos a través de receptores especializados como los toll-like. Asimismo, son capaces de secretar citocinas, péptidos antimicrobianos y otras moléculas proinflamatorias, las cuales evitan el establecimiento de patógenos.

321

ABSTRACT

The respiratory tract is one of the main systems which is in perennial contact with a wide variety of pathogenic microorganisms; however, infection is seldom produced due to its innate immune response. Respiratory tract epithelial cells play a very important role to avoid colonization of the lung by infectious agents, because they recognize microbial molecules through very specialized receptors, such as toll-like receptors; moreover, these cells possess a broad variety of molecules which are related to local immunity. Respiratory tract epithelial cells produce chemokines, antimicrobial peptides and other proinflammatory molecules that prevent the establishment of pathogenic microorganisms.

INTRODUCCIÓN

El pulmón es uno de los órganos que más contacto tiene con los microorganismos; inhala aproximadamente 10,000 litros de aire al día, por lo que está expuesto a una enorme cantidad de microorganismos que la mayoría de las veces son incapaces de colonizarlo debido a una respuesta inmune innata efectiva¹, la cual, en el pulmón, está dada principalmente por barreras físicas, así como por células de defensa como los neutrófilos, macrófagos, células cebadas, basófilos, eosinófilos y células asesinas (NK).

Se pensaba que las células epiteliales sólo actuaban como barrera física y secretando moco y algunas enzimas. Recientemente se describió que las células epiteliales contribuyen activamente con el sistema inmune secretando varias moléculas relacionadas con la respuesta inmune, como las quimiocinas, citocinas y defensinas, entre otras².

Objetivo. Resaltar el papel de las células epiteliales del tracto respiratorio en la inmunidad del pulmón.

RECONOCIMIENTO DE MOLÉCULAS PROPIAS DE PATÓGENOS POR LAS CÉLULAS EPITELIALES

Una vez que los microorganismos son inhalados establecen contacto, primeramente, con las células epiteliales; éstas, aparte de tener un papel estructural, tienen uno en la respuesta inmune primaria en contra de microorganismos, ya que pueden reconocer al microorganismo e iniciar una respuesta inmune. Se sabe que los microorganismos tienen moléculas propias, que pueden ser reconocidas por el sistema inmune, son llamadas moléculas asociadas a patógenos (PAM, por sus siglas en inglés), y reconocidos por receptores localizados sobre la membrana de las células huésped. Estos receptores son conocidos como receptores de reconocimiento de patógenos (PRR, por sus siglas en inglés), de los cuales podemos mencionar las lectinas de unión a manosa (MBL), receptores tipo *toll*, CD14, entre otros³. No obstante que las células de defensa "clásicas", como los macrófagos, neutrófilos y células dendríticas tienen una gran cantidad y variabilidad de este tipo de receptores⁴, las células epiteliales del tracto respiratorio también poseen este tipo de receptores^{5,6}. Los ligandos para este tipo de receptores son muy variados; pueden ser moléculas constituyentes de la membrana de bacterias u hongos o material genético de bacterias o virus⁷⁻¹³. A la fecha, se han reconocido varios PRR en la superficie de las células epiteliales de pulmón³⁻⁶. Los PRR se pueden presentar de manera soluble en secreciones o en la circulación; tal es el caso de MBL, o bien, este tipo de receptores pueden estar presentes en la superficie de la célula con una porción intracelular y una extra-

celular; dentro de esta clase, en las células epiteliales destacan los receptores parecidos a *toll* (*toll-like receptors*, [TLR]) que se han estudiado mucho a lo largo de los últimos diez años, habiendo identificado 13 TLR¹⁴. La unión de los TLR con su ligando (Figura 1) induce la activación de una gran variedad de genes en las células epiteliales que regulan la expresión de IL-6, TNF, receptores de quimiocinas y péptidos antimicrobianos^{4,6,7}.

Algunos componentes propios de la respuesta inmune pueden servir de ligandos para los TLR de las células epiteliales del tracto respiratorio, tal es el caso de la proteína surfactante tipo A (SP-A), la cual también es capaz de activar macrófagos alveolares vía TLR4 e inducir la producción de IL-8 en las células epiteliales^{15,16}. Los péptidos antimicrobianos β-defensina-2 murina (mBD-2) y LL-37, son otro ejemplo claro de activación vía TLR. Este tipo de péptido antimicrobiano puede activar células dendríticas inmaduras vía TLR4, dando como resultado un aumento de moléculas coestimulatorias y la maduración de la célula dendrítica^{17,18}.

