

Francisco Blotta - Pablo Spoletti



Bases Inmunológicas para la Endodoncia

2019

Bases Inmunológicas para la Endodoncia

Francisco Blotta

Odontólogo - UNR, Argentina

Odontólogo Especialista en Endodoncia - UNR, Argentina.

Profesor Adjunto Cátedra de Endodoncia - UNR, Argentina.

Docente Estable Carrera de Especialización en Endodoncia - UNR, Argentina.

Pablo Spoletti

Odontólogo - UNR, Argentina

Doctor en Odontología - UNC, Argentina.

Profesor Titular *por Concurso* Cátedra de Endodoncia - UNR, Argentina.

Director de la Carrera de Especialización en Endodoncia - UNR, Argentina.

2019

Blotta, Francisco

Bases inmunológicas para la endodoncia / Francisco Blotta ; Pablo Spoleti ; editado por Francisco Blotta ; Pablo Spoleti. - 1a ed. - Rosario : Francisco Blotta, 2019.

Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online

ISBN 978-987-86-0153-3

1. Odontología. 2. Endodoncia. 3. Inmunología. I. Spoleti, Pablo. II. Título.

CDD 617.6

Contacto: endo.unr@gmail.com



Ninguna parte de esta obra puede ser reproducida sin el permiso previo del editor.

*“La verdadera ignorancia no es la ausencia
de conocimientos, sino el hecho de negarse a
adquirirlos.”*

Karl Popper
Filósofo, 1902 (Viena) -1994 (Londres)

AGRADECIMIENTO DE LOS AUTORES

*A la Od. María Ignacia De Gaetani por su paciencia y
colaboración en la corrección de nuestros errores de tipeo y
estilo gramatical.*

INDICE

Introducción	1
Sistema Inmune	3
1. Clases de inmunidad	4
2. Organos del sistema inmune	7
3. Células del sistema inmune	8
4. Fagocitosis	13
5. Citoquinas	19
Inmunidad Innata	23
1. Sistema de complemento	34
2. Cascada de la coagulación	53
3. Cascada de las cininas	55
Inmunidad Adquirida	56
1. Linfocitos B, Receptores e Inmunoglobulinas	58
2. Linfocitos T	65
3. Complejo Mayor de Histocompatibilidad	74
4. Reconocimiento Procesamiento y Presentación antigénica	80
Regulación de la respuesta inmune	84
Inmunología Endodóntica	86
1. Inmunología Pulpar	90
2. Inmunología Periapical	103
Bibliografía	113

INTRODUCCIÓN

La Endodoncia es la disciplina odontológica que se ocupa de la prevención y el tratamiento de la patología de la pulpa dentaria y los tejidos periapicales, cuya etiología prevalente es la bacteriana desencadenando la respuesta pulpar y periapical que involucrará una serie de eventos que pondrán en acción a todo el sistema inmunológico.

Si bien desde una perspectiva histórica el puntapié inicial de la inmunología podría ubicarse en 1796 con el descubrimiento de la vacuna antivariólica por parte de Edward Jenner (Berkeley, Inglaterra), es el trabajo experimental de Emil von Behring y Shibasaburo Kitasato en 1890 el que proporcionó la primera información sobre el mecanismo de inmunidad; es decir, la Inmunología es una rama científica joven que ha alcanzado su mayor desarrollo en el siglo pasado y continúa haciéndolo en nuestros días, muchas veces a través del estudio de modelos en animales de experimentación.

En la segunda mitad del siglo XX César Milstein con Georges Jean Franz Köhler en Cambridge, Reino Unido, desarrollan una técnica para sintetizar, a partir de células mutantes de mieloma, anticuerpos con una única especificidad en forma indefinida llamados anticuerpos monoclonales, que les valió el Premio Nobel en 1984; siendo un hito en la investigación inmunológica permitiendo el estudio de diversas macromoléculas lo que dio lugar a aplicaciones clínicas con el diseño de drogas para terapias inmunológicas específicas para diversas dolencias tales como dermatitis atópica (Dupilumab), migraña

(Erenumab), artritis reumatoide, enfermedad de Crohn, psoriasis (Adalimumab y Secukinumab), asma (Beralizumab), entre otras.

El conocimiento del papel de la inmunidad en la respuesta pulpar y periapical es un valioso complemento para su comprensión y una ayuda en la construcción teórica de la misma que permitirá un mejor diagnóstico pulpar y periapical con una consecuente indicación terapéutica superadora.

Si bien la Inmunología es una rama de la Biología, en nuestro libro Bases Biológicas de la Endodoncia solo incluimos una descripción somera del papel de la inmunología en la respuesta pulpar y periapical, porque un abordaje en profundidad de la Inmunología Endodóntica requiere una descripción previa del sistema inmune, la inmunidad innata y adquirida y su regulación para poder contextualizarlo.

Es por esto que nos embarcamos, esperando haber cumplido los objetivos, en esta obra que hace una descripción del sistema inmune como punto de partida para una comprensión de la respuesta inmunológica de la pulpa dentaria y los tejidos periapicales, con la finalidad de entenderla mejor clínicamente, mejorando el diagnóstico y la calidad de nuestros planes de tratamiento; pensando, además, que puede ser el punto de partida que aliente la investigación de este aspecto en pos de continuar perfeccionando la Endodoncia.

SISTEMA INMUNE

Inmunidad deriva de *immunitas*, palabra latina referida a la protección que disfrutaban los senadores romanos frente a procesos legales mientras ejercían su cargo. Se utiliza inmunidad como referencia a la protección del organismo frente a la enfermedad, específicamente frente a las enfermedades infecciosas.

Es la acción conjunta y coordinada de un grupo de células y moléculas para defender al organismo de las agresiones externas por microorganismos y de las internas causadas por alteraciones en las células originadas por virus o degeneración maligna.

Para defenderse los organismos han desarrollado una gran variedad de mecanismos, algunos tan visibles como: la huida del peligro, la lucha física o la ocultación y, otros no tan obvios, que transcurren en su medio interno. Entre estos está la respuesta inmune en la cual se describen tres fases: reconocimiento, procesamiento y respuesta.

En el reconocimiento media una interacción no-covalente entre dos moléculas, antígeno y receptor, y permite distinguir lo propio de lo extraño. En este sentido, un antígeno sería la unidad más pequeña de algún elemento extraño capaz de generar una reacción de defensa.

El procesamiento, es la transmisión de la señal desde el receptor a otra molécula; y, finalmente, ocurrirá una respuesta con la cual el organismo actúa para eliminar la amenaza. Este mecanismo tiene lugar con la participación de células y/o moléculas solubles.

Algunos participantes en la defensa son innatos, están presentes desde el nacimiento y no dependen de la presencia de antígenos; otros son

adquiridos y se encuentran en pequeñas cantidades ante un estímulo antigénico.

Haciendo una síntesis abreviada podríamos decir que sus principales funciones serán a) la defensa contra microorganismos extra e intra celulares y b) la inmunovigilancia contra células tumorales y enfermedades alérgicas y autoinmunes.

1. CLASES DE INMUNIDAD

Desde el punto de vista funcional podemos clasificarlo en sistema inmune **innato** y **adquirido**. Esta clasificación es didáctica, ya que ambos sistemas funcionan de manera integrada. Esto se evidencia de dos formas:

- a) El sistema inmune innato activa el sistema inmune adquirido en respuesta a las infecciones.
- b) El sistema inmune adquirido utiliza los mecanismos efectores de la inmunidad innata para eliminar los microorganismos.

1.1. INMUNIDAD INNATA

Es el conjunto de mecanismos que constitutivamente actúan contra todos los microorganismos patógenos desde el primer contacto con ellos. Este sistema lleva ese nombre debido a que sus mecanismos efectores existen aún antes de que aparezca la noxa.

Esta acción es inmediata, no específica y no deja memoria del encuentro con el microorganismo; si no logra controlar al agresor induce una serie de procesos que llevan al desarrollo de la inmunidad adquirida.

Es la primera línea de defensa contra los microorganismos, previene infecciones e incluso puede eliminar completamente a cierto tipo de agresores.

Componentes: barreras naturales (por ejemplo barreras epiteliales), células (neutrófilos, monocitos/macrófagos, células Natural Killer (NK)), proteínas efectoras (complemento, proteína C reactiva, factores de coagulación, lectinas de unión a manosa).

1.2. INMUNIDAD ADQUIRIDA

La inmunidad adquirida, adaptativa o específica, es un mecanismo de defensa mucho más evolucionado, es estimulada luego de la exposición a agentes infecciosos y cuya capacidad e intensidad defensiva aumenta después de cada exposición subsiguiente a un determinado microorganismo.

Existen dos tipos de inmunidad adquirida, la **inmunidad celular** (que recibe este nombre debido a que sus efectores son células), y la **inmunidad humoral** (cuyos efectores son moléculas). Ambas actúan en conjunto, con el fin de eliminar a los microorganismos, pero se las divide de esta manera para poder estudiarlas detalladamente.

El desarrollo de una respuesta inmune humoral mediada por anticuerpos, se asocia primariamente a los linfocitos B y requiere el reconocimiento antigénico por el receptor de linfocitos B específico (BCR, B cell receptor). El desarrollo de una respuesta inmune celular en cambio, se asocia a linfocitos T y requiere el reconocimiento antigénico por el receptor de linfocitos T específico (TCR ,T cell receptor).

Está caracterizada por tener *Diversidad* (permite al sistema inmunitario responder a una gran variedad de antígenos extraños), *Especificidad* (se

generan respuestas específicas contra cada microorganismo), *Memoria* (la exposición a un agente extraño mejora su capacidad para responder de nuevo a éste frente a una re-exposición, lo que hace que la respuesta sea más rápida y más eficiente), *Especialización* (genera respuestas óptimas para la defensa frente a los microorganismos), *Autolimitación* (permite al sistema inmunitario disminuir su intensidad frente a un antígeno a medida que el mismo va siendo eliminado), y *Ausencia de autoreactividad* (brinda la capacidad de reconocer lo propio de lo extraño y no reaccionar frente las sustancias antigénicas propias).

Se inicia mediante la presentación a los linfocitos por parte de los fagocitos de moléculas que aquellos requieren para actuar adecuadamente. Los linfocitos “aprenden” a reconocer y atacar lo extraño en un proceso que toma de 7 a 10 días durante los cuales elaboran un plan del cual guardan memoria. Ante un segundo encuentro con esa molécula extraña, la respuesta de defensa es rápida, eficiente y específica.

Componentes: las moléculas capaces de activar a los linfocitos cuando son adecuadamente presentadas a ellos por las células presentadoras; los linfocitos T que producen células ayudadoras y citotóxicas y moléculas estimuladoras de otras células conocidas como citoquinas; linfocitos B que producen anticuerpos; las células de memoria que guardan información del primer encuentro con el microorganismo y aseguran una respuesta más rápida contra ataques ulteriores por el mismo germen.

La inmunidad adquirida puede ser activa o pasiva.

INMUNIDAD ACTIVA es la que se desarrolla en el curso de una enfermedad infecciosa con la participación de varias células de la inmunidad adquirida,

proceso del cual se guardará memoria. Puede adquirirse sin sufrir la enfermedad por medio de la vacunación.

INMUNIDAD PASIVA es el proceso de defensa que se logra contra enfermedades infecciosas mediante la administración de anticuerpos protectores producidos en individuos de la misma especie o uno de especie diferente.

2. ORGANOS DEL SISTEMA INMUNE

Los órganos del sistema inmune son aquellos en los que se generan, maduran e interaccionan las células que lo conforman. Se dividen en primarios, secundarios y terciarios.

Los primarios son la médula ósea, en donde se producen todas las células del sistema inmune, y el timo, donde maduran y se diferencian los linfocitos T.

Los órganos linfoides secundarios son el bazo y los ganglios linfáticos, en donde los linfocitos reciben la información de la llegada a la periferia de un microorganismo. Ambos actúan como filtro, mientras que el bazo es más importante como sitio de respuesta inmune a antígenos circulantes en la sangre, los ganglios linfáticos participan en la respuesta inmune a antígenos presentes en la linfa.

Los órganos linfoides terciarios están constituidos por acúmulos de linfocitos en las submucosas y aquellos que se encuentran entre las células de los epitelios.

3. CELULAS DEL SISTEMA INMUNE

Las células del sistema inmune derivan de células pluripotenciales de la médula ósea, órgano en el que ocurre la hematopoyesis, proceso por el cual se forman, diferencian y maduran las células sanguíneas.

La célula madre pluripotencial autoperpetuable da origen a una célula pluripotencial denominada Unidad Formadora de Colonia Mieloide Linfoide (CFUML) de la que se originan dos progenitores uno mieloide (CFUGEMM) y otro linfoide (CFUL).

A partir del progenitor **mieloide** se diferencian los granulocitos (neutrófilos, basófilos y eosinófilos), eritrocitos, monocitos y plaquetas.

A partir del progenitor **linfoide** se diferencian los linfocitos B, los linfocitos T y las células Natural Killer.

3.1. LINFOCITOS

Junto con las células presentadoras de antígenos son la base de la respuesta inmune específica y se dividen en tres grupos funcionales diferentes: linfocitos T, que participan en la inmunidad adquirida celular, linfocitos B, que participan en la inmunidad adquirida humoral y las células Natural Killer, que participan tanto en la inmunidad adquirida como en la innata.

Los linfocitos constituyen aproximadamente del 20 al 25% de los leucocitos circulantes en el adulto.

3.1.1. Linfocitos T

De acuerdo a características específicas en los receptores que veremos más adelante los linfocitos T se clasifican en linfocitos $T\alpha\beta$ y linfocitos $T\gamma\delta$.

A su vez entre los linfocitos $T\alpha\beta$ se reconocen tres subpoblaciones diferentes: linfocitos T helper (CD4+), linfocitos T citotóxicos (CD8+) y linfocitos TNK (linfocitos T natural killer) que pueden ser CD4+, CD8+, o DN (doble negativo CD4- CD8-).

Basándose en el patrón de secreción de citoquinas se diferencian dos subpoblaciones de linfocitos T helper: los LTh1 que secretan Interleuquina 2 (IL-2), Interferon γ (IFN γ) e interleuquina 3 (IL-3) y estimulan la inmunidad mediada por células; y los LTh2 que secretan IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 y favorecen la respuesta inmune humoral.

Recientemente se ha descrito una subpoblación de linfocitos CD4+ caracterizada por expresar CD25, el papel fundamental de estos linfocitos T CD4+CD25+ llamados reguladores o supresores es el de inhibir o regular la respuesta inmune principalmente a nivel de los LTh a través de citoquinas inhibitorias como la IL-10 y el TFG β (transforming growth factor o factor de crecimiento transformante).

La maduración de los linfocitos implica una etapa independiente de antígenos que ocurre en la médula ósea en la línea B y en el timo en la línea T; y una etapa antígeno dependiente que en ambas líneas celulares ocurre en los órganos linfoides secundarios.

3.1.2. Linfocitos B

La activación de los linfocitos B (LB) es una combinación de su proliferación y diferenciación terminal en células plasmáticas y células de memoria. Aquellos que aún no han sido expuestos al antígeno, pueden ser activados de manera dependiente o independiente de los linfocitos T.

Entre los linfocitos B se distinguen dos subpoblaciones celulares denominadas LB1 y LB2, que presentan características estructurales y funcionales distintas, tienen diferente distribución anatómica y se generan a diversas edades durante la ontogenia de los LB.

3.1.3. Células Natural Killer

Son células que participan en la defensa contra células anormales que han sido invadidas por microorganismos (virus) o que han sufrido un proceso de transformación maligna; actúan tanto por un proceso citotóxico directo o por medio de la producción de citoquinas activadoras de otras células con actividad citotóxica. No requieren de un proceso de aprendizaje previo, como los linfocitos, por lo cual pueden actuar de inmediato.

3.2. SISTEMA FAGOCITICO MONONUCLEAR

Debido a su relación de origen y características estructurales y funcionales se agrupa en este sistema a los monocitos y macrófagos.

Las funciones de este sistema incluyen: a) la remoción de células muertas, b) regulación de la función de otras células, c) procesamiento y presentación de antígenos, d) participación en reacciones inflamatorias, e) destrucción de microorganismos y f) destrucción de células neoplásicas.

3.2.1. Monocitos/Macrófagos

Los monocitos son precursores sanguíneos de los macrófagos tisulares; presentan un diámetro de 12 a 15 μm y representan del 4 al 10% de los leucocitos sanguíneos. En su citoplasma tienen granos azurófilos o primarios que contienen hidrolasas ácidas, que junto con los mecanismos oxidativos participan en la destrucción de las partículas fagocitadas.

La migración de los monocitos a los tejidos y su transformación en macrófagos es mediada principalmente por una citoquina denominada proteína quimio-atrayente de monocitos 1 (MCP1 o CCL2) que es producida por varios tipos celulares incluyendo células endoteliales, fibroblastos, células epiteliales, células musculares lisas y monocitos.

Cuando el monocito es activado experimenta cambios en su citoesqueleto que lo adaptan para sus nuevas funciones como macrófago.

Los macrófagos son células de mayor tamaño y capacidad fagocítica que los neutrófilos, además poseen la capacidad de unirse a otros macrófagos y así originar las “células gigantes”, con una capacidad fagocítica aún mayor. Los macrófagos constituyen la segunda “oleada” de células que acuden al sitio de la infección y pueden clasificarse en residentes (fijos en los tejidos: intestino, cerebro, hígado, riñón, hueso, tejido conjuntivo) o libres (situados en órganos linfoides secundarios).

3.3. GRANULOCITOS

3.3.1. Neutrófilos

Alcanzan el sitio de la infección en pocas horas y son los responsables de la primer “oleada” de células encargadas de la respuesta del huésped. Tienen una vida media de 6 horas luego de la cual si no son “reclutados” experimentan la apoptosis. Representan aproximadamente el 65% de los leucocitos. Tienen un diámetro de 10 a 15 μm y un núcleo segmentado con 2 a 5 lóbulos.

En su citoplasma encontramos cuatro tipos de gránulos: PRIMARIOS o azurófilos, SECUNDARIOS o específicos, TERCIARIOS y VESICULAS SECRETORAS.

Los primarios contienen enzimas y proteínas microbicidas (peroxidasa, lisozima, elastasa, catepsina G, hidrolasas ácidas).

Los secundarios presentan lisozima, colagenasas, fosfatasa alcalina y lactoferrina.

Los terciarios gelatinasa.

Las vesículas secretoras proteínas plasmáticas.

3.3.2. Basófilos

Pertencen a la misma familia que los mastocitos, mientras que los basófilos están en la sangre los mastocitos en los tejidos. La diferenciación a basófilos y mastocitos desde células inmaduras ocurre a través de varias etapas en las que diferentes marcadores de membrana se van modificando.

Tienen núcleo irregular, difícil de ver por la granulación basófila que casi siempre lo cubre. Los gránulos de los basófilos son gruesos pero escasos, contienen histamina, elastasa, proteína básica mayor, leucotrieno C4 y B4, IL-4 e IL-13. Representan menos del 1% de los leucocitos sanguíneos y presentan un diámetro aproximado de 10 μm .

3.3.3. Eosinófilos

Son células de aproximadamente 10 μm de diámetro, que presentan un núcleo bilobulado y dos tipos de gránulos citoplasmáticos: los específicos de eosinófilos (con proteína básica mayor) y gránulos pequeños (arilsulfatasa). Sus proteínas granulares son responsables de muchas funciones proinflamatorias, principalmente en la patogénesis de las enfermedades alérgicas, como célula efectora de hipersensibilidad inmediata, así como en la muerte de parásitos.

Una de las enzimas más importantes que contienen sus gránulos es la histaminasa, que se encarga de hidrolizar la histamina, regulando así la respuesta alérgica. Alrededor del 99% de los eosinófilos se encuentra en los tejidos donde llegan luego de un breve paso de aproximadamente 30 minutos por la sangre, después de salir de la médula ósea.

3.4. CELULAS DENDRITICAS (CD)

Son células con forma estrellada y como el resto de los elementos de este sistema son presentadoras de antígenos. Como tienen un origen común con los otros elementos celulares se las describe dentro del sistema fagocítico mononuclear aunque no están involucradas en la fagocitosis. Pueden clasificarse en CD del tejido linfoide (médula ósea, timo y bazo); CD de los tejidos sólidos no linfoides (epidermis, corazón y riñón); y CD de fluidos que son las que están en tránsito (vasos linfáticos aferentes y sangre).

También están presentes en la pulpa dental, donde prevalecen entre la capa de células odontoblásticas y alrededor de los vasos sanguíneos y en el ligamento periodontal y lesiones perirradiculares.

4. FAGOCITOSIS

Es el proceso por el cual células especializadas buscan, localizan, identifican e introducen a su citoplasma partículas o microorganismos extraños para destruirlos y digerirlos. Esta función es ejercida principalmente por los polimorfonucleares neutrófilos, macrófagos, así como células fijas que integran el sistema llamado monocito-macrófago o retículo endotelial. Forma parte de los procesos de endocitosis junto con la

pinocitosis que es el proceso por el cual un material líquido es introducido en la célula.

Para que la fagocitosis se concrete los fagocitos deben llegar al sitio donde son requeridos, esto lo hacen siguiendo un gradiente químico (quimiotaxis) que varía para cada tipo de célula, por ejemplo los neutrófilos poseen receptores para algunos fragmentos del complemento (C5a, C3a), péptidos formilados (por ejemplo el N-formil-met-leu-phe, FMLP o péptido quimiotáctico) y lípidos derivados de las bacterias, factor plaquetario 4 (PF4), metabolitos de la vía de la lipooxigenasa del metabolismo del ácido araquidónico, especialmente el leucotrieno B4 (LTB4) y las llamadas quimioquinas, siendo la más importante la IL-8.

Los factores quimiotácticos actúan a bajas dosis (0,1 a 1 mM). El efecto biológico de los factores quimiotácticos es lograr la migración dirigida de los fagocitos así como también la liberación de enzimas y metabolitos de oxígeno.

Para que la quimiotaxis ocurra se requiere energía (ATP) y la presencia de calcio y magnesio. Las sustancias quimiotácticas al reaccionar con receptores especiales activan la adenilciclase, con lo cual se incrementa la producción de AMP cíclico a partir de ATP. El AMP cíclico desencadena dentro del citoplasma por diferentes vías enzimáticas, actividades importantes como la condensación submembranal de moléculas de actina, la interacción de ésta con la miosina y la polimerización de la tubulina, con lo cual se inician los movimientos unidireccionales de traslación en búsqueda del epicentro de producción de los distintos factores quimiotácticos.