RESPUESTA DE LAS CÉLULAS EPITELIALES DE TRACTO RESPIRATORIO A PATÓGENOS

Como se mencionó, las células epiteliales primero tienen que reconocer las moléculas propias del patógeno o moléculas mediadoras de inflamación y lo logran principalmente a través de receptores como los TLR y CD14^{4,6,7}. Existe una gran variedad de moléculas que pueden ser secretadas por las células epiteliales en respuesta a PAM (Tabla I), de las cuales podemos resaltar los péptidos antimicrobianos por su gran versatilidad. Los pép-

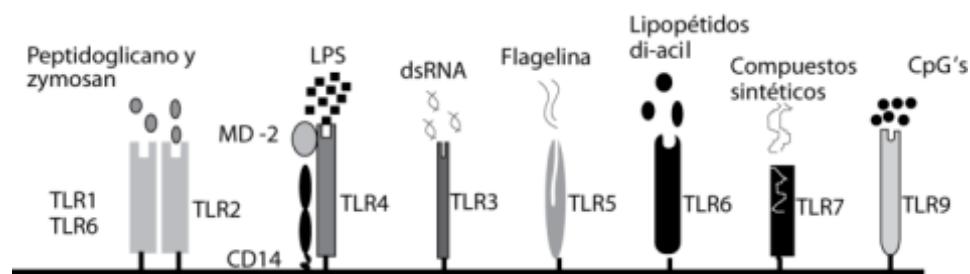
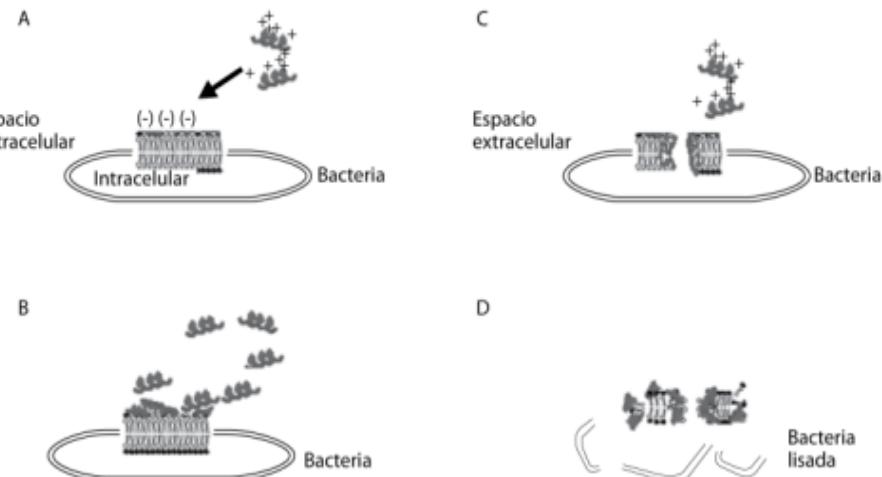


Figura 1. Muestra los diferentes tipos de TLR, así como sus ligandos.

Tabla I. Moléculas secretadas por células epiteliales.

Mediadores inflamatorios	Mediadores quimiotácticos	Antimicrobianos	
<i>Citocinas:</i> IL-8, IL-1, IL-4, IL-13	<i>Quimiocinas:</i> IL-8, CCL20/MIP3 α , MCP-4/CCL13	β -defensinas LL37/CAP18 Lisosima Lactoferrina	SP-A SP-D Péptidos aniómicos
<i>Quimiocinas:</i> L-8, CCL20/MIP3 α , MCP-4/CCL13	<i>Péptidos antimicrobianos:</i> β -Defensinas, catelicidinas, péptidos aniómicos		
<i>Leucotrienos:</i> Hidrolasa A4, fosfolipasa A2, LTB4, LD4	<i>Leucotrienos:</i> Hidrolasa A4, fosfolipasa A2, LTB4, LD4		



323

Figura 2. La membrana catiónica de los microorganismos atrae los péptidos antimicrobianos, los cuales son regularmente catiónicos (A). Los péptidos antimicrobianos se unen a la membrana (B), insertándose (C) formando poros que llevan a la (D) lisis de la bacteria.

tidos antimicrobianos tienen la capacidad de matar directamente al microorganismo, sirven como quimioatractantes, opsonizan, son puente entre la inmunidad innata y la inmunidad adaptativa al inducir la maduración de células dendríticas inmaduras; además, participan en la reparación de tejido afectado, promoviendo la angiogénesis y proliferación celular^{19,20}.