Una vez que la célula fagocítica llega al lugar de mayor concentración del factor quimiotáctico debe reconocer la partícula que será fagocitada. Las células fagocíticas deben ser activadas y presentan dos tipos de receptores: unos capaces de reconocer ligandos propios de los organismos o células a fagocitar y otras moléculas que se han unido a ellas y que favorecen la fagocitosis (opsoninas).

Entre los receptores que unen moléculas no opsonicas (presentes mayormente en macrófagos) tenemos los receptores scavenger (se unen a proteínas modificadas, ácidos nucleicos, lipopolisacáridos de bacterias Gram negativas y ácido lipoteicoico de Gram positivas) y los receptores de manosas (que se unen a carbohidratos).

Entre los receptores de opsoninas tenemos receptores del fragmento Fc de IgG e IgA, receptores del complemento, receptores de colectinas y de proteínas plasmáticas.

La activación de los macrófagos puede ocurrir por dos vías: a) clásica inducida por señales inmunitarias innatas, como las procedentes de los TLR y el $IFN\gamma$ producido en la respuesta inmune adquirida e innata; a éstos macrófagos se los conoce como M1 y participan en la destrucción de microorganismos y el desencadenamiento de la inflamación; b) alternativa inducida por IL-4 e IL-13, los macrófagos M2 participan en la reparación tisular y en el control del proceso inflamatorio.

La unión ligando-receptor activa la fosfolipasa C la cual desdobla el fosfatidil inositol-4,5-difosfato (PIP₂) en inositol-1,4,5-trifosfato (IP₃) y diacilglicerol (DAG) (figura 1). El IP₃ permite que se libere Ca^{2+} de los depósitos citoplasmáticos, que tiene dos acciones: a) desencadena el ordenamiento de los filamentos de actina y de la proteína contráctil

miosina, responsables del movimiento de los neutrófilos y b) activa la fosfolipasa A₂ que convierte los fosfolípidos de membrana en ácido araquidónico a partir del cual se obtienen otros metabolitos. El DAG activa la proteína quinasa C que fosforila proteínas que participan en los procesos de degranulación y secreción. La fosfolipasa D escinde fosfatidilcolina a ácido fosfatídico y colina; su activación se asocia a la unión de ligandos a receptores del complemento.

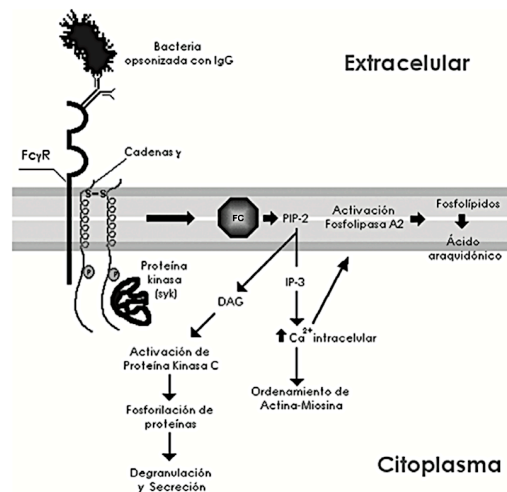


Figura 1: La unión ligando receptor desencadena una serie de reacciones que finalizan con el aumento del calcio intracitoplasmático. FC fosfolipasa C; PIP₂ fosfatidil inositol-4,5-difosfato; IP₃ inositol-1,4,5-trifosfato; DAG diacilglicerol. En Fundamentos de inmunología básica y clínica, Palomo G. I, y col, <http://editorial.usalca.cl/docs/ebook/inmunologia.pdf>

El ordenamiento actina-miosina permitirá proyectar prolongaciones citoplasmáticas que englobarán al organismo a ser fagocitado y lo incorporarán al citoplasma. Esta vacuola fagocítica toma el nombre de fagosoma. El aumento de calcio citoplasmático y la activación de la proteína quinasa C permiten el vaciamiento del contenido enzimático de los gránulos citoplasmáticos en el interior del fagosoma. La destrucción del

microorganismo podrá llevarse a cabo mediante mecanismos oxidativos (dependientes de oxígeno) o no oxidativos (independientes de oxígeno), que a menudo participan en forma sinérgica.

Una vez formado el fagosoma, el metabolismo de la célula se incrementa dando lugar a un evento conocido como “estallido respiratorio” que se caracteriza por un rápido aumento del consumo de oxígeno, oxidación de la glucosa y producción de metabolitos del oxígeno. La activación de la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidasa permite la oxidación del NADPH reduciendo el oxígeno molecular a ion superóxido (O_2^-) que por acción de la superóxido dismutasa (SOD) se convierte en peróxido de hidrógeno (H_2O_2).

El ión O_2^- por sí solo tiene acción microbicida; además los metabolitos del oxígeno pueden actuar a través de un mecanismo dependiente o independiente de mieloperoxidasa (MPO), enzima presente en alta concentración en los gránulos primarios. La MPO, en presencia de un ión haluro como Cl^- (o Br^-), transforma el H_2O_2 , generado por mecanismos dependientes de oxígeno (independientemente de la MPO), en ácido hipocloroso (HOCl), potente oxidante y antimicrobiano.

Por reducción adicional del H_2O_2 se generan radicales oxhidrilos (OH), si bien no es claro el proceso de su formación se sabe que son inestables y de rápida acción en contacto con cualquier material orgánico, cumpliendo un papel bactericida importante.

Los mecanismos antimicrobianos independientes del oxígeno funcionan en ausencia de metabolitos del oxígeno, situación que se presenta en un ambiente anaeróbico; en éstos participan proteínas y enzimas presentes en los gránulos citoplasmáticos de los fagocitos.

La unión de receptores específicos para $\text{IFN}\gamma$, factor de necrosis tumoral alfa ($\text{TNF}\alpha$) e IL-1 activan factores de transcripción en el macrófago que desencadenan la producción de la enzima óxido nítrico sintasa inducible (iNOS).

Las bases bioquímicas de la citotoxicidad mediada por el óxido nítrico (NO) dependen de su unión con átomos de hierro presentes en ciertas enzimas esenciales de algunos de los ciclos vitales del microorganismo; estas moléculas forman complejos nitrosulfuroferrosos que inactivan la enzima y bloquean por tanto los ciclos vitales provocando la muerte del microorganismo. Adicionalmente el ácido nítrico puede reaccionar con el anión superóxido formando un potente oxidante, el peroxinitrito que reacciona con lípidos, ácidos nucleicos, residuos metilados causando daños en las mitocondrias.

Entre las enzimas presentes en los gránulos de los fagocitos tenemos: la **proteína bactericida permeabilizante** (BPI), proteína catiónica que permeabiliza la membrana bacteriana haciendo al microorganismo susceptible a la acción de otras enzimas que degradan fosfolípidos de la membrana (acción importante en las bacterias Gram negativas); la **lisozima**, enzima catiónica que destruye el peptidoglicano de la pared celular, principalmente de las bacterias Gram positivas; la **catepsina G**, una serino proteasa con actividad sobre bacterias Gram negativas; las **defensinas**, péptidos de 29-34 aminoácidos, ricos en arginina y cisteína y que presentan actividad microbicida sobre bacterias Gram positivas, Gram negativas, hongos y algunos virus; y la **lactoferrina** que compite por el hierro que las bacterias necesitan para su metabolismo, impidiendo la agregación bacteriana y la eventual formación de biopelícula.

La producción de óxido nítrico modifica el pH del fagosoma facilitando la acción de proteínas catiónicas o defensinas. Posteriormente el metabolismo anaeróbico lleva a la rápida producción de ácido láctico y ácido carbónico con lo cual el pH disminuye a un valor de entre 6, 5 y 4, que por sí solo es suficiente para destruir algunos microorganismos o detener el desarrollo de otros.

5. CITOQUINAS

Las citoquinas son proteínas solubles producidas en forma transitoria por efecto de un estímulo. Representan el lenguaje universal de las células y gracias a ellas las células reconocen lo que está ocurriendo a su alrededor y establecen en consecuencia una respuesta. Poseen una acción pleiotrópica (actúan en diferentes grupos celulares) y redundante (diferentes citoquinas tienen el mismo efecto tanto en la respuesta innata como adquirida).

Las citoquinas participan, entre otros, en la proliferación y diferenciación celular, la hematopoyesis, la actividad microbicida, la reacción inflamatoria, la respuesta inmune específica y no específica, y en procesos relacionados con el desarrollo de los organismos vivos.

Las citoquinas regulan la respuesta inmune induciendo o inhibiendo la producción de otras citoquinas y sus respectivos receptores así como activando mecanismos de transducción de señales en células blanco o sobre ellas mismas.

El número de citoquinas descubiertas ha ido en continuo aumento en los últimos años, así como los conocimientos en cuanto a los mecanismos regulatorios de éstas. Las posibilidades que existen hoy en día para

identificar y aislar nuevos tipos celulares como son las células T de memoria u otras, combinadas con las técnicas de biología molecular y el análisis de un gran número de genes, ha llevado a definir nuevas citoquinas que de otra manera sería imposible detectar. Por lo tanto es imposible pretender, hoy en día, tener una visión acabada de las citoquinas y sus funciones.

Cuando se descubrieron las citoquinas se pensó que ellas estaban relacionadas únicamente con la comunicación entre los leucocitos y de allí que se les dio el nombre de **interleuquinas** para lo cual se utilizó la abreviatura IL seguida de un número. Pero luego se demostró que la función biológica de estos factores solubles afectaba a células de otros orígenes. Fue entonces que se acuñó el término más general de **citoquinas**. Sin embargo, no todas las citoquinas son denominadas según esta terminología y en muchos casos se utiliza más bien una abreviatura relacionada con la función de la molécula (por ejemplo, TNF significa factor de necrosis tumoral en inglés, primera función asociada a esta citoquina). Además existe una categoría especial de citoquinas, las **quimioquinas**, las cuales tienen propiedades quimiotácticas hacia diferentes tipos celulares y poseen características especiales que las distinguen de las citoquinas.

Las citoquinas de acuerdo a su función se dividen en: **autocrinas**, si la citoquina actúa sobre la célula que la secreta; **paracrinas**, si la acción se restringe al entorno inmediato del lugar de secreción; y, **endocrinas**, si la citoquina llega a regiones distantes del organismo (mediante sangre o plasma) para actuar sobre diferentes tejidos.

Clasificar las citoquinas es difícil, pero se pueden agrupar en 4 grupos funcionales de acuerdo al sitio o fase específica de la respuesta inmune en la que actúan, en:

- a. citoquinas pro-inflamatorias, actúan en la respuesta inmune innata, inespecífica o inflamación.
- b. citoquinas que favorecen el desarrollo de la inmunidad celular y/o citotóxica.
- c. citoquinas que favorecen el desarrollo de la inmunidad humoral y
- d. citoquinas con funciones extrainmunológicas y/o homeostáticas.

Las principales citoquinas proinflamatorias son: IL-1, TNF α , IL-8, IL-12, IL-16 e interferones. IL-6 e IL-12, además, actúan en la inmunidad específica: IL-6 es un factor autocrino de linfocitos B mientras que IL-12 estimula la inmunidad celular citotóxica.

Las principales citoquinas de inmunidad celular son: IFN γ e IL-2 llamada también factor de crecimiento de células T (TCGF). IFN γ es el principal activador de macrófagos y células citotóxicas T y NK.

La inmunidad humoral se caracteriza por la secreción de anticuerpos por los linfocitos B o células plasmáticas, las cuales son moduladas por las siguientes citoquinas: IL-4 o factor estimulante de células B (BCSF), IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13. Estas son secretadas por linfocitos del tipo Th2, linfocitos B, mastocitos, eosinófilos y algunas por macrófagos (IL-6, IL-13).

Se pueden describir tres grupos de citoquinas que participan en la homeostasis: 1) las que actúan en las células primordiales multipotentes (multilineales como IL-3 y el factor estimulante de monocitos y granulocitos (GM-CSF); 2) las que actúan en líneas celulares ya definidas o comprometidas hacia diferenciación, restringidas o específicas de líneas

definidas tales como eritropoyetina (EPO), eritrocitos, TPO (megacariocitos), G-CSF (granulocitos), M-CSF (monocitos), IL-2 (linfocitos), IL-5 (origina eosinófilos); y, 3) las que tienen poco efecto por sí solas pero que inhiben o hacen sinergia funcional de otras citoquinas (*stem cell factor* (SCF), IL-6, IL-1).

INMUNIDAD INNATA

La inmunidad innata es la primera línea de defensa contra la infección. Filogenéticamente es más antigua que la inmunidad adquirida y a diferencia de esta no requiere exposición previa al antígeno. No se modifica con exposiciones repetidas al antígeno infeccioso y vuelve a su estado basal después de cada una de ellas, dado que no posee memoria. Actúa rápidamente para eliminar al antígeno a través de mecanismos microbicidas y respuesta inflamatoria.

La inflamación es el conjunto de mecanismos de respuesta de los tejidos vivos frente a la agresión (bacteriana, traumática, física, química, autoinmune) encaminados a localizar, aislar y destruir al agente agresor y a reparar el daño tisular producido por él. Semiológicamente se caracteriza por aumento de volumen, eritema, aumento de temperatura local, dolor e impotencia funcional.

La respuesta innata tiene la capacidad de alertar y dirigir la respuesta inmune adquirida orientándola hacia una respuesta celular o humoral específica. Por ser sus mecanismos efectores tan potentes y con capacidad de producir daño tisular en el huésped están finamente regulados por diversos mecanismos de control.

El sistema inmune innato reconoce estructuras compartidas por diferentes tipos de microorganismos, denominadas patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP, pathogen associated molecular patterns) estos pueden ser receptores de la superficie celular bacteriana o sustancias solubles de diversidad limitada. El sistema inmune innato tiene la capacidad, además, de reconocer moléculas que serán liberadas por células muertas o dañadas, éstas moléculas en conjunto se las reconoce con el nombre de

patrones moleculares asociados al daño o la lesión (DAMP, damage associated molecular patterns). Dichas moléculas cumplen un papel preponderante durante la eliminación de células dañadas y en la génesis de los procesos de reparación y cicatrización.

Este reconocimiento lo hacen a través de receptores de reconocimiento de patrones (PRR, pattern-recognition receptors). Hay diversos tipos de PRR; por un lado, tenemos los receptores tipo Toll (TLR, Toll-like receptors) y los receptores de lectina tipo C (RLC, C-type lectin), que son transmembranales y están localizados en la membrana plasmática y en endosomas, por lo que reconocen microorganismos extracelulares. Por otro lado, tenemos receptores intracelulares citosólicos como los receptores tipo RIG-I, (RLR, RIG-I-like receptors) que detectan ARN viral; los receptores con dominio de oligomerización de nucleótidos (NOD, nucleotid-binding oligomerization domain) y los receptores tipo NOD (NLR, NOD-like receptors). Éstos últimos, en presencia de determinados estímulos, reclutan otras proteínas para generar complejos de señalización que promueven la inflamación. Estos complejos multiproteicos son conocidos con el nombre de inflamasoma. (figura 2)

El inflamasoma es un gran complejo macromolecular formado por tres componentes esenciales: una molécula sensora, un NLR que podrá reconocer patrones derivados de patógenos (PAMP) o de patrones moleculares derivados de daños (DAMP); una molécula adaptadora, conocida como proteína asociada a la apoptosis (apoptotic-associated speck-like protein, ASC), la cual contiene un dominio de activación y reclutamiento de caspasas (CARD); y una molécula efectora, un zimógeno, la pro-caspasa-1, que tras un estímulo es convertida autocatalíticamente a la caspasa-1, que actúa como molécula efectora. La caspasa-1 activa

proteolíticamente las citoquinas proinflamatorias IL-1 β y IL-18. Además, la activación del inflamasoma provoca una forma proinflamatoria de muerte celular llamada piroptosis.

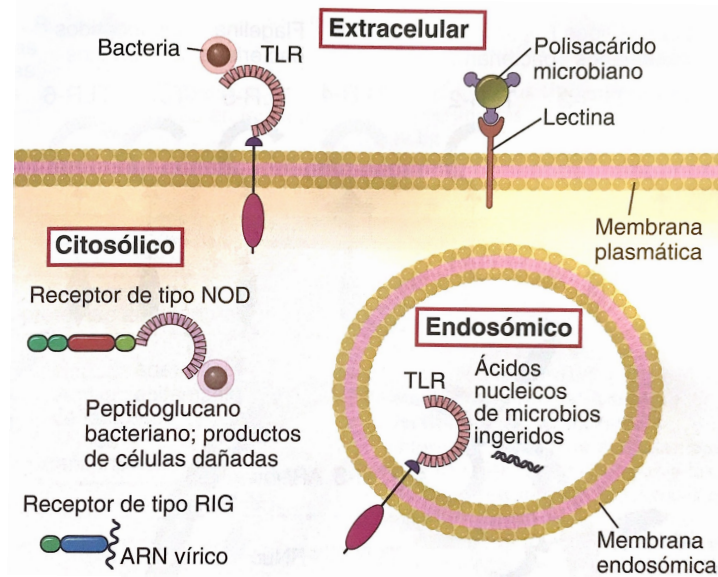


Figura 2: Localización celular de los receptores del sistema inmune innato. En: <https://www.slideshare.net/famene20182b/4-mec-efetores-da-imunidade-inata>

La unión de los ligandos a los TLR, NOD o a un inflamasoma, desencadena la activación del factor nuclear potenciado de la cadena ligera kappa de las células activadas B (NF- κ B) y de la p38 proteína quinasa activada por mitógenos (MAP quinasa). El factor de transcripción NF- κ B está constituido por cinco proteínas: NF- κ B 1 (p50), NF- κ B 2 (p52), p65/RelA, c-Rel y RelB. En reposo NF- κ B se encuentra en el citoplasma unido a una proteína inhibitoria (I κ B) y a una quinasa denominada I κ B-quinasa (IKK) que fosforila a I κ B, conduce a su degradación permitiendo que el NF- κ B liberado se traslade al núcleo donde activa la transcripción de genes para citoquinas, quimioquinas, moléculas de adhesión e inhibidores de la apoptosis.

A nivel pulpar, los PRR más relevantes son los TLR. El TLR2 reconoce ácidos lipoteicoicos, peptidoglicanos y lipoproteínas; el TLR4 reconoce lipopolisacáridos; el TLR5 reconoce flagelina y el TLR9 detecta ADN/ARN bacteriano. También encontramos receptores NOD (dominio de oligomerización de nucleótidos) 1 y 2 que se expresan en el citoplasma de los odontoblastos, los fibroblastos pulpares y células endoteliales, capaces de reconocer peptidoglicanos que contengan ácido γ -D-diaminopimélico (iE-DAP) y muramildipéptido (MDP), respectivamente. Hay un tercer grupo de PRR que puede encontrarse a nivel pulpar que son los inflamomas. La presencia de todos estos receptores capaces de identificar patrones microbianos le confiere inmunocompetencia al tejido pulpar. (figura 3)

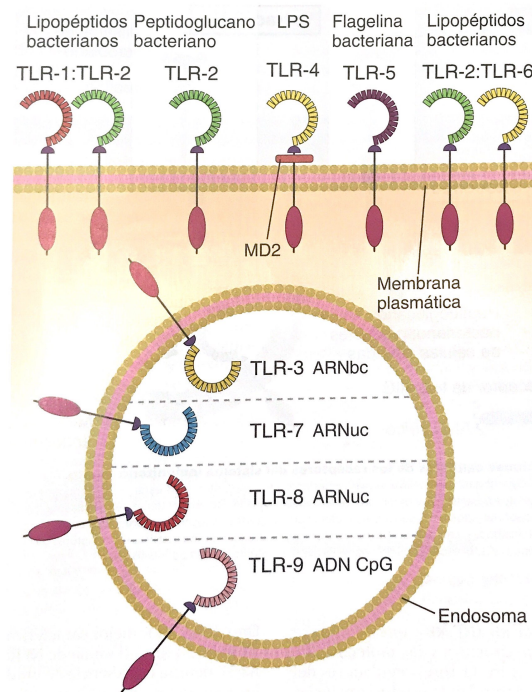


Figura 3: Ubicación y especificidad de los receptores tipo Toll. Los TLR pueden expresarse extra o intra celularmente. Por ejemplo los TLR 1, 2, 4, 5 y 6 se expresan en la superficie celular, mientras los TLR 3, 7, 8 y 9 se encuentran casi exclusivamente en compartimentos intracelulares como los endosomas.

En: <http://www.tiraojaleco.com.br/2017/07/receptores-semelhantes-toll-tlr.html?m=1>

Los componentes del sistema inmune innato son: barreras físicas y químicas, células, factores solubles y receptores; todos estos se ubican en posibles puntos de entrada de los agentes infecciosos desde el medio ambiente, en la circulación donde hacen una labor de vigilancia y en los tejidos donde finalmente se llevará a cabo la respuesta si es que el agente infeccioso ha logrado sobrepasar las primeras barreras.

Dentro de las **barreras físico-químicas** encontramos el epitelio de piel, mucosa gastro intestinal, genito-urinaria y respiratoria ya que constituyen las cuatro interfases entre el cuerpo y el ambiente externo, siendo por ende las vías de acceso posibles. Estas vías de entrada se encuentran recubiertas por epitelios continuos que interferirán físicamente con el acceso de los microorganismos.

A nivel de la piel encontramos la epidermis que es la capa más superficial, constituida por una lámina basal sobre la que se depositan los queratinocitos, estas células se agrupan en capas que constituyen el denominado estrato córneo, paralelamente producen péptidos antimicrobianos y defensinas que actúan como antibióticos de amplio espectro y producen varias citoquinas responsables de la maduración de células dendríticas y algunas subpoblaciones de linfocitos; intercalados entre ellos podemos encontrar melanocitos responsables de la producción de melanina, esta proteína protege el ADN de las células del efecto de la luz ultravioleta.

A nivel gastro intestinal las células epiteliales se encuentran unidas por desmosomas lo que asegura una unión célula a célula que resulta impermeable para los microorganismos que llegan por vía oral o residen en el organismo. Adicionalmente, enzimas del jugo pancreático o enzimas propias intestinales tienen de por sí actividad bactericida. La descamación

de las células de la mucosa, el peristaltismo intestinal y el mucus del tracto gastro intestinal evitan la adherencia de los patógenos. Un mecanismo adicional de defensa del tracto gastro intestinal son las criptidinas (defensinas) secretadas por las células de Paneth ante la presencia de *Staphylococcus*, *Salmonella* y *Escherichia*.

El epitelio del árbol respiratorio representa una barrera similar a la de la piel pero que carece de capa córnea, las células epiteliales son ciliadas y sobre ellas se deposita una capa serosa mucosa producida por células caliciformes y células serosas que por los movimientos propios de las ciliadas evitan que los microorganismos puedan adherirse a la mucosa respiratoria.

Sobre el epitelio plano del tracto genito-urinario se deposita un mucus rico en anticuerpos y enzimas que sumado al pH ácido de la orina y de la hipertonicidad de la parte medular del riñón hacen de esta interfase un medio inhóspito para la agresión microbiana.

Los **componentes celulares** tienen la propiedad de circular y migrar, lo que les permite ejercer una vigilancia eficaz y actuar rápidamente llegando a los lugares de la agresión.

Dentro de los componentes celulares encontramos:

- linfocitos T intraepiteliales ($\gamma\delta$) y los linfocitos B-1. Tienen características especiales que los hacen más afines con ésta que con la inmunidad adquirida. Los primeros producen citoquinas, activan fagocitos y causan la muerte de las células infectadas; los segundos, producen anticuerpos naturales clase inmunoglobulinas M (IgM); constituyen un mecanismo preformado para enfrentar microorganismos que sobrepasan las barreras epiteliales;

- mastocitos que están ubicados en las proximidades de pequeños vasos sanguíneos y poseen mediadores de la inflamación preformados como histamina, serotonina, factor quimiotáctico para eosinófilos, factor quimiotáctico para neutrófilos, heparina, quinasa, peroxidasa, etc. También tienen la capacidad de secretar mediadores lipídicos de neoformación tales como las prostaglandinas, tromboxano y leucotrienos y mediadores proteicos de neoformación como las citoquinas;
- los neutrófilos;
- los eosinófilos;
- los monocitos;
- las células NK.

Dentro de los **componentes solubles** encontramos:

- sistema de complemento, que es un mecanismo efector de la inmunidad humoral específica y juega un papel amplificador de la respuesta inflamatoria;
- las colectinas que actúan como receptores de patrones de reconocimiento y pueden activar al complemento;
- las proteínas de fase aguda (pentraxinas), como la proteína C reactiva (actúa como opsonina y aumenta el nivel de fagocitosis bacteriana) y la proteína amiloide sérica (influye en la adhesión, migración, proliferación y agregación celular), la proteína ligadora de manosa (MBL: mannose binding protein, que interviene en la activación del sistema de complemento)
- el sistema de coagulación;

- las citoquinas que son producidas por diversos tipos celulares permitiendo la comunicación entre las células del sistema inmune; ejercen acciones locales y a distancia.

Para llevar a cabo sus funciones efectoras los componentes de la inmunidad innata deberán reconocer a los agresores, esta fase de reconocimiento se lleva a cabo mediante **receptores** de superficie celular o bien a través de moléculas solubles de reconocimiento.

Las principales moléculas solubles de reconocimiento son: la proteína C reactiva, la proteína amiloide sérica, MBP, la proteína ligadora de lipopolisacárido (LBP: lipopolysaccharide binding protein), CD14 soluble, C3.

Los principales receptores celulares de reconocimiento de la inmunidad innata se ubican en la membrana celular de polimorfonucleares neutrófilos, monocitos y macrófagos, tienen la capacidad de vigilancia de microorganismos que puedan haber ingresado al huésped y que hayan sobrepasado la barrera inicial del sistema de defensa inespecífico; reconocen glucoproteínas y lipopolisacáridos bacterianos comunes a muchos patógenos y que no están presentes en las células del huésped.

Dentro de estos encontramos los receptores de manosa, los receptores scavenger, receptor CD14/toll like, receptor CR3 y receptor de N-formilmetionil.

Los receptores celulares y solubles no actúan aisladamente sino que muchas veces lo hacen en conjunto para llevar a cabo su función. Por ejemplo el mecanismo por el cual los macrófagos reconocen al lipopolisacárido presenta tres componentes: la LBP, el receptor CD14 y el receptor toll-like 4. Cuando el lipopolisacárido circulante se une a la

proteína soluble LBP permite ser entregado al receptor CD14 de la superficie del macrófago quedando la LBP libre y nuevamente soluble en el plasma; la unión del lipopolisacárido al CD14 desencadena una serie de señales mediadas por la subunidad toll-like 4 produciendo la activación del macrófago.

La unión ligando-receptor induce respuestas celulares que estimulan la inflamación y la acción microbicida. Entre los sistemas mediadores de la inflamación participan el sistema de las cascadas plasmáticas enzimáticamente gatilladas: sistema de la coagulación, sistema de las cininas, sistema de la fibrinólisis y sistema del complemento, que están interrelacionados y juegan un papel amplificador de la respuesta inflamatoria.

El factor XII de la coagulación es fundamental; su activación (por superficies cargadas negativamente, como colágeno, membranas basales expuestas durante la injuria tisular) inicia la cascada de la coagulación, del sistema de las cininas y de la fibrinólisis.

La plasmina activa al sistema del complemento; factores derivados de éste participan en la inflamación aguda y actúan sobre el mastocito produciendo su degranulación y liberando histamina, lo que aumenta la permeabilidad vascular y la vasodilatación; otros factores del sistema de complemento favorecen la adhesión, quimiotaxis y activación de leucocitos y algunos actúan como opsonina favoreciendo la fagocitosis por neutrófilos y macrófagos.

La activación del sistema de las cininas libera bradiquinina, que aumenta la permeabilidad vascular y también provoca dolor. Además, el quininógeno

de alto peso molecular (HMWK), es un cofactor en la activación del factor de Hageman. (figura 4)

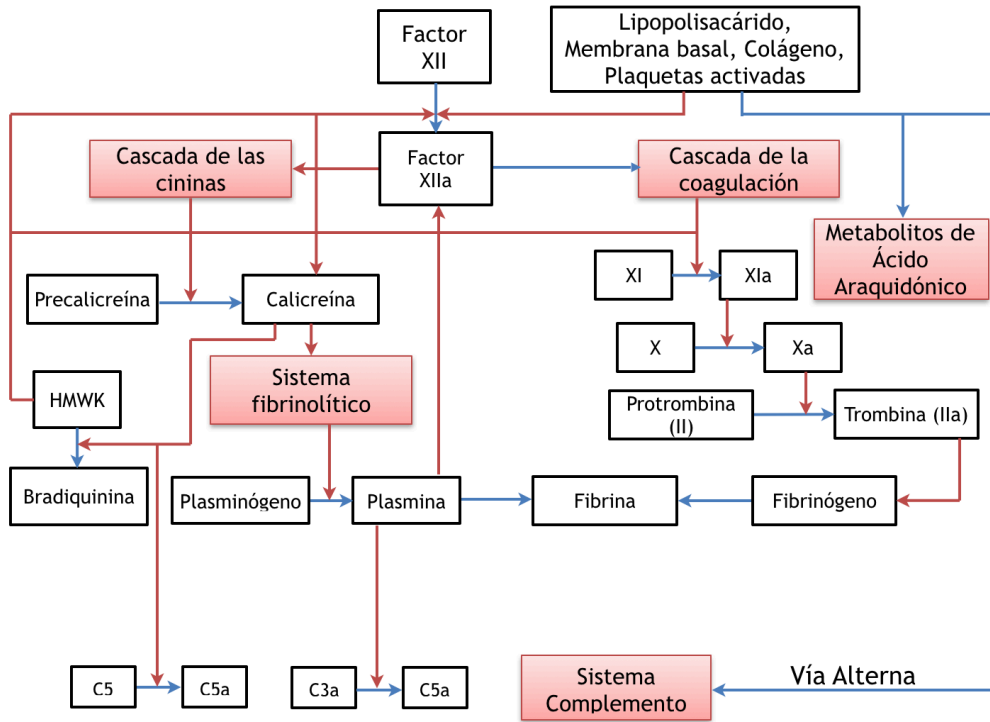


Figura 4: Interrelación de las distintas cascadas de activación enzimática.

La activación de los macrófagos se evidencia a través de la estimulación de síntesis de proteínas que van a favorecer la función microbicida (oxidasas, óxido nítrico sintetasa), la trombosis (factor tisular), la remodelación tisular (proteasas, factores de crecimiento, factores angiogénicos), inflamación local y respuesta de fase aguda (IL-1, IL-6 y TNF), activación de otros tipos celulares (IL-12) y estimulación de la respuesta específica a través de la presentación antigénica y de la expresión de moléculas coestimuladoras.

Estímulos como la IL-1, el TNF α y el lipopolisacárido estimulan la secreción de fosfolipasa A₂ por distintos tipos celulares, esta es una enzima capaz de liberar ácidos grasos a partir de los fosfolípidos de la membrana. Luego de su liberación el ácido araquidónico es metabolizado a través de dos vías: la de la ciclooxigenasa y la de la lipooxigenasa.

Se han descubierto dos isoformas de la ciclooxigenasa: la COX-1 y la COX-2, enzimas con alrededor de 600 aminoácidos cada una. Algunos autores describen una tercera isoforma: la COX-3, radicada en el cerebro, aunque para otros no sería más que la COX-2 pero con funciones más propias de la COX-1.

La ciclooxigenasa 1 (COX-1) tiene como función la regulación de la proliferación de las células normales o neoplásicamente transformadas, se encuentra asociada al retículo endoplásmico de las células. Es constitutiva en todos los tejidos especialmente riñón y tubo gastrointestinal, participa en la producción de prostaglandinas D₂, E₂, F₂ α (vasodilatadores), G₂, H₂ (agregante plaquetario y vasoconstrictor), I₂ (antiagregante plaquetario y vasodilatador) y tromboxano A₂ (agregante plaquetario y vasoconstrictor), que intervienen en procesos fisiológicos tales como: protección del epitelio gástrico, mantenimiento del flujo renal, la agregación plaquetaria, la migración de neutrófilos y también se expresan en el endotelio vascular.

La ciclooxigenasa 2 (COX-2) tiene como función mediar en los procesos de inflamación y en la señalización por prostanoïdes, se expresa tras inducción inflamatoria, aunque es constitutiva en sistema nervioso central y riñón. La expresión de la COX-2 es provocada por diversos mediadores inflamatorios (interferón γ , factor de necrosis tumoral α , interleuquina 1,

factores de crecimiento, etc.) en diversas células (monocitos, macrófagos, células endoteliales, sinoviocitos, condrocitos y osteoblastos) y tejidos (aparato reproductor, sistema nervioso central, estómago, riñón, pulmón y ciertos tejidos afectados por procesos neoplásicos), se encuentra asociada a la envoltura nuclear de las células.

Por acción de la lipooxigenasa se genera el ácido hidroperoxieicosatetraenoico (HPETE) a partir del cual se generan el leucotrieno A₄, que generan los leucotrienos B₄ (factor quimiotáctico) y los leucotrienos C₄, D₄ y E₄ que aumentan la permeabilidad vascular. (figura 5)

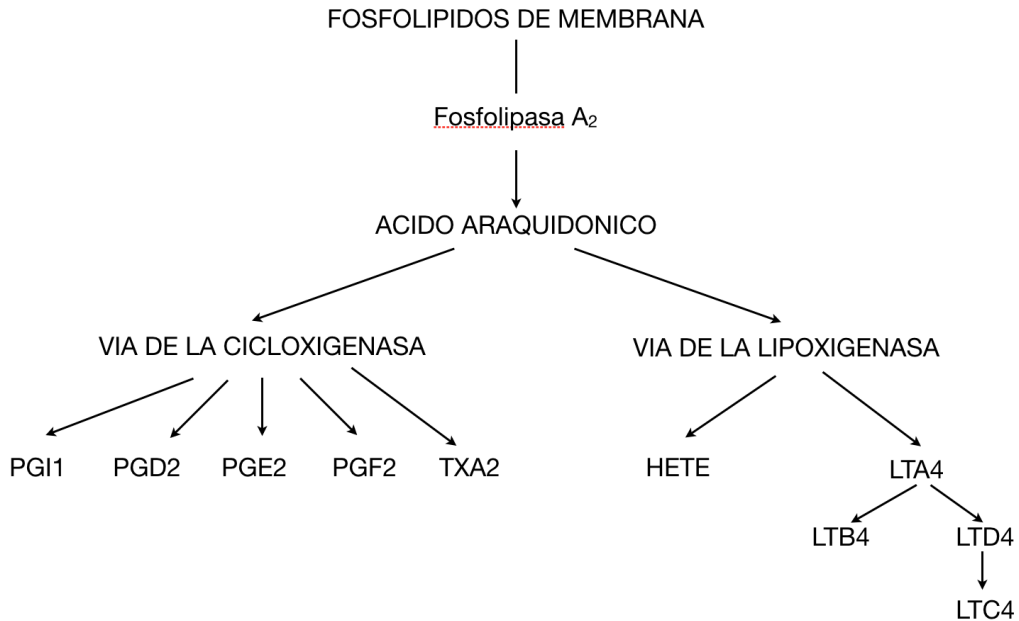


Figura 5 : Metabolitos del ácido araquidónico.

1. SISTEMA DE COMPLEMENTO

El sistema de complemento es un sistema de defensa y limpieza que “complementa” la destrucción de bacterias por parte de anticuerpos

presentes en el suero normal. Su activación lleva a una cascada secuencial de reacciones enzimáticas conocidas como vías de activación resultando en la formación de potentes anafilotoxinas que tendrán como consecuencia una plétora de respuestas fisiológicas que van desde la quimio-atracción hasta la apoptosis.

Inicialmente se pensó que el sistema de complemento jugaba un papel importante en la inmunidad innata dando una respuesta sólida y rápida contra los patógenos invasores; sin embargo, más tarde, fue aumentando la evidencia que demuestra que también interviene en la inmunidad adquirida colaborando en la eliminación de patógenos y manteniendo la memoria inmunológica para prevenir la re-infección.

Fue descubierto en 1890 y está compuesto por alrededor de 40 proteínas presentes en el plasma o sobre membranas biológicas, que se interrelacionan en el sistema inmune. El sistema puede activarse por tres vías diferentes; la **vía clásica**, que se desencadena por la unión de moléculas de anticuerpos a un antígeno presente en la membrana de los microorganismos o de las células, esto también puede ocurrir en presencia de la proteína C reactiva; la **vía de las lectinas** por moléculas glucoproteínicas que reconocen monosacáridos expresados en la membrana de microorganismos; y la **vía alterna** o del properdin que se inicia por la interacción de sus factores de reconocimiento con moléculas como zimosán, insulina o lipopolisacáridos de la membrana de varios microorganismos.

Suele describirse una cuarta vía, la **vía plaquetaria** que se activaría a partir de C5 facilitando la degranulación de las plaquetas.

Todas las vías convergen en C3, que es la glucoproteína del complemento que se encuentra de forma más abundante en la sangre, resultando en productos de activación.

La activación es siempre acompañada de la liberación de muchos péptidos biológicamente importantes. Como convención, los péptidos o fragmentos se designan con letras minúsculas. Por ejemplo, C3 puede generar varios fragmentos C3a, C3b, C3c, C3d, C3g, no todos con funciones conocidas. Los fragmentos **b** son de tamaño mayor que los **a**, esto fue establecido en un taller de nomenclatura internacional, aunque a pesar de ello algunos libros aún mantienen una excepción representada por C2, en que el fragmento mayor sería **a** y el menor **b**.

La activación del sistema de complemento (figura 6) resultará en:

- a. la formación de un complejo destructor de membrana (Killer Complex o MAC -Membrane Attack Complex-), que es un complejo macromolecular formado por seis moléculas (C5b, C6, C7, C8 $\alpha\gamma$, C8 β y C9). Su generación está orientada al ataque de membranas biológicas. Sus propiedades físico-químicas anfifílicas (hidrofóbicas e hidrofílicas) le permiten insertarse en membranas fosfolipídicas próximas al sitio de activación, afectando profundamente su estructura con soluciones de continuidad que alterarán su permeabilidad.
- b. la opsonización de antígenos (fragmentos C3b y C4b). Estas opsoninas se unen covalentemente a la superficie de células invasoras próximas al sitio de activación. No producen daño por sí mismas, pero las células sensibilizadas con ellas son detectadas por células fagocíticas profesionales que poseen

receptores específicos para C3b y C4b en su superficie (CR1). Además de contribuir a la fagocitosis, estas opsoninas contribuyen a la focalización de antígenos hacia nódulos y ganglios linfáticos, donde hay una gran concentración de linfocitos B. Esto sucede porque los linfocitos B y las células dendríticas foliculares también expresan receptores para los fragmentos de C3b y C4b; es por esto que el sistema tiene función estimuladora de la respuesta inmune, ya que para ser inmunogénicos, los antígenos deben llegar a los órganos linfoides. Por otra parte, como los complejos inmunes pueden activar al sistema, una tercera función de estos fragmentos sería impedir la formación de agregados de complejos inmunes insolubles en el organismo.

- c. un tercer grupo de productos generados conocido como anafilotoxinas, fragmentos de bajo peso molecular que se generan a partir de C3, C4 y C5, llamados C3a, C4a y C5a cuya función principal es aumentar la permeabilidad capilar. Son fundamentales en el fenómeno inflamatorio fisiológico. Tienen vida media corta (por poseer una potente actividad biológica) siendo rápidamente destruidos por carboxipeptidasas plasmáticas. En realidad no son anafilotoxinas ya que no son toxinas y no inducen shock anafiláctico, sin embargo se conserva su nombre por razones históricas.

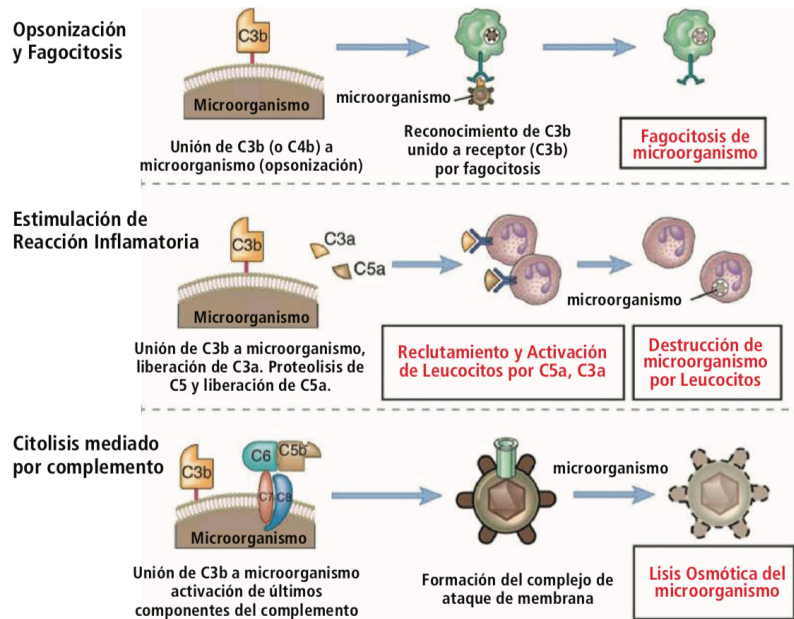


Figura 6 : Funciones sistema de complemento. En: Visión panorámica del sistema inmune, Toche P.P., <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0716864012703358>

El sistema del complemento, por su potencial destructor para el huésped, debe ser regulado, esto es llevado a cabo por varias proteínas que intervienen en diferentes puntos de la cascada.

Estas proteínas pueden clasificarse de acuerdo a su **ubicación** en:

a) Presentes en el suero

- Inhibidor de C1 (C1INH) que inactiva C1r, C1s y MASP2
- C4 binding protein (C4bp o proteína ligante de C4)
- Inactivador de C3b y C4b (factor I) que acelera el catabolismo de C3b y C4b, requiere cofactores

- Factor H que vuelve sensible a C3b para su digestión por el factor I y se encuentra unido a las membranas de las células inocentes del huésped
- Proteína S, impide la unión de C5b a la membrana celular
- Inactivador de anafilotoxinas
- SP40, inhibe la formación del MAC
- Properdin (factor P)

b) Presentes en las membranas celulares actuando sobre ellas

- CR1 : Receptor de C3b y C4b
- DAF: Decay accelerating factor. (Factor acelerador del decaimiento de convertasas) inhibe la asociación de C4b a C2 evitando la formación de la convertasa de C3
- CR2: Receptor de C3d y C3dg, iC3b
- MCP: Membrane Cofactor Protein (Proteína cofactor de membrana) que se une a C3b y C4b unido a las células permitiendo que el factor I escinda estas moléculas en dos fragmentos evitando la función de la convertasa de C3

De acuerdo a su función pueden clasificarse en:

- **inhibidoras**: que previenen la activación de algunos factores del complemento (por ejemplo inhibidor de C1)
- **reguladoras**: que desactivan a los factores (por ejemplo factor H, factor I, MCP y proteína S)
- **protectoras**: protegen a la célula del huésped (por ejemplo DAF (CD55) y SP40)

El factor I es el único regulador que posee actividad enzimática. Para inactivar irreversiblemente las enzimas C3 convertasas clásica y alterna, I depende críticamente de la interacción reversible de co-factores especializados (C4bp, H y CR) con sus ligandos respectivos, C4b en la ruta clásica y C3b en la ruta alterna. Al actuar sobre la cadena alfa de C3b genera C3c y C3dg en presencia del factor B; C3dg es escindido por proteasas séricas en C3d y C3g.

Las características generales de los factores del complemento se resumen como sigue:

- a) C2, C3, C4, C5 y B se fragmentan durante la activación generando C2a, C2b; C3a y C3b; C4a y C4b; C5a y C5b, Ba y Bb.
- b) Todos los componentes son glucoproteínas.
- c) Precursores (no funcionales) se vuelven funcionales luego de una proteólisis limitada en una reacción en cascada unidireccional (C1r, C1s, C4, C2, C3, C5).
- d) La regulación ocurre en varios puntos de la cascada.
- e) La acción lítica y opsonizante sobre membranas biológicas blanco y no sobre células vecinas inocentes.
- f) Algunos componentes se preasocian estratégicamente en ausencia de estímulo:
 - C1q, C1r, C1s (todos necesarios para la activación de C4 y C2).
 - C4, C2, C4bp (C4 y C2 forman la convertasa clásica de C3; C4bp es cofactor de I para inactivar a C4).
 - C3, P, B (participan en la convertasa alterna de C3).
 - C5, C6, C7, C8, C9 (forman el Complejo de Ataque de Membranas, Membrane Attack Complex -MAC-).

La activación del complemento puede ser definida entonces como una cascada de reacciones en la que precursores enzimáticos no funcionales son activados por proteólisis limitada y específica en un proceso unidireccional e irreversible.