Las moléculas que tienen un efecto microbiocida directo son principalmente los péptidos antimicrobianos, de bajo peso molecular (3-4.5 kD) y son principalmente catiónicos²¹⁻²³; tienen un

amplio espectro en contra de bacterias Gram positivas, Gram negativas, hongos y virus envueltos^{23,24}. Los péptidos, por su carga positiva, son atraídos por la membrana del microorganismo que regularmente tiene carga negativa. La unión de los péptidos con la membrana ocasiona que se aglutinen formando poros en la membrana del microorganismo, llevando así a su lisis²²⁻²⁴ (Figura 2). Los péptidos antimicrobianos son sinérgicos con moléculas de defensa, tales como la lisosima y la lactoferrina²⁴. De acuerdo con su estructura, existen varias clasificaciones de este tipo de pép-

tidos antimicrobianos²⁴; hay dos tipos muy importantes en el tracto respiratorio, las catelicidinas y las defensinas. Estos péptidos son producidos principalmente por las células epiteliales y por algunas células fagocíticas^{19,24,25}; en su mayoría son inducibles, el estímulo puede ser por citocinas proinflamatorias como TNF α e IL-1, PAM u otro tipo de péptidos antimicrobianos como catelicidinas^{26,27}, pero también existen aquellos que son sintetizados constitutivamente como es el caso de la β -defensina-1. Se ha observado que en algunas enfermedades de pulmón como fibrosis quística, neumonía infecciosa, bronquitis crónica, sarcoidosis y fibrosis pulmonar idiopática, los niveles de defensinas están claramente aumentados, lo que indica que son inducibles y están involucradas dentro de la inmunopatogénesis de varias enfermedades; tal es el caso de la neumonía causada por *Pseudomonas aeruginosa* donde se ha visto que se incrementa la cantidad de β -defensina-2 en el lavado bronquiolo alveolar; además, se observó que este tipo de bacteria es susceptible a la acción bactericida de este tipo de defensina²⁶. En enfermos con fibrosis quística, la alta cantidad de NaCl en pulmón de estos pacientes inactiva las defensinas de éste debido a la carga del NaCl, misma que da lugar a una infección por *Pseudomonas* muy difícil de controlar; inclusive, cuando hay una gran cantidad de anticuerpos circulantes en contra de *Pseudomonas aeruginosa*, la neumonía progresá hasta sus últimas consecuencias al estar inactivas las defensinas²⁸.

El *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) puede invadir las células epiteliales de pulmón y quedar ahí de forma latente^{35,36}; por otra parte, estudios recientes han demostrado que las células epiteliales son capaces de producir óxido nítrico en respuesta a esta invasión y eliminar la micobacteria³⁷.

Nuestro grupo demostró que Mtb induce la expresión de β -defensina-2 en células epiteliales de pulmón y que este péptido mata a Mtb; también, ha demostrado que ratones que producen una mayor cantidad de β -defensina-3 murina, son menos susceptibles a desarrollar tuberculosis pulmonar progresiva, que los producidos en menor escala (datos no publicados). Los datos revelan que los péptidos antimicrobianos generados por las células epiteliales de pulmón colaboran en la respuesta inmune innata y tienen una actividad

antimicrobiana directa hacia Mtb. En otros estudios se ha visto que ratones *knock out* para el gen β -defensina-1, sucumben a la infección de *Haemophilus influenzae*²⁹. La sobreexpresión causada por transfección viral de la proteína antimicrobiana-18 relacionada con cetelina, la cual es el homólogo de LL-37, dio como resultado el aumento de la respuesta inmune innata mediada por péptidos antimicrobianos en neumonía y choque séptico, habiendo una gran diferencia significativa entre los animales no transfectados y los transfectados^{30,31}. Otro experimento contundente para demostrar la importancia de los péptidos antimicrobianos secretados por las células epiteliales, fue donde se demostró que los portadores de *Staphylococcus aureus* en nariz tenían una pobre actividad antimicrobiana en los fluidos nasales³².

Las células epiteliales, además de producir defensinas y LL-37 que tienen actividad antimicrobiana directa, efecto quimiotáctico, sirven como puente entre la inmunidad innata y la adaptativa ya que tienen efecto quimiotáctico sobre células dendríticas inmaduras, promueven angiogénesis y proliferación para la cicatrización de tejido dañado; las células epiteliales también secretan citocinas, quimiocinas, proteínas surfactantes y algunos factores del complemento como C3^{33,34}.