1.1 VIA CLASICA

Implica la activación de C1 a C9 siendo la participación de iones calcio y magnesio esencial ya que sin éstos la activación no ocurre.

La unión de moléculas de anticuerpos a los antígenos presentes en la membrana de los microorganismos desencadenará la cascada de activación a través de la etapa de reconocimiento. En esta participará C1 que está formado por las subunidades q, r, s. La subunidad C1q es la que participa en la etapa de reconocimiento. (figura 7)

La estructura de C1q suele compararse a un ramo de seis tulipanes participando tres cadenas similares pero de diferente peso molecular (A, B, C) unidas entre sí de a pares por puentes disulfuro. Para que la activación del sistema de complemento se inicie se requiere que al menos dos de las seis ramas de C1q se unan a moléculas de anticuerpos.

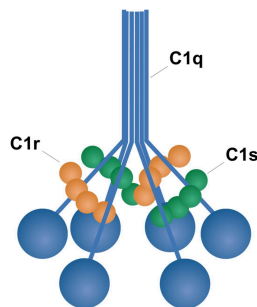


Figura 7 : Subunidad C1q. En: <http://www.clinsci.org/content/118/2/99>

Cada unidad de C1q tiene una porción fibrilar y una globular. La fibrilar es parecida al colágeno por lo cual es sensible a la colagenasa. La parte globular es la responsable del reconocimiento de los complejos antígeno-anticuerpo y resiste la acción de colagenasas conservando su capacidad de unión a complejos antígeno-anticuerpo aún después del ataque de la enzima.

C1r y C1s son serino esterasas que se unen de forma no covalente y como dímeros a la porción fibrilar de C1q.

La porción globular de C1q deberá formar, a través de una unión no covalente, un complejo con 2 fragmentos cristalizables (Fc) del anticuerpo que deben estar a una distancia crítica.

La IgM es la molécula que mediará el ataque temprano de membranas biológicas por parte del complemento, cuando reacciona con un antígeno de la membrana celular bacteriana cambia su estructura plana a una forma tridimensional, exponiendo un dominio con la distancia crítica justa para unir la porción globular de C1q.

La IgG no posee esta distancia crítica necesaria por lo cual se necesitan por lo menos que dos de ellas se unan a radicales antigénicos para que C1q pueda reaccionar con el anticuerpo.

Cumplida la fase de reconocimiento la subunidad C1s actuará sobre el factor C4 produciéndose dos moléculas C4a y C4b. C4b se unirá covalentemente a la membrana de la célula agresora.

El fragmento C4b en presencia de magnesio actúa sobre el factor C2 que se divide en C2a y C2b. C2b se unirá a la molécula C4b y C2a quedará libre. La unión de C4b y C2b constituye la convertasa de C3 (factor más

abundante del sistema de complemento de origen fundamentalmente hepático). (figura 8)

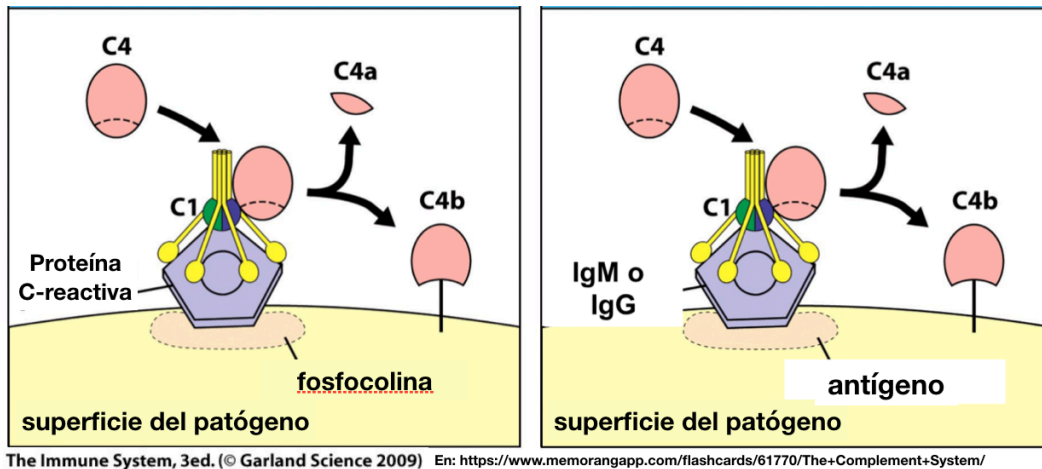


Figura 8 : Vía clásica: fase de reconocimiento.

La C3 convertasa genera muchos precursores C3b. La mayor parte de ellos pasa a la fase fluida, otra parte (menor) actúa como opsoninas y también para direccionar antígenos hacia órganos linfoides.

Uno de los aspectos característicos del sistema del complemento es que, después de la activación, las moléculas de C3b y C4b tienen fracciones de segundo para unirse covalentemente a la membrana atacada, si no lo hacen decaen.

La molécula C4 no es una enzima sino que actúa como matriz o cofactor positivo para el ensamblaje de las C3 y C5 convertasas. Es una molécula extremadamente versátil. Tiene al menos siete dominios importantes y topográficamente diferentes que le permiten interactuar con:

- a) C1s de la ruta clásica, o MASP (Manose Binding Lectine (MBL) Associated Serine Protease) de la ruta de las lectinas, lo que determina su activación.

- b) Membranas biológicas atacadas (unión covalente).
- c) C2, para formar la convertasa de C3.
- d) CR1, de células fagocíticas, lo que le permite actuar como opsonina.
- e) C4bp, lo que media su inactivación, cuando pasa a fase fluida.
- f) Factor I, lo que media su inactivación en fase fluida, cuando es reconocido por C4bp.
- g) C3, requisito para la activación de éste por parte de C2b. Así, C3b puede actuar como opsonina, o formar parte de la convertasa de C5.

La fragmentación de C4 en C4b y C4a es un punto de amplificación de la cascada. Así, por cada molécula activada de C1s se generan alrededor de 30 moléculas de C4b que se unirán a la membrana (no más del 5% del C4b generado por esa molécula de C1s), para evitar el ataque a membranas propias inocentes vecinas, es importante inactivarlos (a través de la C4bp que actúa como co-factor para el factor I).

Las C3 convertasas generadas sobre la membrana biológica reaccionarán con C3, presente en fase fluida, generando gran cantidad de C3b. C3 es digerido en su cadena alfa por la subunidad catalítica presente en C2b del complejo C4b2b (C3 convertasa).

Esta etapa tiene al menos 3 funciones, derivadas también del depósito covalente de C3b sobre membranas biológicas:

- a) Facilitar la fagocitosis.
- b) Proporcionar un sitio de unión para C5, de manera tal que C5 pueda ser digerido por C2b. Esto ocurre porque al unirse C3b al complejo C4b2b se produce un cambio en la especificidad del sitio enzimático presente en C2b siendo el complejo C4b2b3b ahora específico para C5 (C5 convertasa).

c) Direccionar antígenos hacia órganos linfoides, facilitando así la inducción de la respuesta inmune adquirida, dado que el receptor CR1 de los linfocitos B es común para C3b y C4b.

Entre el 10-15% del total del C3b generado se une a las células. Es otro paso de amplificación ya que aproximadamente 200 moléculas de C3b se depositan sobre la célula por cada C3 convertasa. Al igual que en el caso de C4b, la gran cantidad de C3b que pasa a la fase fluida debe ser inactivada (a través del factor I).

C5 circula en el plasma preasociado con C6-C7-C8-C9 como heteropolímero. La C5 convertasa fragmenta a C5 quedando libre C5a como anafilotoxina. De esta manera el heteropolímero se unirá por medio de C5b a C3b de la C5 convertasa.

Una vez que la C5 convertasa actúa sobre C5 el C5b se unirá con C6 lo que permite la modulación de C7 generando una transición irreversible del complejo hidrofílico a un complejo anfifílico, ésta transformación le permite al heteropolímero insertarse en la fase lipídica de las membranas celulares.

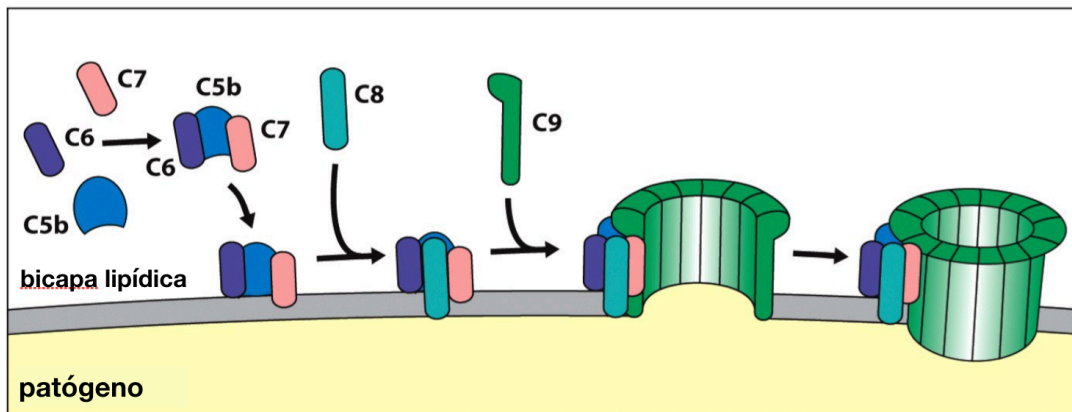
C8 se une al pilar heteropolimérico a través de su subunidad beta; la subunidad alfa gamma es necesaria para iniciar la polimerización de C9 (poliC9).

El complejo de ataque a membrana (MAC) está compuesto por un complejo multiproteico C5b, C6, C7 y C8 unidos a la membrana celular junto con poliC9. (figura 9)

La estructura anular del MAC, actuando como un canal a través de la membrana, permite la libre difusión de moléculas en ambos lados de la célula, lo que distorsiona su ambiente interno matándola rápidamente.

Es muy posible que solo el efecto mecánico de la inserción de los MACs provoque la muerte celular independientemente de otros efectos osmóticos o metabólicos que los canales puedan inducir distorsionando el citoplasma celular mediante el ingreso de calcio y sodio y la salida de potasio ocasionando grandes gastos de energía que pueden acelerar la muerte celular.

Existen algunos tipos celulares que han desarrollado mecanismos de escape al ataque por MAC (por ejemplo *Neisseria gonorrhoeae*, *Salmonella minnesota*, ciertos tipos de *Escherichia coli* y algunas líneas de células neoplásicas).



The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009) En: <https://www.memorangapp.com/flashcards/61770/The+Complement+System/>

Figura 9 : Fase efectora, constitución del MAC.

1.2 VIA DE LAS LECTINAS

La ruta de las lectinas, descrita más recientemente, puede considerarse como un “bypass” de la ruta clásica. Al igual que la ruta alterna, se activa en forma independiente de anticuerpos. Cuando los macrófagos fagocitan bacterias u otros agentes agresores, son estimulados para secretar citoquinas como IL-1, IL-6 y TNF α .

Éstas actúan sobre los hepatocitos, que responden produciendo proteínas de fase aguda, entre las cuales se encuentra la lectina que une manosa ("mannose binding lectin" o MBL) la cual circula en la sangre asociada a proteasas de serinas (MASP).

Como la manosa es un componente principal de las glucoproteínas de la pared bacteriana y probablemente de otros agresores, la MBL se une a las bacterias y otros patógenos, actuando no solo como una potente opsonina, sino también mediando la activación del complemento.

Estructuralmente existen cuatro MASP 1, 2, 3 Y MAP 19 (forma troncada de la MASP2). La unión a la membrana bacteriana induce cambios estructurales que resultan en la autoactivación de la MASP2, que actuará sobre C4 y C2, en una manera aparentemente idéntica a como lo hace C1s en la vía clásica.

MBL tiene similitudes estructurales importantes con C1q (al microscopio electrónico presenta una estructura semejante a un ramillete de tulipanes). La deficiencia de MBL ha sido asociada con susceptibilidad a un amplio rango de enfermedades bacterianas.

Cumplida la fase de unión a la membrana, el proceso de conversión de la convertasa del C3 y de daño a la membrana se cumplen en la misma forma descrita en la vía clásica. (figura 10)

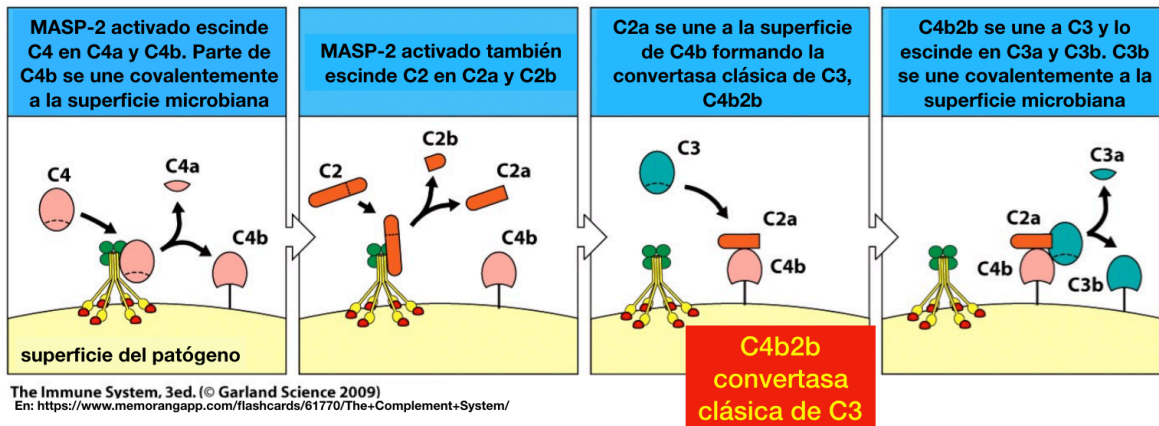


Figura 10 : Fase de reconocimiento, vía de las lectinas.

1.3 VIA ALTERNA

Se inicia por lipopolisacáridos de microorganismos patógenos o en presencia de IgA, este mecanismo se realiza en ausencia de anticuerpos específicos, característica fundamental de esta vía, al igual que la vía de las lectinas. Difiere de la vía clásica en que en la iniciación no actúan los factores C1, C4 y C2 sino que participan en su lugar seis proteínas plasmáticas: C3, B, D, H, I y P. De éstas, B, D y P (properdin) participan exclusivamente en esta vía. Es necesaria la presencia de concentraciones fisiológicas de magnesio para que se desencadene.

Para comprender esta vía debemos tener en cuenta que de manera constante y espontánea el factor C3 es hidrolizado generando moléculas libres de C3b denominadas C3(H₂O) que se diferencian de C3b por su origen, ya que éste es producto de la proteólisis de C3 en la vía clásica.

En la vía alterna, C3(H₂O), tendría todas las propiedades funcionales de C3b excepto que, por un corto período de tiempo, esta proteína sería resistente a la inactivación por H e I. C3(H₂O) en concentraciones fisiológicas de magnesio forma un complejo con el factor B nativo. El

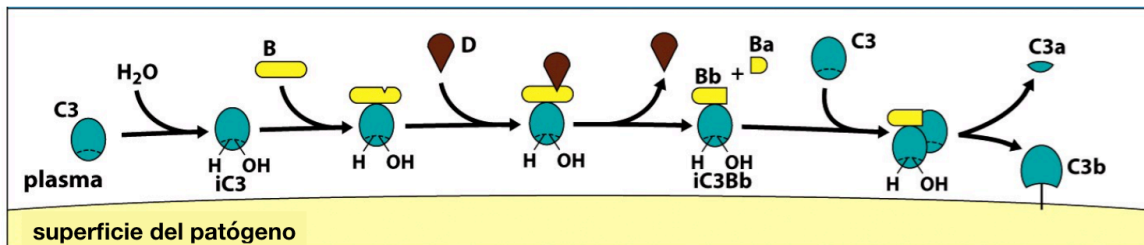
complejo $C3(H_2O)B$ es activado por D formándose una convertasa de fase fluida de C3, $C3(H_2O)Bb$.

Las características principales de algunas de las proteínas que participan en esta ruta alterna son:

Factor H: Cofactor regulador negativo. Se une a C3b y solo en estas condiciones, la cadena alfa de éste se torna sensible a la digestión por I.

Factor I: Serino proteasa que actúa como factor regulador negativo. Digiere las cadenas alfa de C3b y C4b. Requiere de los cofactores H (sobre C3b) CR1 (sobre C3b y C4b, ambos unidos a membranas) y C4bp (sobre C4b, en fase fluida), para ejercer su función enzimática.

Esta C3 convertasa de fase fluida es la primera enzima capaz de generar C3b metaestable. La enzima misma está confinada a la fase fluida a diferencia de la ruta clásica y de las lectinas, donde la C3 convertasa ($C4b2b$) está confinada a la superficie de la célula atacada, unida covalentemente a través de C4b. (figura 11)



The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009) En: <https://www.memorangapp.com/flashcards/61770/The+Complement+System/>

Figura 11 : Fase de reconocimiento, vía alterna (la enzima está confinada a la fase fluida).

Se podría decir que la ruta alterna está siempre iniciada. Si continúa o no dependerá de la naturaleza de la superficie receptiva.

La habilidad de C3b metaestable para reaccionar con una amplia variedad de carbohidratos (grupos hidroxilos), proteínas (grupos aminos), capacita a esta ruta para depositar C3b sobre una amplia gama de microorganismos. Es muy posible entonces que el primer factor de defensa del huésped que encuentra un microorganismo invasor sea C3b, generado constantemente por C3(H₂O)Bb en fase fluida. C3b se unirá covalentemente a su superficie y lo hará apetecible para los fagocitos profesionales. (figura 12)

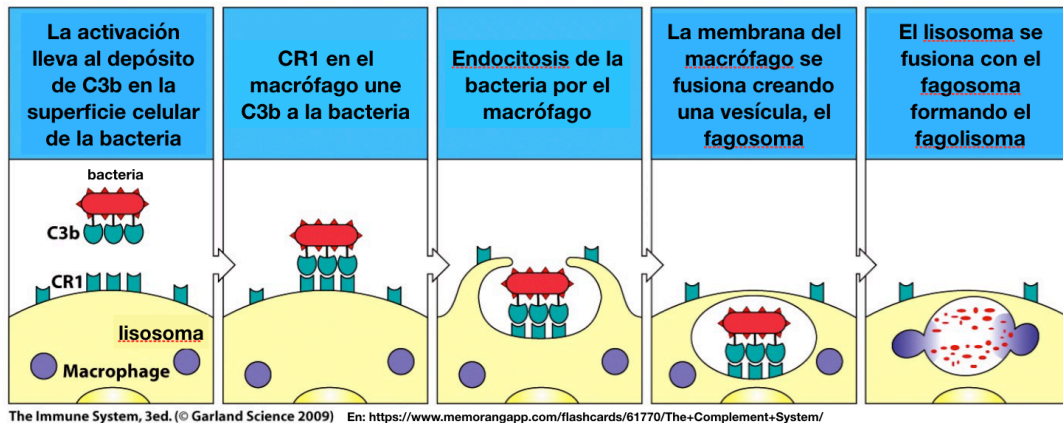


Figura 12 : Fagocitosis de elementos opsonizados por C3b.

Una característica muy particular de la ruta alterna es que el depósito covalente de C3b parece continuo e indiscriminado tanto sobre las células del huésped como sobre las de los organismos agresores, el huésped resuelve este problema con moléculas reguladoras negativas que inactivan a C3b.

C3b en fase fluida y C3b unido a superficies o membranas del huésped (no activadores por definición) es rápidamente inactivado por H e I. En cambio,

cuando C3b se une a partículas invasoras activantes, la C3 y C5 convertasas son protegidas de la destrucción mediada por las proteínas reguladoras de la fase fluida.

La habilidad para distinguir entre superficies activadoras y no activadoras de la ruta alterna es un atributo de C3b o de H o de ambos y este atributo es expresado o modulado por características bioquímicas de la superficie de la partícula.

No está claro qué estructuras moleculares son reconocidas por la ruta alterna. Todos los activadores presentan carbohidratos, pero es difícil visualizar cuáles son los determinantes moleculares compartidos que son reconocidos. Un aspecto común a la mayoría de los activadores es la presencia de concentraciones muy bajas de ácido siálico.

La retroalimentación positiva, dependiente de C3b, es una característica exclusiva de la activación de la vía alterna del complemento, o sea, la convertasa de C3 es capaz de generar muchas moléculas de C3b que tienen la capacidad potencial de generar nuevas convertasas de C3 y C5. Es importante señalar que D convierte a B en Bb solo cuando éste está unido a C3b.

Este proceso es controlado por los factores H e I. Así C3b depositado en una superficie activadora es relativamente resistente a la inactivación por H e I. Lo mismo ocurre con las convertasas de C3 que se generen sobre este tipo de superficie. Este balance entre amplificación y control permite a la vía depositar C3b de la fase fluida al azar sobre partículas activantes y no activantes. (figura 13)

El depósito de C3b sobre partículas activadoras tiene cuatro características importantes: a) depende del tipo de partícula activante, b) tiene un período

de latencia, probablemente correspondiente a la etapa de reconocimiento, c) aumenta exponencialmente debido a la amplificación o retroalimentación y, d) alcanza una meseta, correspondiente al agotamiento de componentes o de receptores de superficie.

El properdin es un co-factor positivo que estabiliza la convertasa del C3, se une a este complejo solo cuando se encuentra unido a membranas activantes.

Serán sensibles al ataque de la ruta alterna: bacterias, hongos, virus, células tumorales inducidas por virus, otras líneas de células tumorales y eritrocitos humanos carentes del factor acelerador del decaimiento de convertasas (DAF).

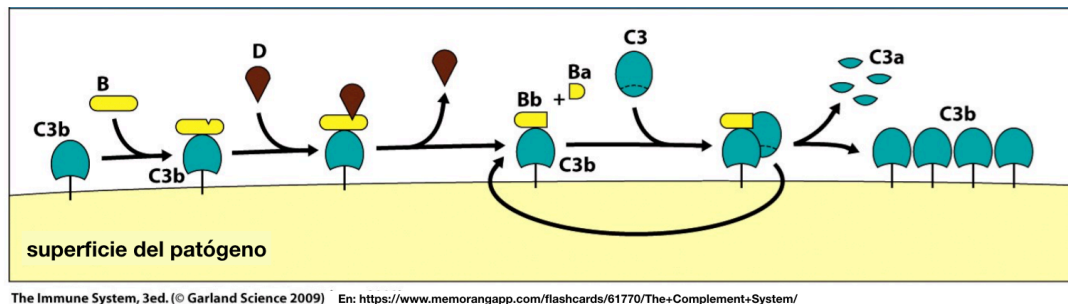


Figura 13 : C3 metaestable unido a la membrana celular del patógeno.

1.4 VIA PLAQUETARIA

Es descrita por algunos autores como una vía independiente de C3 por lo que se la conoce también como vía C3 independiente. Proteasas liberadas por neutrófilos y macrófagos, factores como la calicreína, plasmina y factor XIIIa (factor de Hageman) pueden generar productos de activación del

sistema de complemento. La calicreína puede activar localmente al factor C5 actuando como una C5 convertasa independiente de C3.

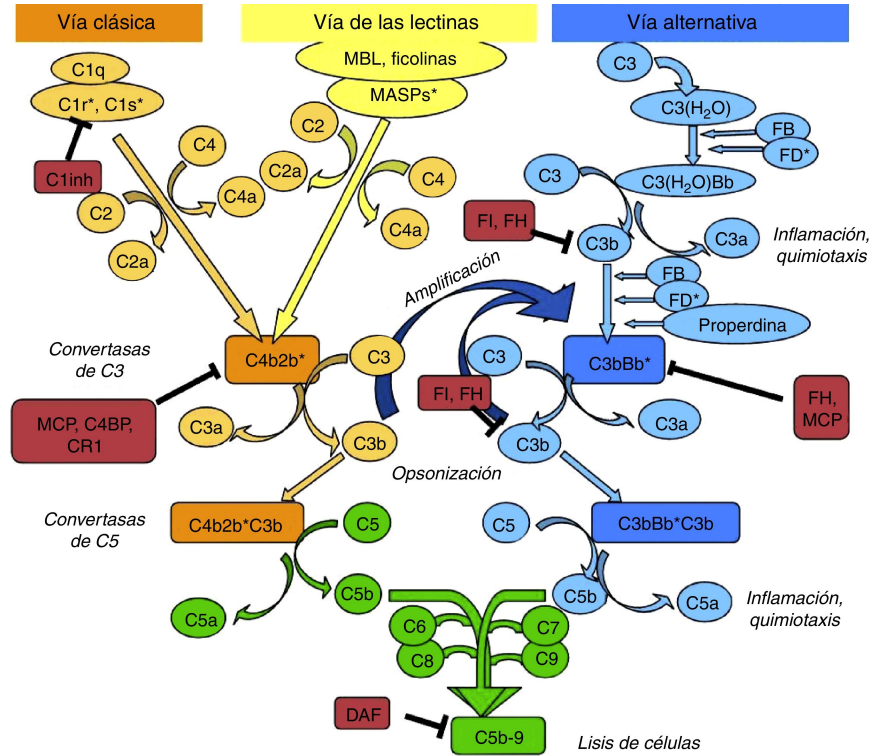


Figura 14: Vías de activación del sistema de complemento. En: https://www.researchgate.net/publication/303806566_Autoanticuerpos_frente_a_proteinas_de_la_via_alternativa_del_complemento_en_enfermedad_renal/figures?lo=1&utm_source=google&utm_medium=organic

2. CASCADA DE LA COAGULACIÓN

A lo largo de la vida del individuo, sobre la pared de los vasos sanguíneos pueden producirse lesiones tanto a nivel macroscópico como microscópico que resultan en la aparición de una hemorragia, la hemostasia es un mecanismo complejo que representa el cese fisiológico de la misma.

Podemos diferenciarla en dos etapas: a) la hemostasia primaria, en la que se incluyen todos aquellos cambios a nivel del endotelio vascular y su

interacción con las plaquetas; y b) la hemostasia secundaria o coagulación en la que participan todos los factores de la coagulación con el fin de formar una estructura que oblitere la solución de continuidad ocasionada por el daño y que sirva de andamiaje para el futuro proceso de cicatrización.

Clásicamente a la cascada de la coagulación se la ha dividido en dos vías: la intrínseca y la extrínseca, esta diferencia se basaba en la participación de factores extra-plasmáticos. Actualmente la diferenciación está siendo desestimada por la interrelación y sinergia que presentan todos los factores que intervienen en la cascada de la coagulación. Es por esto que algunos autores han comenzado a criticar el concepto de cascada aunque por fines didácticos esta denominación permanece vigente.

Como todo proceso fisiológico requiere de elementos desencadenantes, sistemas de amplificación, co-factores, moléculas de señalización y elementos que, con el fin de evitar una función excesiva más allá de la necesidad del organismo, logren regular el alcance de los procesos.

Una serie de activaciones enzimáticas darán lugar al depósito de fibrina sobre el tapón plaquetario formado durante la hemostasia primaria, éste depósito constituye la maduración del coágulo, el cierre de la brecha y el establecimiento de una superficie sobre la cual las células encargadas del proceso de reparación o cicatrización podrán establecerse.

Es interesante reconocer que algunos de los factores que actúan en la cascada de la coagulación intervienen también como activadores en otros sistemas; por ejemplo, el factor de Hageman activado (XIIa) participa en la cascada de las cininas transformando la pre-calicroína en calicroína, ésta a

su vez interviene en la producción de plasmina, la cual actúa como activador del mismo factor XII. (figura 4)

3. CASCADA DE LAS CININAS

El factor de Hageman activado causa la formación de cininas a partir del cininógeno, una reacción que está mediada por la calicreína. La más importante de las cininas es la bradiquinina. (figura 4)

La **bradiquinina** es una proteína que causa vasodilatación, extravasación de las proteínas plasmáticas y reducción del umbral del dolor. Realiza sus acciones a través de la unión con dos receptores, B1 y B2.

B1 se asocia principalmente con síndromes de dolor crónico, mientras que B2 está constitutivamente presente en los tejidos y se expresa en exceso en situaciones de dolor agudo, incluyendo dolor pulpar. Se ha demostrado que la bradiquinina puede actuar de forma sinérgica con neuropéptidos, trombina y otros factores para aumentar la producción de PGE₂ y citoquinas, como IL-1 y TNF α .

Como todos los sistemas tiene un sistema de regulación que en este caso es llevado a cabo por quininasas. Los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) también han demostrado reducir los niveles de bradiquinina.

INMUNIDAD ADQUIRIDA

El sistema de inmunidad adquirida, adaptativa o específica se compone de células (linfocitos T y B) y procesos sistémicos altamente especializados que eliminan o evitan las amenazas de patógenos. Consiste tanto en el reconocimiento de un elemento extraño (antígeno) como en su eliminación en un subsecuente encuentro, así como en la generación de la memoria inmunitaria y la tolerancia ante auto-antígenos (moléculas que son constituyentes normales de un individuo y contra las cuales éste desarrolla una respuesta inmune).

Los antígenos tienen dos propiedades: la inmunogenicidad (capacidad de inducir una respuesta por parte del sistema inmune) y antigenicidad (capacidad de interactuar con los productos de una respuesta inmune -anticuerpos o linfocitos T-).

El lugar específico de reconocimiento en el antígeno por anticuerpos se denomina determinante antigénico o epítipo, algunos antígenos principalmente los proteicos) pueden presentar más de un determinante antigénico, cada uno de los cuales puede interactuar con un anticuerpo distinto.

Algunas moléculas por su pequeña masa molecular no son antigénicas, para serlo deben ser acopladas a moléculas que lo sean; estas moléculas sin capacidad antigénica propia se denominan haptenos.

La respuesta inmune adaptativa es específica, activada por el sistema inmunitario innato y proporciona al sistema inmunitario la capacidad de reconocer y recordar patógenos específicos, generando inmunidad y ofreciendo respuestas más potentes cada vez que el patógeno es

reencontrado. Es una inmunidad adaptiva para que el sistema inmunitario del cuerpo esté preparado para amenazas futuras.

De acuerdo a las células inmunes involucradas en su reconocimiento podemos hablar de antígenos timo-dependientes y antígenos timo-independientes. Los antígenos timo-dependientes son aquellos que requieren colaboración de linfocitos T helper que producirán señales accesorias que actuarán en los linfocitos B vírgenes provocando un cambio en su receptor (BCR). Los antígenos timo-independientes son capaces de activar a los linfocitos B sin la ayuda de los T helper y solo estimulan la producción de anticuerpos de la clase IgM, siendo incapaces de inducir la formación de linfocitos B de memoria; tienen a su vez la capacidad de activar por la vía alterna al sistema de complemento e inducen la proliferación de linfocitos B (son mitógenos).

El sistema es altamente adaptable gracias a la hipermutación somática y una recombinación genética irreversible de segmentos de genes de los receptores de antígeno. Este mecanismo permite que un número reducido de genes produzca una inmensa cantidad de receptores de antígeno diferentes, que entonces son expresados de manera única a cada linfocito individual. Como la recombinación genética implica un cambio irreversible en el ADN de cada célula, toda la descendencia de esta célula heredará los genes que codifican la misma especificidad de receptores, incluyendo los linfocitos B de memoria y los linfocitos T de memoria, que son la clave de la inmunidad específica permanente.

A diferencia de las células fagocíticas que son capaces de responder a estímulos variados y de defendernos contra una variedad de microorganismos. Los linfocitos son células leucocitarias altamente específicas, cada linfocito presenta en su membrana un único tipo de

receptor específico el cual es capaz de interactuar solo con un antígeno, a esto se lo denomina repertorio de linfocitos. Este repertorio se genera por la existencia de tres familias de receptores que por recombinación genética le permitirían a los linfocitos reconocer a casi cualquier antígeno existente.

Estos receptores son las moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad, los receptores de los linfocitos B (BCR) y de los linfocitos T (TCR).

1. LINFOCITOS B, RECEPTORES E INMUNOGLOBULINAS

Los linfocitos B son responsables de la inmunidad humoral. Su función principal es la defensa del huésped contra gérmenes por medio de la producción y secreción de anticuerpos que reconocen moléculas antigénicas de los patógenos. También tienen otras funciones como la presentación de antígenos a los linfocitos T, la regulación negativa de la respuesta inflamatoria y la regulación de la respuesta frente a autoantígenos.

Se llaman así porque en la aves maduran en un órgano denominado bolsa de Fabricius, en los mamíferos no hay equivalente anatómico de la bolsa y las primeras etapas de maduración del linfocito B se producen en la médula ósea (bone marrow en inglés).

Las células B producen anticuerpos de distintos isotipos que se distribuyen y localizan en diferentes compartimentos de nuestro organismo y desencadenan funciones efectoras como la activación del complemento, respuestas celulares mediadas por receptores para anticuerpos, como la fagocitosis de microorganismos e inmunocomplejos y la exocitosis de mediadores y citotoxinas.

Su desarrollo tiene lugar en el saco vitelino, médula ósea e hígado fetales. Cuando el lactante tiene unos pocos meses de edad, sus células pre-B han terminado la primera fase de desarrollo llamándose entonces células B vírgenes. Una vez liberadas de la médula ósea, las células B vírgenes se acumulan en los ganglios linfáticos, el bazo, el timo y otras estructuras linfoides.

Son células pequeñas, de 6 a 8 μm de diámetro con un citoplasma apenas visible, el núcleo es redondo con la cromatina muy agregada lo que refleja que no hay transcripción del ADN.

Se distinguen tres subpoblaciones celulares denominadas linfocitos B foliculares, linfocitos B de la zona marginal y linfocitos B1, que presentan características estructurales y funcionales distintas, tienen distinta distribución anatómica y se generan a diferentes edades durante la ontogenia de los linfocitos B.

Los linfocitos foliculares residen en los folículos de los órganos linfáticos y circulan a través de ellos, generan anticuerpos de alta afinidad de tipo IgG, IgA e IgE para antígenos proteicos T dependientes. Dan origen a células plasmáticas de larga vida.

Los linfocitos B de la zona marginal se ubican en la zona periférica de la pulpa blanca del bazo, reaccionan ante lípidos y polisacáridos dando origen a células plasmáticas de vida corta productoras de IgM.

Los linfocitos B1 responden a antígenos no proteicos de mucosas y cavidad peritoneal, sus receptores tienen una diversidad limitada y producen células plasmáticas de vida corta que generan IgM. Estos han sido recientemente subdivididos en dos subgrupos en base a la presencia o ausencia de un marcador de superficie (CD5) que los divide en B1a

(CD5+) y B1b (CD5-). Las células B1a producen anticuerpos naturales, predominantemente IgM, especialmente en sujetos que aún no han sido expuestos a antígenos; mientras que los B1b son la fuente principal de la respuesta inmune adaptativa a largo plazo en respuesta a polisacáridos y antígenos T-independientes durante la infección, produciendo IgM y otros isotipos de inmunoglobulinas.

La capacidad de los linfocitos B para llevar a cabo una respuesta humoral efectiva radica en la posibilidad de reconocer los diferentes antígenos a los que el huésped pueda exponerse. Durante su desarrollo los linfocitos B adquieren en sus membranas un receptor con la capacidad de reconocer epítomos en moléculas microbianas, este receptor es el denominado BCR (B cell receptor).

Cada receptor está constituido por una molécula de inmunoglobulina no secretable (inmunoglobulina de superficie), capaz de reconocer el antígeno.

La estructura del BCR incluye dos subunidades estructural y funcionalmente distintas y no covalentemente unidas entre sí.

La primera subunidad corresponde a una inmunoglobulina de membrana, que actúa como receptor propio de cada linfocito y es responsable del reconocimiento específico del antígeno.

La segunda subunidad, es un heterodímero denominado complejo accesorio Ig- α /Ig- β , constante en todos los linfocitos B y responsable de la expresión del receptor en la membrana y de la transducción de señales de activación luego del encuentro del linfocito B con el antígeno. Cada complejo accesorio se compone de dos heterodímeros Ig- α /Ig- β uno a cada lado de la IgM unidos por puentes disulfuro, en su extremo intracelular el complejo tiene un dominio de activación basado en tirosina

conocido como ITAM (Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif), cuya activación permitirá la fosforilación de una serie de tirosinas que reclutan moléculas de transmisión de señales, el resultado neto será la expresión de genes cuyos productos proteicos están implicados en la proliferación y diferenciación del linfocito B (figura 15)

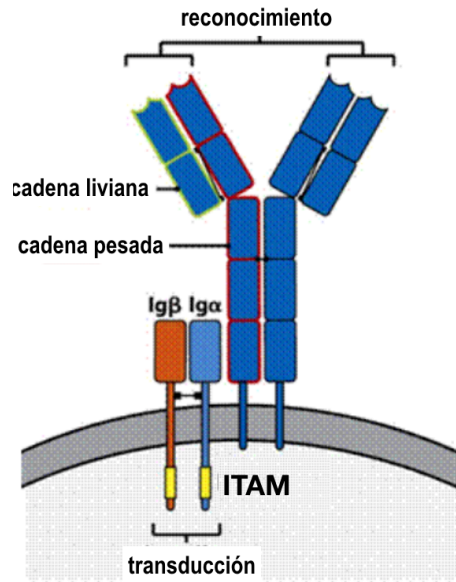


Figura 15 : Estructura BCR (http://mol-biol4masters.masters.grkraj.org/html/Cell_And_Molecular_Immunology5-T_And_B_Cells_Activation_And_Immunity.htm)

La activación de los linfocitos B ocurrirá al encontrar alguno de sus antígenos específicos, es decir uno cuyos epítopos encajen con los puntos de reconocimiento de ligandos del BCR.

Esta unión antígeno-BCR activará el linfocito B desencadenando una rápida serie de divisiones mitóticas denominada expansión clonal. Así un solo linfocito B puede originar un gran número de clones o células idénticas; algunas de estas células se diferenciarán pasando a ser células plasmáticas que sintetizan y excretan gran cantidad de anticuerpos.

Otras, permanecen en el tejido linfático sin diferenciarse constituyendo las llamadas células B de memoria, cuya misión será permanecer como reserva por si en otra ocasión vuelven a enfrentarse al antígeno que desencadenó su formación, en ese caso volverán a producir células plasmáticas.

Todas las inmunoglobulinas, tanto de membrana como de secreción, tienen una estructura básica general constituida por 4 cadenas polipeptídicas (dos pesadas y dos livianas) unidas por puentes disulfuro, con un extremo amino-terminal capaz de unirse específicamente a un antígeno y otro carboxi-terminal responsable de activar los mecanismos efectoros de respuesta inmune o de anclarse a la membrana del linfocito B. (figura 16)

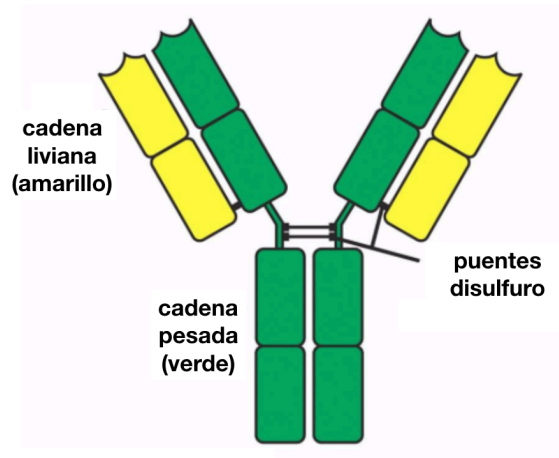


Figura 16 : Estructura Ig (<https://www.memorangapp.com/flashcards/83973/Immunoglobulins/>)

La cadena liviana presenta una región variable V_L y una región constante C_L ; hay dos tipos de cadenas livianas denominadas κ y λ que difieren en su región C y cada linfocito B expresará una de ellas pero nunca ambas.

La cadena pesada también presenta una región variable V_H amino-terminal y una región constante C_H carboxi-terminal cuya extensión varía de acuerdo al isotipo de inmunoglobulina. Toda la cadena liviana junto con el dominio variable de la cadena pesada y el primer dominio constante de la cadena pesada constituyen lo que se denomina región FAB (fragment antigen binding) ésta es la porción de la Ig responsable de reconocer y unirse al antígeno, el resto de la cadena pesada se denomina región Fc (fragment cristalling o fragmento cristalino) que es la responsable de la actividad biológica y las funciones efectoras en los anticuerpos y de anclaje a la membrana citoplasmática en las Ig de membrana. El linfocito B maduro expresa en su membrana IgM e IgD. (figura 17)

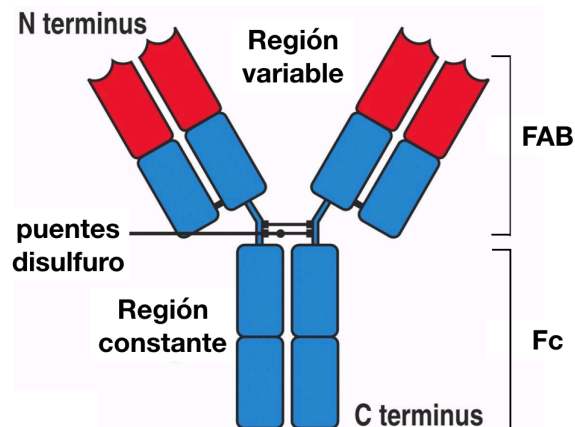


Figura 17 : Estructura Ig (<https://www.memorangapp.com/flashcards/83973/Immunoglobulins/>)

Los distintos isotipos de inmunoglobulinas (M, D, G, A y E) dependen de variaciones estructurales en la región constante carboxi-terminal de la cadena pesada, así se determina la existencia de 5 clases de cadena pesada, denominadas μ , δ , γ , α y ϵ .

En líneas generales podríamos dividir la respuesta de los linfocitos en dos grandes grupos de acuerdo a la naturaleza del antígeno. Los antígenos proteicos desencadenarán una respuesta humoral que requiere la colaboración de los linfocitos T helper. Los antígenos no proteicos (lípidos, hidratos de carbono) darán origen a una respuesta humoral T independiente.

La respuesta efectora T independiente se basa en la capacidad del linfocito B, a través del BCR, de reconocer lípidos y polisacáridos de los componentes bacterianos. La unión de estas moléculas no proteicas con el BCR induce la diferenciación del linfocito B en células plasmáticas de vida media corta que producirán anticuerpos de tipo IgM, esta función puede ser llevada a cabo por los linfocitos B de la zona marginal y los linfocitos B1.

La respuesta ante antígenos proteicos varía en que el linfocito B virgen que ha reconocido este antígeno requerirá de una señal coestimuladora proveniente de los linfocitos T helper que darán lugar a: 1) una respuesta primaria caracterizada por la diferenciación a células plasmáticas secretoras de IgM; 2) una recombinación genética que cambiará la región constante de la cadena pesada μ de los linfocitos B vírgenes originales, por una región constante distinta (cadena pesada γ , α o ϵ) que producirá un cambio de isotipo de Ig a IgA, IgG o IgE, transformándolas en células de memoria de vida larga.

Las señales de coestimulación de los linfocitos T helper se encuentran en su membrana (CD40L) que se une al CD40 del linfocito B y otras son secretadas (IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, $\text{IFN}\gamma$, $\text{TGF}\beta$). El $\text{IFN}\gamma$ inducirá el cambio

isotópico del linfocito B de memoria hacia IgG; la IL-4 lo hará hacia la IgE y el TGF β lo hará hacia la IgA.

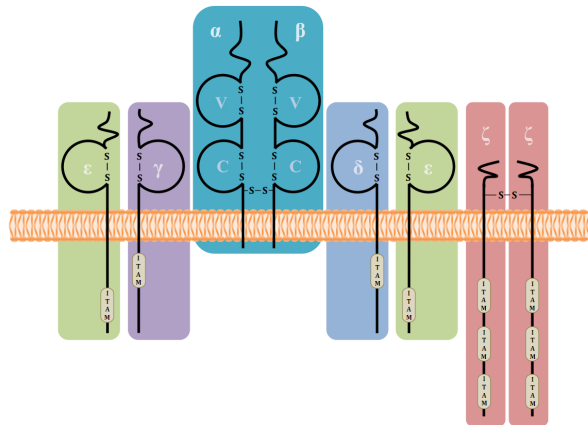
Por otro lado los linfocitos B presentan en su membrana el co-receptor CD21 que es el que reconoce el C3d (generado, como fue descrito, por la digestión de C3 al activarse el sistema de complemento) unido covalentemente al antígeno, de esta manera el CD21 integra la respuesta inmune específica y la respuesta inmune innata.

2. LINFOCITOS T

Así como el linfocito B reconoce al antígeno a través del receptor BCR, el linfocito T lo hará a través del receptor TCR que permitirá reconocer antígenos proteicos unidos a moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC) o antígenos glicolipídicos unidos a moléculas CD1.