CONCLUSIONES

En los últimos diez años se ha puesto mucho énfasis a la respuesta inmune innata en pulmón y, se ha llegado a la conclusión de que las células epiteliales del tracto respiratorio desempeñan un papel muy importante en este tipo de inmunidad, en algunos casos cruciales para la evolución o control de algunas enfermedades. Las células epiteliales cuentan con una amplia variedad de moléculas que colaboran en la respuesta inmune del hospedero; estas moléculas cuentan con actividad muy variada, desde ser antibióticos endógenos hasta un puente con la inmunidad adquirida. Se ha visto también que el sistema de reconocimiento de las células epiteliales es muy amplio y pueden reconocer una amplia gama de moléculas potencialmente dañinas para el hospedero. Asimismo, se ha empezado a estudiar más acerca del papel de las células epiteliales en las diferentes inmunopatogénesis de las enfermeda-

des infecciosas; sin embargo, hace falta todavía mucho por explorar, por ejemplo, posibles polimorfismos existentes en genes de la respuesta inmune en las células epiteliales de pulmón y cómo estos polimorfismos pueden o no, hacer más susceptible a individuos hacia cierto tipo de enfermedades.

Actualmente, el estudio de la respuesta inmune innata en pulmón se basa en usar inmunomoduladores que actúan sobre el comportamiento inmunológico de este tipo de células con el fin de controlar cierto tipo de enfermedades; de la misma manera, se está usando el conocimiento sobre péptidos antimicrobianos para crear nuevos antibióticos y de esta forma hacer frente a la nueva generación de microorganismos resistentes a fármacos.

REFERENCIAS

1. Medzhitov R, Janeway CA Jr. *Innate immunity: impact on the adaptive immune response*. Curr Opin Immunol 1997;9:4-9.
2. Diamond G, Legarda D, Ryan LK. *The innate immune response of the respiratory epithelium*. Immunol Rev 2000;173:27-38.
3. Netea MG, Van der Meer JW, Kullberg BJ. *Toll-like receptors as an escape mechanism from the host defense*. Trends Microbiol 2004;12:484-488.
4. Cook DN, Pisetsky DS, Schwartz DA. *Toll-like receptors in the pathogenesis of human disease*. Nat Immunol 2004;5:975-979.
5. Hogg JC. *Pathophysiology of airflow limitation in chronic obstructive pulmonary disease*. Lancet 2004;364:709-721.
6. Takii T, Abe C, Tamura A, et al. *Interleukin-1 or tumor necrosis factor-alpha augmented the cytotoxic effect of mycobacteria on human fibroblasts: application to evaluation of pathogenesis of clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis and M. avium complex*. J Interferon Cytokine Res 2001;21:187-196.
7. Haslett C. *Granulocyte apoptosis and its role in resolution and control of lung inflammation*. Am J Respir Crit Care Med 1999;160(5 Pt 2):5-11.
8. Hiemstra PS, van Wetering S, Stolk J. *Neutrophil serine proteinases and defensins in chronic obstructive pulmonary disease: effects on pulmonary epithelium*. Eur Respir J 1998;12:1200-1208.
9. Agerberth B, Charo J, Werr J, et al. *The human antimicrobial and chemotactic peptides LL-37 and alpha-defensins are expressed by specific lymphocyte and monocytes populations*. Blood 2000;96:3086-3093.
10. Zhang H, Porro G, Orzech N, Mullen B, Liu M, Slutsky AS. *Neutrophil defensins mediate acute inflammatory response and lung dysfunction in dose-related fashion*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2001;280:L947-L954.
11. Cunliffe RN, Mahida YR. *Expression and regulation of antimicrobial peptides in the gastrointestinal tract*. J Leukoc Biol 2004;75:49-58.
12. Quayle AJ, Porter EM, Nussbaum AA, et al. *Gene expression, immunolocalization, and secretion of human defensin-5 in human female reproductive tract*. Am J Pathol 1998;152:1247-1258.
13. Schutte BC, Mitros JP, Bartlett JA, et al. *Discovery of five conserved beta-defensin gene clusters using a computational search strategy*. Proc Natl Acad Sci USA 2002;99:2129-2133. Erratum in: Proc Natl Acad Sci USA 2002;99:14611.
14. Doherty TM, Arditi M. *TB, or not TB: that is the question-does TLR signaling hold the answer?* J Clin Invest 2004;114:1699-1703.
15. Alcorn JF, Wright JR. *Surfactant protein A inhibits alveolar macrophage cytokine production by CD14-independent pathway*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2004;286:L129-136.
16. Schutte BC, McCray PB Jr. *Beta-defensins in lung host defense*. Annu Rev Physiol 2002;64:709-748.
17. Biragyn A, Ruffini PA, Leifer CA, et al. *Toll-like receptor 4-dependent activation of dendritic cells by beta-defensin 2*. Science 2002;298:1025-1029.
18. Davidson DJ, Currie AJ, Reid GS, et al. *The cationic antimicrobial peptide LL-37 modulates dendritic cell differentiation and dendritic cell-induced T cell polarization*. J Immunol 2004;172:1146-1156.
19. Van Wetering S, Tjabringa GS, Hiemstra PS. *Interactions between neutrophil-derived antimicrobial peptides and airway epithelial cells*. J Leukoc Biol 2005;77:444-450.
20. Bals R, Hiemstra PS. *Innate immunity in the lung: how epithelial cells fight against respiratory pathogens*. Eur Respir J 2004;23:327-333.
21. Frantz S, Vincent KA, Feron O, Kelly RA. *Innate immunity and angiogenesis*. Circ Res 2005;96:15-26. Erratum in: Circ Res 2005;96:e7.
22. Reddy KV, Yedery RD, Aranha C. *Antimicrobial peptides: premises and promises*. Int J Antimicrob Agents 2004;24:536-547.
23. Ganz T. *Defensins: antimicrobial peptides of vertebrates*. C R Biol 2004;327:539-549.
24. Koczulla AR, Bals R. *Antimicrobial peptides: current status and therapeutic potential*. Drugs 2003;63:389-406.
25. Wilson CL, Ouellette AJ, Satchell DP, et al. *Regulation of intestinal alpha-defensin activation by the metalloproteinase matrilysin in innate host defense*. Science 1999;286:113-117.
26. Harder J, Meyer-Hoffert U, Teran LM, et al. *Mucoid Pseudomonas aeruginosa, TNF-alpha, and IL-1beta, but not IL-6, induce human beta-defensin-2 in respiratory epithelia*. Am J Respir Cell Mol Biol 2000;22:714-721.
27. Duits LA, Ravensbergen B, Rademaker M, Hiemstra PS, Nibbering PH. *Expression of beta-defensin 1 and 2 mRNA by human monocytes, macrophages and dendritic cells*. Immunology 2002;106:517-525.
28. Bals R, Weiner DJ, Meegalla RL, Accurso F, Wilson JM. *Salt-independent abnormality of antimicrobial ac-*