Podemos distinguir dos subpoblaciones de linfocitos T, los linfocitos T $\alpha\beta$ y los linfocitos T $\gamma\delta$.

En el receptor de un linfocito T (TCR) se describen dos subunidades estructural y funcionalmente distintas: una responsable del reconocimiento del antígeno (T $\alpha\beta$ o T $\gamma\delta$) y otra responsable del transporte y expresión del TCR en la membrana y de la transducción de señales de activación cuando el receptor se une específicamente a su antígeno, el complejo accesorio CD3. (figura 18)



Entre los linfocitos $T\alpha\beta$ se reconocen tres subpoblaciones diferentes: linfocitos T helper ($CD4+$), linfocitos T citotóxicos ($CD8+$) y linfocitos T NK (natural killer). (figura 19)

Del 90 al 95% de los linfocitos T expresan el receptor $T\alpha\beta$, constituido por las glucoproteínas α y β covalentemente unidas entre sí por enlaces disulfuro y no covalentemente unidas al complejo accesorio CD3.

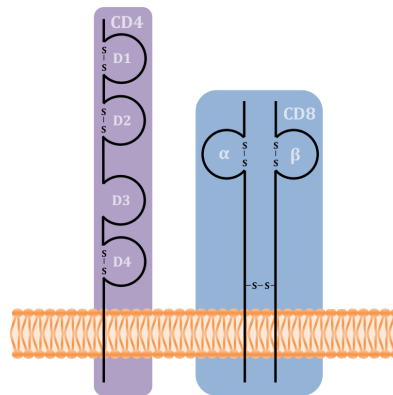


Figura 19 Estructura correceptores linfocitos T (cours-pharmacie.com)

Los linfocitos $T\gamma\delta$ constituyen entre el 5 y el 10 % de los linfocitos T presentes en sangre periférica, bazo y ganglios pero hasta el 50% de los linfocitos intraepiteliales en piel y mucosas. En ambos casos, el receptor presentará una región variable amino-terminal, un dominio constante carboxi-terminal, una región transmembrana hidrofóbica y un dominio citoplasmático carboxi-terminal.

Los receptores TCR que presentan cadenas $\alpha\beta$ se denominan TCR2 mientras que los que presentan cadenas $\gamma\delta$ se denominan TCR1.

El complejo CD3 está constituido por cinco proteínas denominadas γ , δ , ϵ , ζ y η . Las proteínas del complejo CD3 se asocian entre sí de manera tal que se forman tres dímeros distintos, dos de los cuales corresponden a los heterodímeros $\gamma\delta$ y $\delta\epsilon$. En aproximadamente el 90% de los linfocitos T, el tercer dímero corresponde al homodímero $\zeta\zeta$ y solo el 10 % de los linfocitos T periféricos expresan el heterodímero $\zeta\eta$.

Linfocitos T citotóxicos $T\alpha\beta$ reconocen antígenos MHC clase I-restringidos y son primariamente responsables de la eliminación de células infectadas con virus o bacterias intracelulares.

Para la mayoría de las células, los antígenos MHC clase I-restringidos, derivan de proteínas sintetizadas en el citoplasma de la misma célula. Sin embargo, existe una subpoblación de células presentadoras (particularmente células dendríticas) que pueden capturar antígenos exógenos tejido específicos en la periferia y presentarlos, asociados a moléculas MHC de clase I, a linfocitos T citotóxicos en los ganglios linfáticos, mediante un mecanismo de presentación cruzada (“cross-priming”). Las células dendríticas son células de origen medular que están

normalmente presentes en un estado inmaduro en epitelios y tejidos periféricos.

En respuesta a un estímulo inflamatorio por productos bacterianos o por citoquinas proinflamatorias, las células dendríticas inmaduras capturan material antigénico en la periferia (microorganismos, células apoptóticas y detritus celulares) e inician su diferenciación en células maduras las cuales se movilizan hacia los órganos linfoides secundarios donde culminan su diferenciación expresando altos niveles de moléculas MHC y ligandos coestimuladores que las convierten en células maduras extraordinariamente eficientes en la presentación de antígenos a linfocitos T vírgenes.

Como consecuencia de su estimulación los linfocitos T proliferan por expansión clonal y se diferencian en células efectoras que expresan receptores que les permiten luego migrar a las áreas de linfocitos B del órgano linfoides secundario o hacia los sitios de inflamación en los tejidos periféricos.

Aún cuando la mayoría de los linfocitos T efectoras son de corta vida media, unos pocos sobreviven durante varios años como linfocitos T de memoria que pueden separarse en dos subpoblaciones de acuerdo a sus habilidades migratorias: a) las llamadas células efectoras de memoria (T_{EM}), que migran a los tejidos periféricos y b) las denominadas células T de memoria central (T_{CM}), que permanecen en circulación. Esta última subpoblación expresa receptores de “homing” similares a los de linfocitos T vírgenes que les permite migrar preferentemente a los órganos linfoides secundarios donde, luego de una re-estimulación con el antígeno,

inducirán el desarrollo de una respuesta inmune secundaria y la generación de nuevos linfocitos T de memoria.

Durante la maduración en el timo de los linfocitos T se da un fenómeno denominado “educación tímica” que permite que durante la diferenciación en este órgano linfoide primario, precursores linfocitarios T sean positivamente seleccionados en función de su capacidad para reconocer antígenos asociados a moléculas de presentación antigénica en la membrana de células del epitelio tímico, así se diferenciarán en linfocitos $T\alpha\beta$ con restricción MHC y linfocitos $T\alpha\beta$ asociados con moléculas CD1.

La mayoría de los linfocitos periféricos $T\alpha\beta$, son linfocitos MHC restringidos, éstos a su vez pueden presentar dos tipos de correceptores y de acuerdo a éste serán específicos para el reconocimiento de moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad I o II. Los que expresan el correceptor CD4 serán capaces de reconocer fragmentos peptídicos asociados a moléculas MHC de clase II (linfocitos $T\alpha\beta$ CD4+) expresando funciones de colaboración (helper) por medio de citoquinas que activan macrófagos o linfocitos B desempeñando un papel importante en la inmunidad protectora contra bacterias y protozoos. Se han descrito dos grupos de linfocitos T CD4+, los T helper 1 que se diferencian en presencia de IL-12 y amplificado por $INF\gamma$ y los T helper 2 que se diferencian en presencia de IL-4.

Las infecciones por bacterias intracelulares, virus y algunos parásitos estimulan a los macrófagos a secretar IL-12, responsable de la diferenciación de linfocitos T CD4+ en linfocitos T helper 1, éstos secretan $INF\gamma$, TNF e IL-2; el $INF\gamma$ activa el macrófago incrementando la secreción de IL-12 potenciando la fagocitosis y la eliminación de los microorganismos,

también estimula a los linfocitos B a producir IgG la cual actúa como opsonina haciendo más eficiente la fagocitosis.

Los alérgenos y los helmintos inducen la secreción de IL-4 que estimula la diferenciación de los linfocitos T CD4+ hacia linfocitos T helper 2, los que secretan IL-5 que induce la maduración y la migración de eosinófilos e IL-4 y 13 que induce un cambio isotípico de los linfocitos B hacia Ig de tipo E, ambas respuestas efectoras orientadas a controlar las reacciones alérgicas y las infecciones por helmintos.

Las IL-4 y 13 activan por la vía alternativa a los macrófagos induciendo en ellos una respuesta no orientada con sus funciones microbicidas clásicas sino más bien relacionadas a la reparación tisular, esto se debe a una inducción sobre el macrófago para la secreción de factores de crecimiento que actúan sobre los fibroblastos que aumentarán la secreción de colágeno y la fibrosis.

Más recientemente se ha descrito una nueva subpoblación de linfocitos T helper, el T helper 17 que se diferencia por estimulación mediada por IL-23 y su respuesta efectora se caracteriza por la secreción de IL-17 que gatilla efectos pro-inflamatorios tisulares y el reclutamiento de los neutrófilos. Además de la inflamación, una de las principales reacciones de la inmunidad innata, los linfocitos T helper 17 estimulan la producción de defensinas (sustancias antimicrobianas) y ayudan a mantener la integridad funcional de las barreras epiteliales; estas reacciones son fundamentales para la defensa contra infecciones micóticas y bacterianas.

Los linfocitos T $\alpha\beta$ MHC restringidos que expresen el correceptor CD8 solo reconocerán fragmentos peptídicos asociados a moléculas MHC de clase

I (linfocitos $T_{\alpha\beta}$ CD8+) actuando primariamente como células citotóxicas fundamentales en la respuesta inmune contra infecciones virales.

La unión de moléculas MHC clase I con el correceptor CD8 y el TCR estará estabilizada por moléculas de adherencia como las integrinas (LFA1 -Lymphocyte function-associated antigen o Antígeno asociado a Función Linfocitaria- en la molécula del linfocito e ICAM1 -Intercellular Adhesion Molecule o Molécula de Adhesión Intercelular- en la membrana de la célula infectada) formando un complejo denominado sinapsis inmunitaria. (figura 20)

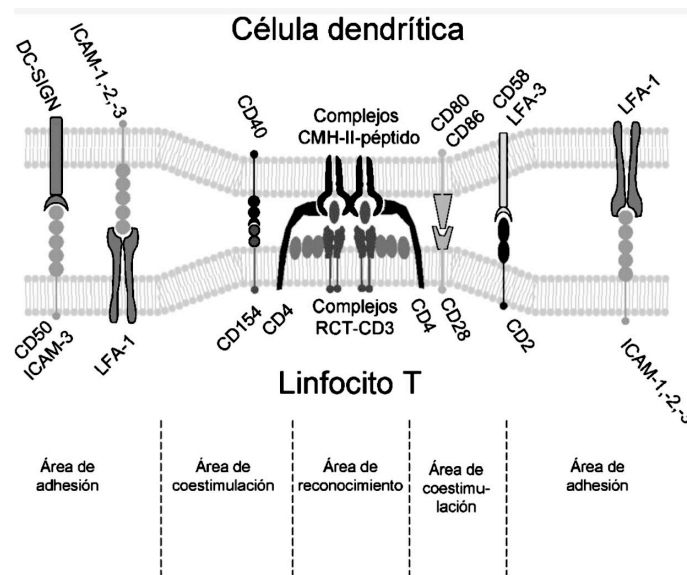


Figura 20 : Estructura molecular de la sinapsis inmunitaria (https://www.researchgate.net/publication/289165033_Intracellular_co-stimulation_pathways_Abatacept_a_new_mechanism_of_action)

De esta manera el reconocimiento del antígeno por el linfocito T dará lugar a la activación de vías de transducción de la señal que conduce a la exocitosis del contenido de los gránulos de los linfocitos T.

Las proteínas granulares fundamentales en la función efectora de los linfocitos T CD8+ son las **perforinas** que rompen la integridad de la membrana plasmática y de las membranas endosómicas de la célula infectada y las **granzimas** que penetran por acción de ésta induciendo la apoptosis.

La respuesta inmune contra bacterias intracelulares involucra la participación de linfocitos T $\alpha\beta$ MHC-I restringidos, linfocitos T $\alpha\beta$ MHC II restringidos, linfocitos T $\gamma\delta$ y linfocitos T $\alpha\beta$ y T $\gamma\delta$ restringidos por moléculas CD1.

Cuando un microorganismo infecta un macrófago éste puede ser secuestrado en un fagosoma (vesícula) o bien puede escapar hacia el citoplasma; los linfocitos T CD4+ reconocen a los antígenos incluidos en un fagosoma activando al macrófago para que los elimine, si el microorganismo se encuentra libre en el citoplasma los linfocitos T CD8+ reconocen a la célula infectada desencadenando su apoptosis.

Las células TNK corresponden a una subpoblación heterogénea de linfocitos T $\alpha\beta$, que presentan marcadores propios de las células NK (natural killer) e incluye células TNK CD4+, células TNK CD8+ y células TNK DN (doble negativo: CD4- CD8-) que presentan distinta distribución tisular (timo, hígado, bazo, ganglios linfáticos y médula ósea).

Entre la población de células TNK es posible encontrar células CD1-restringidas y células MHC-restringidas (estas últimas expresan TCR de

mayor diversidad), que tienen la capacidad de secretar diferentes citoquinas (IL-4, IFN γ , TNF), dependiendo del microambiente tisular.

Las células TNK tienen también la habilidad de responder no solo a ligandos específicos derivados de agentes patógenos sino también a ligandos lipídicos autólogos derivados de células tumorales y parecen desempeñar un rol importante en la regulación de la respuesta inmune a células tumorales y agentes patógenos y en el mantenimiento de la tolerancia a lo propio.

Los linfocitos T, aparte del receptor TCR y de los correceptores CD4 y/o CD8, expresan otros receptores de membrana que, aunque no reconocen antígenos, resultan fundamentales en la transducción de señales accesorias de activación celular (moléculas accesorias), en la estabilización de la interacción linfocitoT-célula presentadora de antígeno (CPA), o en el reclutamiento, recirculación y “homing” linfocitario (moléculas de adhesión).

Las señales adicionales requeridas para la activación de linfocitos T, son fundamentalmente proporcionadas por moléculas coestimuladoras expresadas en la membrana de células vecinas o de células presentadoras de antígeno y por mediadores solubles como citoquinas. Además, moléculas como ICOS (Inducible costimulator), citoquinas (IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-12, TNF) y diversas moléculas de adhesión (integrinas β 1 y β 2, selectinas), también proporcionan señales secundarias o terciarias que facilitan o promueven la activación y/o diferenciación de distintas subpoblaciones de linfocitos T.

3. COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD (MHC)

El MHC está constituido por un conjunto de genes que controlan la expresión de moléculas que desempeñan un papel fundamental en el procesamiento y presentación de antígenos a los linfocitos T y en la regulación de las interacciones celulares que caracterizan la respuesta inmune.

En 1916, Little y Tyzzer realizaron trasplantes de tumores entre diferentes cepas de ratones y encontraron que los tumores podían trasplantarse entre algunas cepas de ratones, pero eran rechazados entre otras. En 1927, Bover descubrió que los trasplantes de tejido no se rechazaban si el donante y los receptores eran gemelos idénticos. Estas observaciones indicaron que la compatibilidad del tejido entre un donante y el receptor o histocompatibilidad está controlada genéticamente. En 1933, Haldane sugirió que una respuesta inmunitaria que conducía al rechazo de tumores trasplantados se dirigía contra antígenos celulares normales que pertenecían a una cepa diferente en lugar de contra algunos antígenos exclusivos de los tumores.

Peter Gorer en el ratón (1936) definió, inicialmente, cuatro antígenos eritrocitarios denominados antígenos I, II, III y IV; más tarde demostró que el denominado antígeno II se expresaba también en diversos tejidos y jugaba un papel decisivo en la susceptibilidad o resistencia al trasplante de tumores y en la aceptación o rechazo del trasplante de tejidos entre distintas cepas cosanguíneas o endogámicas de ratón.

Durante la década de 1940, Medawar y sus colegas demostraron que el rechazo del injerto de tejido en conejos se debía a una respuesta inmune que atacaba al injerto de tejido extraño. Unos años más tarde, Snell y sus

colegas desarrollaron sistemáticamente diferentes cepas de ratones de laboratorio que eran casi idénticas genéticamente, excepto en una sola región genética (cepas congénicas) que controlaba el rechazo del tejido extraño.

Estas investigaciones le permitieron plantear que el rechazo de tejidos por el ratón era debido a incompatibilidad en algunos antígenos. Snell llamó a los genes que controlaban el rechazo de tejidos "genes de histocompatibilidad (genes H)" y designó a los genes y antígenos responsables de la compatibilidad tisular como genes y antígenos de histocompatibilidad, respectivamente.

En 1952, Jean Dusset planteó la hipótesis de que un sistema de histocompatibilidad similar al de los glóbulos rojos debía estar presente en los glóbulos blancos. Logró demostrarlo con la aglutinación de leucocitos en el suero de un paciente politransfundido. Su trabajo al respecto le valió el Premio Nobel en 1958 y fue realizado a partir de anticuerpos leucoaglutinantes encontrados en el suero de pacientes politransfundidos y de madres multíparas, que reaccionaban con los leucocitos presentes en los productos sanguíneos transfundidos lo que dio el nombre al sistema.

La primera identificación concreta de un producto del MHC, fue hecha en el año 1958, mediante el estudio de suero reactivo. Se identificó el antígeno MAC, correspondiente al actual HLA-A2. En los años 60, el polimorfismo fue confirmado con el trabajo de Jon van Rod, Rose Payne y Walter Bodmer, quienes describieron los antígenos 4a y 4b (Bw4 y Bw6) y los HLA-A2 y HLA-A3 en un estudio de mujeres multíparas.

En el año 1964, se inició un esfuerzo internacional para la caracterización del complejo, denominado **Taller Internacional de Histocompatibilidad**

(IHW, acrónimo del inglés *International Histocompatibility Workshop*). Se definió entonces el área del cromosoma 6 donde se codifican los HLA A, B y C, que por entonces se creía que solo era expresado por leucocitos (por eso el nombre **HLA**: *human leucocytic antigen*); también se mapeó el sistema del complemento como proveniente de la misma zona. En los años setenta, se identificaron los HLA de clase II y luego, con los avances de la biología molecular, la investigación se centró a nivel de genes más que en sus productos.

En el año 1967 se empleo por primera vez el término haplotipo en relación con el MHC. En el año 1969, Baruj Benacerraf demostró que el MHC no solo era el causante de la aloreactividad, sino que permitía activar la respuesta inmune en contra de un antígeno en particular. Este descubrimiento le significó obtener el premio Nobel de medicina en 1980.

En 1987, Bjorkman describió la estructura del HLA-A2 y también de las moléculas de clase II. El año 1999 se logró definir la secuencia de nucleótidos del MHC, mediante los esfuerzos combinados del Consorcio de Secuenciación del MHC bajo la dirección de Stephen Beck, Daniel Geraghty, Hidetoshi Inoko y Lee Rowen.

Entre los años 1980 y 2000 el conocimiento de los alelos presentes en el MHC pasó de unas pocas decenas, con varios millones de posibles combinaciones alotípicas, a alrededor de 15000 alelos. La región HLA-B se convirtió en la región genética más polimórfica del genoma humano, seguida de la región del HLA-A. La región de genes MHC contiene una densidad y diversidad de genes extremadamente alta; la variación genética dentro de esta región juega un papel vital en la susceptibilidad a las enfermedades autoinmunes, infecciosas y otras enfermedades.

Finalmente, se demostró que la función biológica real de estas moléculas era la de actuar como presentadoras de antígenos a los linfocitos T. En el caso de reconocimiento directo, estos antígenos son reconocidos directamente por el receptor por las células T y en el reconocimiento indirecto cuando la presentación de péptidos antigénicos derivados de estas moléculas ocurre por las células presentadoras autólogas. Este último mecanismo es el que está involucrado en el reconocimiento de cualquier otro antígeno ya sea derivado de proteínas virales, bacterianas u otra molécula polimórfica.

Los genes del MHC se han separado en tres clases distintas: I, II y III. Los genes de clase I y de clase II codifican la expresión de proteínas integrales de membrana que participan en la discriminación entre lo propio y lo ajeno, al actuar como elementos de restricción en la presentación de antígenos a linfocitos T.

Los genes de clase I se encuentran en la membrana de casi todas las células del organismo con excepción de los eritrocitos. Las moléculas sintetizadas por estos genes constan de una cadena α asociada de forma no covalente a una proteína llamada β_2 microglobulina que constituye la cadena liviana de la molécula de clase I. La cadena α posee dos dominios de unión al péptido aminoterminales α_1 y α_2 que forman una hendidura o un surco; un dominio tipo Ig α_3 , una región transmembrana y una cola citoplasmática. El suelo o piso de la hendidura es la región que liga a los péptidos de los microorganismos para presentárselos a los linfocitos T, mientras que los laterales y las porciones superiores son las que entran en

contacto con el TCR. El dominio $\alpha 3$ es invariable y contiene la zona de unión para el correceptor CD8.

Los genes de clase II controlan la expresión de moléculas de clase II, involucradas en la presentación de fragmentos peptídicos a los linfocitos T CD4+. Se expresan en forma constitutiva en células como linfocitos B, monocitos, macrófagos, células de Langerhans, células dendríticas y, en general en células presentadoras de antígeno (CPA). Bajo el estímulo de $IFN\gamma$ las células endoteliales, epiteliales y estromales expresan moléculas MHC de clase II aunque no las expresan de forma constitutiva.

La molécula de la clase II del MHC presenta dos cadenas α y β con cuatro dominios: el de unión al péptidos constituido por $\alpha 1$ y $\beta 1$ el tipo Ig $\alpha 2$ y $\beta 2$, las regiones transmembrana y las colas citoplasmáticas que a diferencia de las moléculas de clase I son dobles. El dominio $\beta 2$ es el sitio de unión para el correceptor CD4 del linfocito T. (figura 21)

Los genes de clase III también codifican la expresión de proteínas plasmáticas que cumplen una función completamente distinta a las moléculas de clase I y II, puesto que codifican la expresión de proteínas como C2, C4 y factor B (Bf) que forman parte de la cascada de activación del sistema del complemento. También están los que codifican el Factor de Necrosis Tumoral alfa ($TNF\alpha$), Linfotoxina A, B y C y aquellos que codifican la expresión de proteínas de choque térmico.

No todos los genes ligados en el Complejo Mayor de Histocompatibilidad pueden clasificarse como genes de clase I, II ó III.

Las moléculas CD1 son glucoproteínas transmembrana con una semejanza estructural con las moléculas MHC clase I, con las cuales comparten una limitada pero significativa homología de secuencia. Estas moléculas son

codificadas por genes fuera del MHC y tienen un bajo polimorfismo. Los miembros de la familia CD1 se dividen en dos grupos, sobre la base de sus secuencias aminoacídicas. Las moléculas CD1 son fundamentalmente expresadas en timocitos inmaduros y células presentadoras de antígeno, incluyendo células dendríticas, macrófagos activados por citoquinas y linfocitos B.

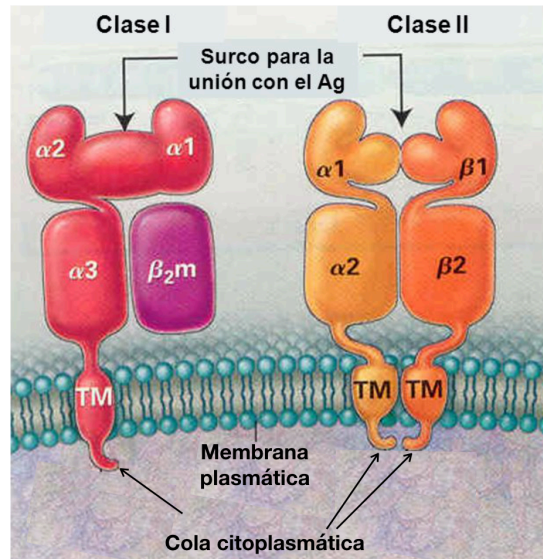


Figura 21 : Estructura moléculas clase I y clase II (<https://slideplayer.com.br/slide/4784679/>)

Esto es un indicio de la participación de estas moléculas en la presentación antigénica, pero a diferencia de las moléculas convencionales, ellas participan en la presentación de lípidos y glicolípidos a linfocitos CD4+, CD8+ y dobles negativos (DN).

4. RECONOCIMIENTO PROCESAMIENTO y PRESENTACIÓN ANTIGENICA

El sistema inmune es parte de los mecanismos biológicos destinados a mantener la integridad estructural y funcional de los individuos y está genéticamente programado para defendernos de la agresión de agentes infecciosos, células y moléculas extrañas.

Está constituido por células con capacidad para reconocer y neutralizar o eliminar moléculas extrañas (linfocitos B, linfocitos T y células NK) y por células accesorias que cumplen una importante función en el procesamiento y presentación de antígenos (monocitos, macrófagos, células dendríticas, etc.).

Los linfocitos B pueden reconocer epítomos en antígenos de naturaleza química tan variada como proteínas, hidratos de carbono, lípidos y ácidos nucleicos. Los linfocitos T en cambio, reconocen fundamentalmente antígenos proteicos y, solo en forma de pequeños fragmentos peptídicos presentados en asociación con una molécula del Complejo Mayor de Histocompatibilidad, en la superficie de una célula presentadora de antígenos.

Los linfocitos T tanto citotóxicos como supresores reconocen fragmentos peptídicos asociados o presentados por moléculas MHC clase I, mientras los linfocitos T "helper", reconocen fragmentos peptídicos asociados a moléculas MHC clase II. Esta especificidad en el reconocimiento de péptidos asociados a una clase particular de molécula MHC está determinado por las moléculas CD4 y CD8, que actúan como co-receptor para el reconocimiento de la molécula MHC. Así, la molécula CD8 solo se

une con la molécula de clase I, la molécula CD4 en cambio, solo se une con la molécula MHC clase II.

El reconocimiento antigénico asociado a moléculas MHC clase I resulta en la destrucción citotóxica de la célula presentadora o célula blanco, mientras el reconocimiento de antígenos en el contexto de moléculas MHC clase II conduce a la activación y proliferación de distintas subpoblaciones de células T "helper", con síntesis y secreción de una combinación particular de citoquinas que promueven una amplificación de la respuesta inmune humoral o celular, al activar linfocitos B y/o macrófagos y diversas células inflamatorias.

La respuesta inmune humoral y celular es regulada por subpoblaciones distintas de células T "helper". Así, los linfocitos T helper 1 (Th1) participan en la regulación de la respuesta inmune celular (reacciones inflamatorias, de hipersensibilidad retardada y citotóxicas) y se caracterizan por la síntesis y secreción de IL-2, IL-12, IFN γ y TNF β . Los linfocitos T helper 2 (Th2) en cambio, regulan la respuesta inmune humoral mediada por anticuerpos y se caracterizan por la síntesis y secreción de IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10.

Los linfocitos T $\gamma\delta$ se encuentran predominantemente en tejidos epiteliales, tienen una diversidad restringida y forman parte de las respuestas innatas a patógenos intracelulares y a tumores. Estos linfocitos no requieren de las moléculas clásicas presentadoras de antígenos ni tampoco utilizan las vías clásicas de reconocimiento antigénico. Sin embargo, esta subpoblación de linfocitos T si reconoce los antígenos no clásicos de clase I, que se expresan principalmente en células tumorales de origen epitelial que han sido sometidas a stress.

Las células NK están directamente involucradas en la respuesta inmune en contra de virus, parásitos, bacterias intracelulares y tumores. También contribuyen directamente a la eliminación de células alogénicas y, mediante la secreción de citoquinas, participan en la regulación de otras funciones inmunológicas, como la producción de anticuerpos y la hematopoyesis. Las células NK presentan en su membrana una gran variedad de receptores, algunos funcionan en forma independiente de la expresión de moléculas de MHC, mientras que otros dependen de la expresión de las moléculas clásicas y no clásicas de MHC clase I.

La posibilidad que linfocitos T puedan reconocer péptidos antigénicos, está en gran parte determinada por las características de las células presentadoras de antígeno: monocitos, macrófagos, células dendríticas, linfocitos B, etc. De éstas, las células dendríticas (CD), son sin duda las más importantes debido a su capacidad para activar linfocitos T "naive". Las CD forman parte de un grupo heterogéneo de células que se encuentran en los órganos linfoides secundarios y en la periferia, en distintos estadios de diferenciación y maduración. En los tejidos periféricos, las CD inmaduras tienen un grado moderado de síntesis y expresión de moléculas MHC de clase II y una gran capacidad fagocítica. Luego de su reclutamiento y activación, ya sea por citoquinas u otros estímulos capaces de señalar la presencia de patógenos o de daño tisular, se produce un aumento pasajero en la síntesis de moléculas MHC de clase II, seguido de una disminución de la capacidad fagocítica, luego de la captura o incorporación de antígenos. Estas CD inmaduras, migran luego a los órganos linfoides secundarios, donde completan su proceso de maduración para el adecuado procesamiento y presentación de antígenos a linfocitos T.

Los antígenos intracelulares y extracelulares constituyen desafíos distintos para el sistema inmune puesto que los fragmentos peptídicos derivados de antígenos intracelulares o endógenos son normalmente unidos a moléculas MHC clase I y presentados a linfocitos T CD8+, mientras los antígenos extracelulares o exógenos se unen a moléculas MHC clase II y son normalmente presentados a linfocitos T CD4+. La asociación de fragmentos peptídicos a moléculas MHC clase I o clase II es entonces función de la ruta de introducción del antígeno a la célula y de su susceptibilidad al procesamiento o degradación en distintos compartimientos celulares.

REGULACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE

La respuesta inmune frente a agentes infecciosos es siempre iniciada por células de la inmunidad innata, en particular macrófagos y células dendríticas, estas células presentan diversos receptores que a diferencia de los receptores que participan de la respuesta específica no reconocerán un gran número de epítopos sino más bien algunas moléculas DAMP (Damage Associated Molecular Patterns), PAMP (Pathogen Associated Molecular Patterns) Y ACAMP (Apoptotic Cell Associated Molecular Patterns); los receptores para estas moléculas son DRR, PRR y ARR respectivamente.

La unión de estas moléculas con su receptores correspondientes inducirá la síntesis y secreción de distintas citoquinas de alarma (IL-1, IL-6, TNF). Estas citoquinas además de su efecto proinflamatorio estimularán la liberación de diversos neurotransmisores por distintos circuitos neuronales.

Estas citoquinas de alarma son proinflamatorias y desencadenarán la respuesta inflamatoria, si ésta no es regulada podría eventualmente llegar a dañar los tejidos del huésped. La regulación de la respuesta inmunológica específica depende de dos grandes mecanismos: inmunológicos y no inmunológicos.

Dentro de los no inmunológicos, las catecolaminas (acetilcolina y noradrenalina/adrenalina), han sido implicadas en la regulación, tanto de la inmunidad innata como de la inmunidad adquirida, al modular la eficiencia de la presentación antigénica por células dendríticas, la expansión y diferenciación de linfocitos, la migración y tráfico de las células inmuno-competentes, la supresión de la respuesta inmune celular y la estimulación de la respuesta inmune humoral.

Por otro lado, la liberación de glucocorticoides por la corteza suprarrenal por activación de la vía hipotalámica-pituitaria-suprarrenal es responsable de diferentes efectos inmunoreguladores, por ejemplo suprimen la adhesión, la quimotaxis, la proliferación, la producción de citoquinas, la citotoxicidad de monocitos macrófagos, neutrófilos y linfocitos; a la vez que estimulan los ciclos apoptóticos de macrófagos, monocitos, linfocitos T y linfocitos B.

Dentro de los mecanismos inmunológicos podemos considerar varios factores: la naturaleza, la dosis y la vía de administración de los antígenos y la regulación propia por los anticuerpos.

INMUNOLOGIA ENDODONTICA

El tejido pulpar es un tejido inmuno-competente, es decir, que tiene la capacidad de reaccionar y defenderse ante las agresiones a las que puede quedar expuesto. La respuesta defensiva comienza desde los estadios iniciales de la lesión de caries y desencadenará una respuesta, que es idéntica a la que ocurre en el resto del organismo, con dos características particulares que hacen del proceso inflamatorio pulpar un fenómeno único.

Por un lado, el tejido pulpar se encuentra contenido en el interior de la pieza dentaria, es decir, está alojado en una cámara de paredes inextensibles, lo cual limita la expansión del tejido pulpar inflamado. Además, la mayor conexión del tejido pulpar con el organismo es el foramen apical. Es a través de esta zona (de entre 210 y 224 μm dependiendo de la edad del paciente) por la que ingresan y egresan arteriolas, vénulas, capilares linfáticos y fibras nerviosas. La falta de un sistema colateral de drenaje linfático, determina la segunda diferencia de los procesos inflamatorios pulpares con los del resto del organismo.

Todos los fenómenos que ocurrirán de aquí en adelante, tanto en el tejido pulpar como en el periapical, serán guiados, regulados y controlados por un conjunto de moléculas de señalización conocidas como mediadores químicos de la inflamación. En líneas generales, nos encontraremos con un conjunto de mediadores que favorecerán la propagación del proceso inflamatorio, los mediadores proinflamatorios, mientras que otros regularán este proceso, para ponerle un fin, una vez que el factor desencadenante haya desaparecido, los mediadores antiinflamatorios. Estos mismos mediadores, en condiciones normales y en cantidades menores, ayudan a mantener el correcto funcionamiento e integridad del tejido pulpar, es decir, su homeostasis.

La microflora presente en la caries es compleja, dinámica y varía de individuo en individuo; es muy probable que las diferencias en la microbiota endodóntica sean el resultado de diferencias en la composición de la microbiota oral. Una multitud de factores puede influir en la colonización exitosa de la cavidad oral por una especie microbiana determinada. Los determinantes de la colonización posiblemente incluyen mecanismos de defensa del huésped, predisposición genética y factores ambientales como la calidad del suministro de agua de la comunidad, la tasa de personas infectadas por la misma especie dentro de las comunidades, estrés psicológico, tabaquismo, frecuencia de atención dental profesional y enfermedades infecciosas.

Los microorganismos iniciadores de la lesión (*Lactobacillus* y *Streptococcus*), son acidogénicos, es decir que tienen la capacidad de producir ácidos orgánicos a partir de la fermentación de los carbohidratos de la dieta. Tanto los sub-productos metabólicos bacterianos como algunos componentes de la pared bacteriana pueden difundir a través de los túbulos dentinarios. Esta difusión no es igual en todos los individuos y está determinada principalmente tanto por el grado de permeabilidad dentinaria la que dependerá del grado de calcificación de los túbulos dentinarios y la cantidad de líquido dentinario que fluye hacia el exterior.

Los ácidos orgánicos que se forman durante la fermentación de los hidratos de carbono (láctico, acético y propiónico) no solo que no son capaces de estimular las fibras A δ sino que además pueden evitar, de manera reversible, la propagación de impulsos nerviosos generados por otros estímulos. Este efecto paradójico (ya que en el resto del organismo causan dolor severo), puede deberse a dos causas: a) falta de receptores químicos en las fibras nerviosas pulpaes, b) disminución de la

excitabilidad de las fibras nerviosas debido a las altas concentraciones de iones hidrógeno y calcio producto de la desmineralización de la parte inorgánica de la dentina.

Dentro de los metabolitos algógenos, encontramos el amonio, la urea y el indol, los tres formados luego de la fermentación de los aminoácidos. Esto explicaría por qué, las lesiones cariosas en las que abundan los microorganismos fermentadores de hidratos de carbono (sacarolíticos) son menos dolorosas que aquellas lesiones en las que pueden encontrarse un mayor número de bacterias proteolíticas (*Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia* y *Porphyromonas gingivalis*). A su vez, las bacterias Gram-negativas, tienen un alto poder algogénico dado que el lipopolisacárido (LPS) activa el factor XII de Hageman y este induce la producción de bradiquinina.

Debido a la ubicación anatómica única de los microorganismos de la caries, la muerte fagocítica clásica probablemente no ocurra sino hasta que la pulpa esté directamente en contacto ella. Antes de la exposición real a la lesión, la pulpa dental debajo de la caries superficial es capaz de desencadenar respuestas inmunes innatas para frenar su progresión. Una transición a una respuesta inmune adaptativa tendrá lugar en la pulpa dental cuando el frente de caries se acerque a la misma.

La periodontitis apical de origen bacteriano se caracteriza por ser un proceso inflamatorio que ocurre alrededor del ápice radicular de una pieza dentaria con pulpa necrótica. El sistema de conductos radiculares brinda un ambiente propicio para el desarrollo de los microorganismos debido a que por el cese del metabolismo pulpar no hay posibilidades de defensa orgánica y los restos pulpares disponibles actúan como sustrato óptimo. Los subproductos de la biopelícula endodóntica son responsables del

establecimiento de una patología periapical. Dependiendo de la virulencia de los agentes infecciosos y las posibilidades de defensa del huésped ésta lesión periapical podrá tener una presentación clínica sintomática o asintomática.

La periodontitis apical sintomática se asocia con microorganismos muy virulentos y/o huésped menos resistente y con defensas debilitadas; la periodontitis apical asintomática está relacionada con los microorganismos de baja virulencia y/o con un huésped más resistente.

La progresión de la lesión puede llevar a la reabsorción del hueso radicular y alveolar, a la destrucción del ligamento periodontal y al desarrollo de tejido de granulación, donde el examen radiográfico es una importante ayuda diagnóstica.

En los dientes necróticos y en las lesiones periapicales visibles radiográficamente, los microorganismos habitan en todo el sistema de conductos radiculares, incluidos el conducto principal y los conductos laterales, accesorios y secundarios, túbulos dentinarios, delta y foramen apical, regiones de reabsorción en el cemento.

Hay que recordar que los procesos patológicos pulpares se desarrollan de manera paulatina y que el organismo responde como un conjunto y no como un tejido aislado. De este modo, cabe comprender, que cuando comienzan los cambios en el tejido pulpar, ocurrirá lo propio en los periapicales. Es decir, la reacción del tejido periapical, no es más que una respuesta inmunológica local y secundaria a los procesos que están ocurriendo en el interior del sistema de conductos radiculares.

1. INMUNOLOGIA PULPAR

Frente a una caries superficial la pulpa tiene la capacidad de concretar respuestas inmunes innatas con el objetivo de defenderse ante la invasión de la misma. La transición a una respuesta inmune adquirida tendrá lugar a partir del momento que el avance de la caries se acerque a la pulpa, la evidencia apoya la teoría que ésta transición se produce cuando la separación caries-pulpa es de menos de 2 mm de tejido dentinario, marcando el comienzo de un proceso inflamatorio irreversible.

La respuesta inmune innata del complejo dentino-pulpar a la caries incluye los siguientes componentes: (1) salida del fluido dentinario y la deposición de inmunoglobulinas intratubulares; (2) odontoblastos; (3) neuropéptidos e inflamación neurogénica; (4) células inmunes innatas, incluidas células dendríticas inmaduras (DCi), células natural killer (NK) y linfocitos T, así como (5) sus citoquinas y (6) quimioquinas. Aunque los dos primeros elementos no son componentes clásicos de la inmunidad innata, están involucrados de manera única en la respuesta inflamatoria inicial a la caries.

El fluido dentinario se encuentra en el interior de los túbulos dentinarios en el espesor de la dentina, es un ultrafiltrado de la sangre presente en los capilares pulpares, su composición se asemeja a la del plasma. El paso de los antígenos de las bacterias de la caries hacia la pulpa puede realizarse de forma directa a través de estos túbulos, siendo el número y diámetro de los mismos y el flujo del fluido dentinario en su interior, los factores que regulan la posibilidad de que los antígenos provenientes del exterior alcancen la pulpa. (Figura 22)

Al quedar expuestos los túbulos, por la vasodilatación asociada a la respuesta inflamatoria inicial del tejido conectivo pulpar frente a las toxinas bacterianas que le llegan a través de los mismos, se produce un aumento de la presión intrapulpar que, a su vez, provoca un incremento de la presión en el interior de los túbulos dentinarios y un mayor movimiento del fluido dentinario hacia el exterior, generando así una fuerza hidrodinámica en dirección opuesta a la pulpa, lo que dificultaría la llegada al interior de la cavidad pulpar de metabolitos y antígenos bacterianos.

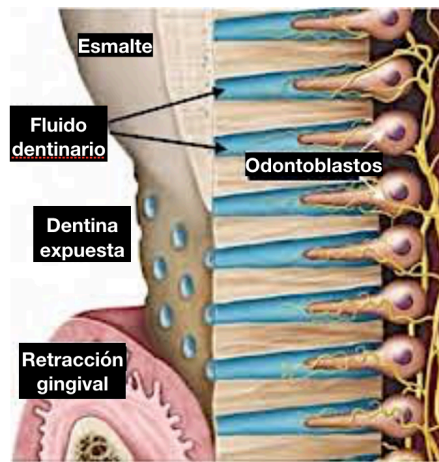


Figura 22 : Fluido dentinario (<http://www.puresimpledental.com/dentinal-fluid/dentinal-fluid/>)

En la composición del fluido dentinario, entre otros elementos, hay inmunoglobulinas. Estas están presentes también en la sustancia fundamental del estroma pulpar. Paralelamente en los túbulos dentinarios cercanos al área de predentina podemos encontrar también IgG. En presencia de caries superficiales se detecta IgG1, IgA1 e IgM en el interior de los túbulos dentinarios no infectados. Cuando la lesión avanza

encontramos además IgA2. El efecto protector de estas inmunoglobulinas puede ser antígeno específico o inespecífico.

Debemos recordar que el sistema de complemento tiene como funciones facilitar la lisis celular (mediante el MAC), facilitar la fagocitosis (a través de la opsonización de microorganismos) y favorecer el reclutamiento de células inmuno-competentes por acción de las anafilotoxinas (a través del aumento de la permeabilidad capilar). A nivel pulpar la lisis bacteriana mediada por el MAC es bastante limitada, se cree que la participación más importante del complemento en la respuesta pulpar inicial está relacionada con la funciones de las anafilotoxinas.

Los odontoblastos se consideran tradicionalmente como meras células productoras de dentina, sin embargo, debido a su ubicación anatómica única, son la primera línea de células que encuentran antígenos extraños al avanzar la cavidad de caries a través del esmalte y la dentina, en ésta situación son similares a las células epiteliales. Las células epiteliales han sido consideradas como una parte integral de la inmunidad innata por ser capaces de producir citoquinas proinflamatorias y expresar péptidos antimicrobianos como las betadefensinas.

Del mismo modo, se ha observado que los odontoblastos humanos expresan niveles bajos de IL-8, así como genes de quimioquinas (CCL2, CCL26, CXCL4, CXCL12, CXCL14) y genes de receptores de quimioquinas (CXCR2, CCRL1, CCRL2). Las quimioquinas CCL2, CXCL12 y CXCL14 atraen a las células dendríticas inmaduras, mientras que la CCL26 suprime este reclutamiento. Los odontoblastos expresan de forma constitutiva la betadefensina-1 (BD-1), un péptido antimicrobiano implicado en la resistencia de las superficies epiteliales a la colonización bacteriana.

Igualmente, expresan leptina, una citoquina con acción estimuladora sobre los macrófagos.

Tanto el lipopolisacárido como el ácido lipoteicoico de las bacterias Gram-negativas y positivas respectivamente, tienen la capacidad, por el mismo mecanismo, de producir una respuesta inmune innata a través de receptores de reconocimiento de patrones (PRR). Los PRR son proteínas presentes en las células del sistema inmunitario, como fagocitos, que identifican moléculas asociadas con patógenos microbianos o estrés celular. Las moléculas microbianas que un PRR dado reconoce se denominan patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP). Incluyen carbohidratos bacterianos, como lipopolisacáridos o la manosa; ácidos nucleicos, peptidoglicano, ácido lipoteicoico y lipoproteínas. Las señales de estrés endógeno se denominan patrones moleculares asociados a peligro (DAMP) e incluyen el ácido úrico y las proteínas de choque térmico.

Hay diversos tipos de PRR; por un lado, tenemos los receptores tipo Toll (TLR, del inglés Toll-like receptors) y los receptores de lectina tipo C (CLR, del inglés C-type Lectin Receptor), que son transmembranales y están localizados en la membrana plasmática y en endosomas, por lo que reconocen microorganismos extracelulares. Por otro lado, tenemos receptores intracelulares citosólicos como los receptores tipo RIG-I, (RLR, del inglés RIG-I-like receptors) que detectan microorganismos del citoplasma de células fagocíticas; los receptores con dominio de oligomerización de nucleótidos (NOD, del inglés nucleotid-binding oligomerization domain) y los receptores tipo NOD (NLRs, del inglés NOD-like receptors). Éstos últimos, en presencia de determinados estímulos, reclutan otras proteínas para generar complejos de señalización

que promueven la inflamación. Estos complejos multiproteicos son conocidos con el nombre de inflamasoma.

El inflamasoma es un gran complejo macromolecular formado por tres componentes esenciales: una molécula sensora, un NLR que podrá reconocer patrones derivados de patógenos (PAMPs) o de patrones moleculares derivados de daños (DAMPs); una molécula adaptadora, conocida como proteína asociada a la apoptosis (Apoptotic-Associated Speck-like Protein, ASC), la cual contiene un dominio de activación y reclutamiento de caspasas (CARD); y una molécula efectora, un zimógeno, la pro-caspasa-1, que tras un estímulo es convertido autocatalíticamente a la caspasa-1, que actúa como molécula efectora. La caspasa-1 activa proteolíticamente las citoquinas proinflamatorias IL-1 β y IL-18. Además, la activación del inflamasoma provoca una forma proinflamatoria de muerte celular llamada piroptosis.