- tivity in cystic fibrosis airway surface fluid.* Am J Respir Cell Mol Biol 2001;25:21-25.
29. Moser C, Weiner DJ, Lysenko E, Bals R, Weiser JN, Wilson JM. *Beta-Defensin 1 contributes to pulmonary innate immunity in mice.* Infect Immun 2002;70:3068-3072.
30. Bals R, Weiner DJ, Meegalla RL, Wilson JM. *Transfer of a cathelicidin peptide antibiotic gene restores bacterial killing in a cystic fibrosis xenograft model.* J Clin Invest 1999;103:1113-1117.
31. Cole AM, Waring AJ. *The role of defensins in lung biology and therapy.* Am J Respir Med 2002;1:249-259.
32. Cole AM, Tahk S, Oren A, et al. *Determinants of Staphylococcus aureus nasal carriage.* Clin Diagn Lab Immunol 2001;8:1064-1069.
33. Cao Y, Tao JQ, Bates SR, Beers MF, Haczku A. *IL-4 induces production of the lung collectin surfactant protein-D.* J Allergy Clin Immunol 2004;113:439-444.
34. De Astorza B, Cortes G, Crespi C, Saus C, Rojo JM, Alberti S. *C3 promotes clearance of Klebsiella pneumoniae by A549 epithelial cells.* Infect Immun 2004;72:1767-1774.
35. Castro-Garza J, King CH, Swords WE, Quinn FD. *Demonstration of spread by Mycobacterium tubercu-*
- losis bacilli in A549 epithelial cell monolayers.* FEMS Microbiol Lett 2002;212:145-149.
36. Bermudez LE, Goodman J. *Mycobacterium tuberculosis invades and replicates within type II alveolar cells.* Infect Immun 1996;64:1400-1406.
37. Roy S, Sharma S, Sharma M, Aggarwal R, Bose M. *Induction of nitric oxide release from the human alveolar epithelial cell line A549: an in vitro correlate of innate immune response to Mycobacterium tuberculosis.* Immunology 2004;112:471-480.

Correspondencia:

Dr. Eduardo Sada Diaz.

Departamento de Investigación en Microbiología. Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. Calzada de Tlalpan Núm. 4502, colonia Sección XVI. México, DF., 14080. Teléfono 5666-4539, extensión 117, fax 5666-6172. e-mail:btrivas@iner.gob.mx
eduardosadadiaz@yahoo.com