En los odontoblastos los PRR más relevantes son los TLRs (TLR2, TLR4, TLR5 y TLR9), también encontramos receptores NOD 1 y 2 que se expresan en su citoplasma, y los inflasomas. La unión de los ligandos a los TLRs, NODs o a un inflasomas, desencadena la activación del factor nuclear kappa beta (NF- κ B) y de la p38 proteína quinasa activada por mitógenos (MAP quinasa).

Las cascadas de MAP quinasas están integradas por tres elementos consecutivos: MAPKKK (quinasa de la quinasa de la MAP quinasa), MAPKK (quinasa de la MAP quinasa) y MAPK (MAP quinasa); su secuencia indica el orden en el que los componentes se van activando consecutivamente mediante reacciones de fosforilación. La MAPKKK activada activa a la MAPKK y ésta a su vez activa a la MAPK.

A partir de la activación de la cascada, la MAPK puede activar a otras quinasas de proteína, fosforilar componentes citoesqueléticos o trasladarse al núcleo para activar factores de transcripción que lleven a cabo la expresión de ciertos genes, de esta manera pueden comenzar a sintetizarse mediadores proinflamatorios incluyendo citoquinas y quimioquinas con acción paracrina y autocrina como IL-1 α , IL-1 β , TNF α , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 y factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). La fosforilación de los miembros de la cascada puede ser reversible por la acción de fosfatasas de tipo serina, tirosina o treonina, dado que son los residuos que las MAP fosforilan.

Por ejemplo, cuando los receptores TLR2 de los odontoblastos se estimulan con el LTA de las bacterias Gram positivas los odontoblastos producen las citoquinas IL-6, IL-10 y CXCL8 y aumentan la expresión del receptor de reconocimiento de patrones NOD2, que reconoce moléculas que contienen muramil dipéptido, presente en la pared celular de algunas bacterias.

El VEGF es un potente inductor de la angiogénesis y de la permeabilidad vascular, habiéndose demostrado que es producido por los odontoblastos pulpares y los macrófagos cuando son expuestos al ácido lipoteicoico (LTA) de las bacterias Gram positivas. La IL-8, es una sustancia quimiotáctica para los neutrófilos al sitio de la inflamación. Los neutrófilos y los macrófagos son las células fagocíticas “profesionales” en la respuesta inmune innata. (Figura 23)

En la pulpa localizada bajo las lesiones superficiales de caries se observan pocos neutrófilos, por lo que no parecen jugar un papel importante en las pulpitis reversibles. Los macrófagos expresan receptores PRR para numerosas moléculas bacterianas: receptor para el LPS y para el ácido

lipoteicoico (CD14), receptores C11b/CD18, receptores para manosa y receptor para glúcidos, entre otros. Así pues, los macrófagos se activan en las etapas precoces de la pulpitis para proteger a la pulpa, incrementando la permeabilidad vascular y removiendo los antígenos y los tejidos dañados.

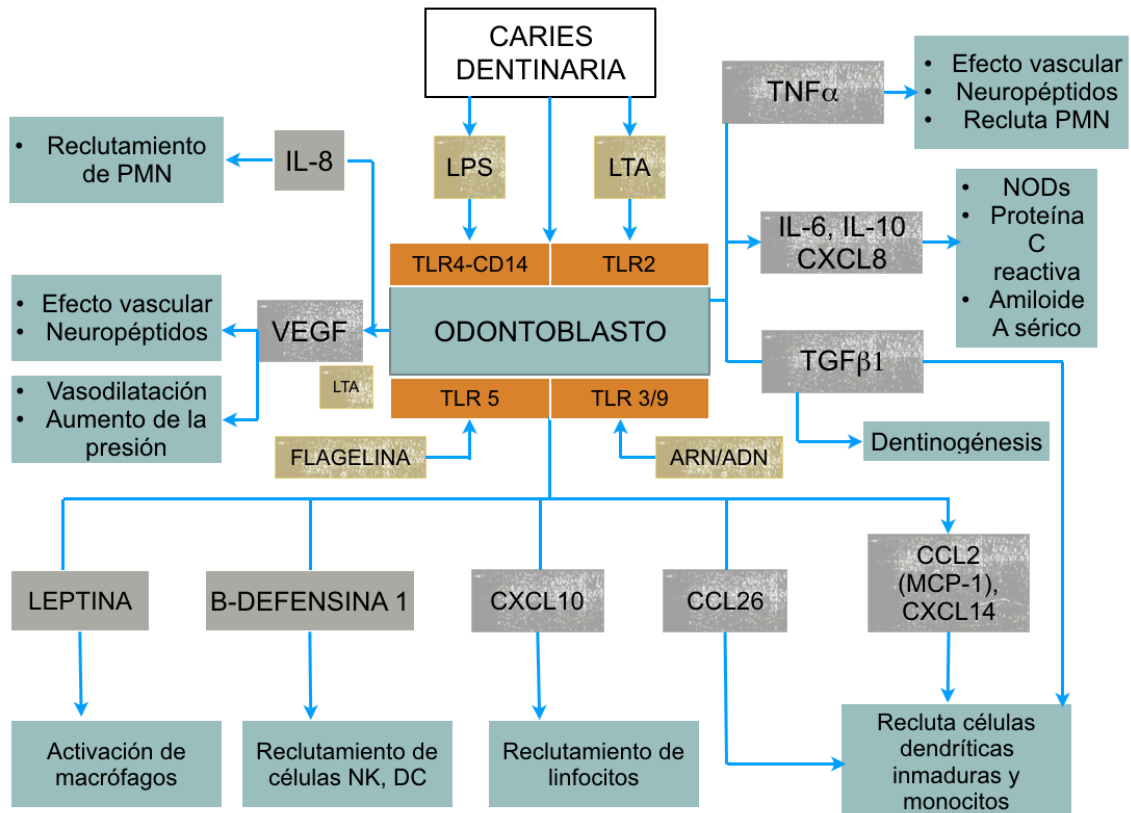


Figura 23 : Participación del odontoblasto en la respuesta inmune pulpar innata. (Adaptado de Segura Egea y col. Respuesta inmune innata pulpar frente a la caries: mecanismos efectores. *Endodoncia*. 32 (2): 85-96, Abril-Junio 2014 ISSN 1130-9903.)

La IL-1 y el TNF α son producidos por macrófagos y permiten el reclutamiento de polimorfonucleares neutrófilos y monocitos al sitio de ataque. A su vez, inducen la liberación de IL-6 por varios tipos celulares, la

cual estimula la producción y liberación de dos proteínas de fase aguda por los hepatocitos: la proteína C reactiva y el amiloide A sérico. La primera es una opsonina y aumenta el nivel de fagocitosis bacteriana; la segunda influencia la adhesión, migración, proliferación y la agregación celular. También generan respuestas sistémicas como elevar la temperatura, aumentar la eritrosedimentación, aumentar la liberación de glucocorticoides, activación del complemento y de la cascada de la coagulación.

La IL-6 a su vez, estimula la producción de neutrófilos de la médula ósea y la diferenciación de linfocitos B en células plasmáticas. La IL-12 estimula la producción del IFN- γ , el cual es un mediador clave de la activación de los macrófagos que a su vez, aumenta la liberación de IL-1 y TNF α . Tanto el TNF α como el IFN- γ juegan un papel fundamental en la patología periapical, dado que son reguladores de la reabsorción ósea al inducir la producción de óxido nítrico.

La capa de odontoblastos, circunscribe la zona más periférica de la pulpa, en esta capa se pueden evidenciar algunas terminales nerviosas que constituyen el plexo de Raschkow, capilares sanguíneos, fibras colágenas, proteoglicanos y algunas células dendríticas inmaduras (CDi) que expresan moléculas MHC Clase II. También hay como residentes normales linfocitos T encontrándose ampliamente diseminados entre los vasos sanguíneos; y macrófagos que, cuando son requeridos y estimulados correctamente, expresarán también moléculas MHC clase II y actuarán como células presentadoras de antígenos para los linfocitos T.

En la pulpa dental, tanto los linfocitos T como las CDi se consideran importantes en la inmunovigilancia como parte de la respuesta innata a la caries.

Las células NK son una fuente importante de la producción temprana de IFN- γ , que no solo activa los macrófagos para destruir microorganismos fagocitados, sino que también promueve la respuesta de los linfocitos T tipo 1 en la inmunidad adaptativa. La presencia de células NK en la pulpa dental puede contribuir a la alta prevalencia de ARNm de IFN- γ en el tejido pulpar debajo de las lesiones de caries poco profundas.

Los macrófagos tisulares derivan generalmente de monocitos circulantes y muestran un alto grado de heterogeneidad, influenciado por su microentorno. Los macrófagos activados son asesinos efectivos que eliminan los patógenos en las respuestas inmunitarias tanto innata como adaptativa, y también son importantes en la homeostasis del tejido, a través de la limpieza de las células senescentes, y en la remodelación y reparación del tejido después de la inflamación. El número de macrófagos aumenta con la progresión de la caries y siempre es mayor que el de las CD en todas las etapas de la invasión de la caries.

La inervación extremadamente rica de la pulpa dental puede influir en la respuesta inmune estimulando directamente las células inmunocompetentes a través de neuropéptidos que potenciarán el cuadro inflamatorio. Este tipo de inflamación mediada por neuropéptidos se denomina “inflamación neurogénica” y es un ejemplo de retroalimentación positiva.

Además, estos neuropéptidos potenciarán un aumento la permeabilidad vascular, facilitando el suministro y la acumulación de células inmunes y macromoléculas en el tejido inflamado. Las fibras nerviosas sensoriales en pulpas inflamadas debajo de caries profundas expresan CD14 y TLR-4, que son receptores conocidos para LPS.

Los neuropéptidos son pequeños péptidos producidos y liberados por las neuronas que pueden actuar como neurotransmisores o como hormonas con acción paracrina. En la pulpa dental humana sana, los neuropéptidos sintetizados en los cuerpos de las neuronas del plexo subodontoblástico de Raschkow, tras ser transportados axónicamente, son liberados en la pulpa actuando sobre los vasos sanguíneos, las células pulpares y las neuronas nociceptivas.

En la pulpa dentaria humana se detectan grandes concentraciones de los siguientes neuropéptidos: péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), así como sustancia P (SP) y neuroquinina A (NKA), estando las arteriolas pulpares muy inervadas por fibras peptidérgicas que liberan CGRP y SP.

La liberación de los neuropéptidos va a producirse por estimulación de las fibras aferentes del plexo subodontoblástico por los diferentes mediadores químicos que se liberan durante la inflamación pulpar (INF- γ , IL-1, IL-6, IL-8, TNF α). Los neuropéptidos interaccionan con receptores específicos acoplados a proteína G ubicadas en la membrana plasmática de las células diana (células indiferenciadas, células del sistema inmune, odontoblastos, etc.). La unión ligando-receptor, activa proteínas enzimáticas (fosfolipasa C o adenilciclase) que catalizan la síntesis de segundos mensajeros (IP₃-inositol trifosfato- y AMPc- adenosín monofosfato cíclico, respectivamente) responsables de la activación de enzimas intracelulares (proteína quinasa A, proteína quinasa C) a través de las cuales se concreta la acción final del neuropéptido (nocicepción, respuesta inmune o proliferación celular).

La adenilciclase será activada por la unión de la subunidad α de la proteína G que ha intercambiado un GDP por un GTP. Ésta aumenta la concentración de AMPc el cual, en altas concentraciones, se une a las dos

subunidades controladoras de la proteína quinasa A dejando libres las dos subunidades catalizadoras. La proteína quinasa A activada, entre otras funciones, actúa en el músculo liso y será la responsable de producir la vasodilatación. (Figura 24)

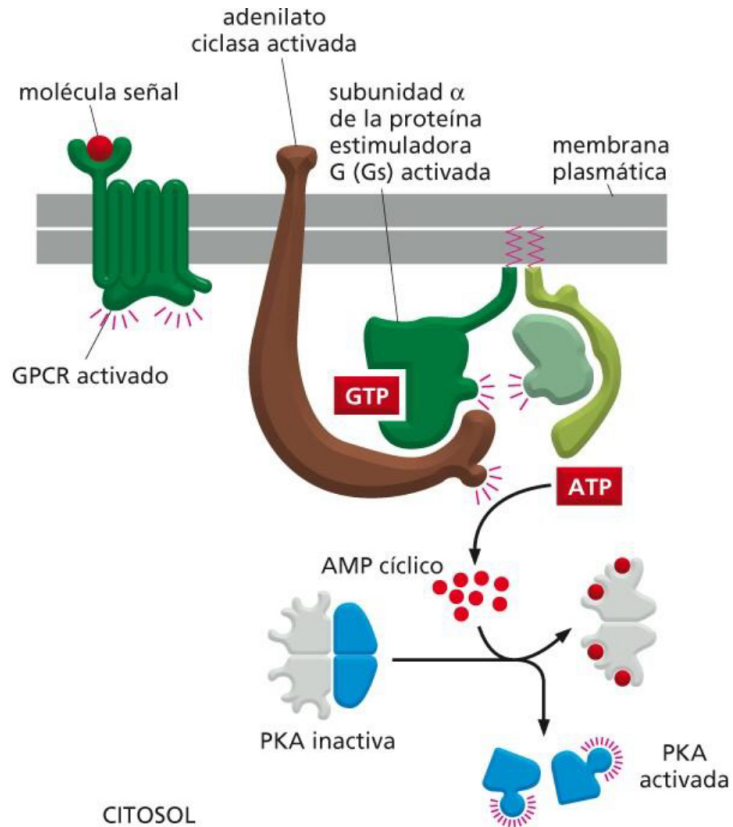


Figura 24 : Activación de la proteína quinasa A. (<https://docplayer.es/73093918-Biologia-celular-y-molecular-senales-y-comunicacion-celular.html>)

La fosfolipasa C, escinde del fosfolípido de membrana fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (PIP₂), inositol trifosfato (IP₃) y diacilglicerol (DAG). El IP₃ genera una movilización del calcio, almacenado en organelas como el retículo endoplasmático y en el aparato de Golgi. Esos iones de calcio, junto con el DAG, que queda en la membrana, permiten constituir y activar la proteína

quinasa C. Ésta podrá fosforilar y activar la cascada de fosforilación de las MAP quinasas.

Cada uno de los neuropéptidos pulpares juega un papel diferente en la inflamación neurogénica. La expresión de CGRP, SP y NKA, liberados por las neuronas de las fibras C pulpares provenientes del ganglio del trigémino, así como la del neuropéptido Y (NPY), liberado por las neuronas de las fibras simpáticas pulpares que provienen del ganglio cervical superior, están significativamente elevadas en la pulpa inflamada comparada con la pulpa sana. Por el contrario, la expresión del péptido intestinal vasoactivo (VIP), liberado por las terminaciones parasimpáticas pulpares, no se incrementa durante la inflamación pulpar.

El CGRP es el principal mediador de la vasodilatación neurogénica arteriolar. Es un factor quimiotáctico para neutrófilos y monocitos, aumenta la secreción de IL-8 e IL-10 y recluta células dendríticas inmaduras; y la SP y la NKA son los principales mediadores del incremento de la permeabilidad de las vénulas postcapilares. La sustancia P, además, produce vasodilatación y puede estimular la liberación de histamina por parte de los mastocitos.

El resultado final de la inflamación neurogénica es un incremento transitorio de la presión intersticial intrapulpar y flujo hacia el exterior del fluido dentinario. La localización de fibras nerviosas en el interior de los túbulos dentinarios y su papel en el flujo exterior del fluido dentinario durante la inflamación neurogénica, hace que el componente neural sea una parte importante de la respuesta inicial vascular frente a la caries.

Los neuropéptidos pulpares también tienen efectos directos sobre las células que participan en la respuesta inmune, por lo que se ha sugerido

que existe un eje neuro-inmunoendocrino. La SP es quimiotáctica para las células T y aumenta la producción de IL-2 y de IFN- γ inducida por antígenos y mitógenos. También aumenta la producción de IL-12 por las células presentadoras de antígeno e induce la producción de IL-8 por las células pulpares. El CGRP y el VIP reclutan CDi en la pulpa inflamada hacia el sitio donde se está produciendo la inflamación aguda, e inhiben la migración de las CD maduras a los ganglios linfáticos regionales. El VIP estimula la producción de inmunoglobulinas, la secreción de IL-12 y es quimiotáctico para leucocitos. (Figura 25)

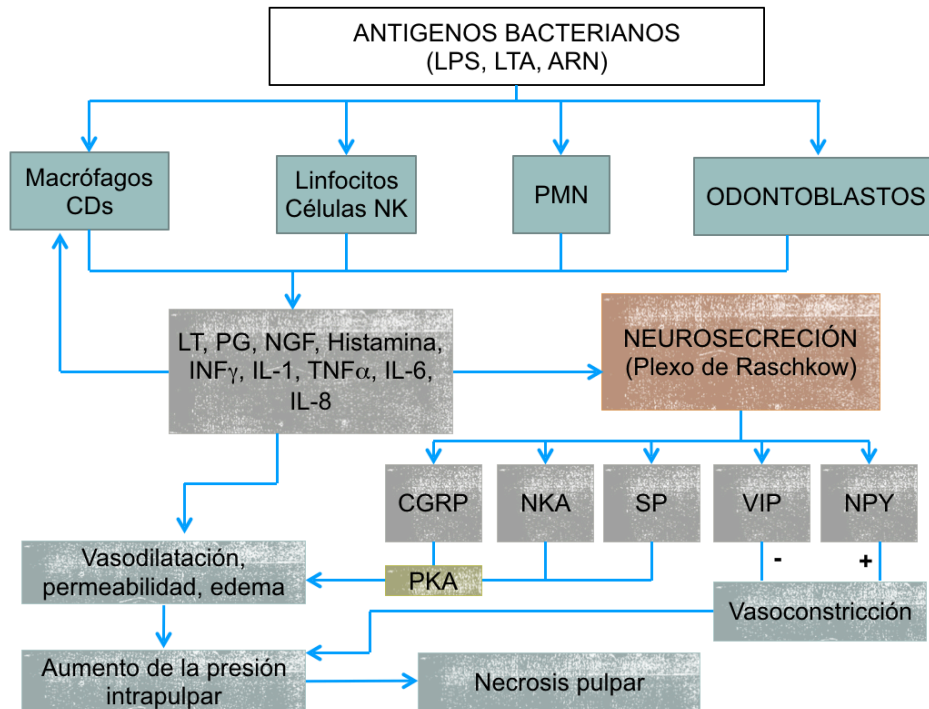


Figura 25 : Mediadores químicos en la inflamación pulpar (Adaptado de Segura Egea y col. Respuesta inmune innata pulpar frente a la caries: mecanismos efectores. *Endodoncia*. 32 (2): 85-96, Abril-Junio 2014 ISSN 1130-9903.)

2. INMUNOLOGIA PERIAPICAL

La presencia de bacterias y subproductos metabólicos en el tejido pulpar da lugar a la liberación de mediadores proinflamatorios, desencadenándose una cascada inflamatoria que incluye la interacción de múltiples tipos de células inmuno-competentes que involucran la activación de células endoteliales, polimorfonucleares neutrófilos, macrófagos, linfocitos y fibroblastos. La respuesta compleja del huésped involucra células de la inmunidad tanto innata como adaptativa responsables del establecimiento y evolución de las patologías periapicales, en cada una de las cuales podremos identificar diferentes procesos inmunológicos.

Los PMNs y los macrófagos están implicados en la inmunidad innata mediada por células que fagocitan a los microorganismos opsonizados y las células muertas. Las células T y B son componentes celulares predominantes en las lesiones periapicales humanas y durante mucho tiempo se pensó que eran las responsables de la formación de las mismas.

Estudios realizados en animales atímicos, que carecen de linfocitos T, por Tani-Ishii y colaboradores y Wallstrom y colaboradores observaron que las lesiones periapicales experimentales se desarrollaron a la misma velocidad en ambos grupos de animales (es decir, en los que carecen de linfocitos T y en animales normales). Esto fue un punto de inflexión para la comprensión del papel central de los macrófagos probablemente activados directamente por el LPS de la pared bacteriana sin intervención del INF γ derivado de linfocitos T.

La activación inicial de la respuesta del huésped se produce a través de la estimulación de los receptores tipo toll (TLR) y los receptores con dominio de oligomerización de nucleótidos (NOD). Ambos, TLR y NOD, se expresan

en gran medida en múltiples tipos de células asociadas con las lesiones endodónticas, incluidos los monocitos/macrófagos, granulocitos, fibroblastos de pulpa dentaria, precursores de osteoclastos y células mesenquimales.

La infección microbiana es un requisito previo absoluto para la aparición de periodontitis apical con reabsorción ósea en una pieza dentaria con necrosis pulpar o en un diente endodónticamente tratado. El tejido necrótico pulpar en el conducto radicular no puede sostener, por sí mismo, lesiones inflamatorias osteolíticas en el entorno del tejido periapical. Por ejemplo, después de una lesión traumática puede desarrollarse una necrosis pulpar. Más allá de la periodontitis apical sintomática de etiología traumática que pudiese aparecer en ese momento, no se establecerá una periodontitis apical asintomática a menos que el espacio pulpar se contamine con microorganismos, lo cual puede ocurrir a partir de una solución de continuidad en el esmalte dentario permitiendo el ingreso de microorganismos que encontrarán en el conducto radicular un medio ideal para la colonización microbiana luego de la necrosis pulpar.

El estudio clásico de Kakehashi y colaboradores (1965) demostró que la exposición pulpar en ratas gnotobióticas (animales libres de patógenos específicos desde el nacimiento) da lugar a una reparación tras una inflamación transitoria superficial sin desarrollar patología periapical; en tanto la presencia de microorganismos inoculados en la cavidad bucal de las ratas desencadenará una respuesta de los tejidos periapicales.

Cuando haya una necrosis pulpar la infección del sistema de conductos radiculares será persistente, dado que los elementos de defensa del huésped no son capaces de llegar al interior de la pieza dentaria debido a la falta de circulación.

La respuesta periapical es considerada como una segunda línea de defensa del huésped debido al fracaso de la respuesta inmunológica pulpar (barreras físicas, mediadores y células pulpares inmunocompetentes). De este modo, los tejidos que circundan la desembocadura de los conductos radiculares comienzan a desarrollar un proceso inflamatorio desde los estadios iniciales de la patología pulpar.

La respuesta de los tejidos periapicales se hará evidente, histopatológicamente, desde la aparición de una solución de continuidad en el esmalte, ya sea en forma de lesión de caries incipiente, microfractura o por causas traumáticas.

El ácido lipoteicoico de las bacterias Gram positivas y el lipopolisacárido de la pared bacteriana de las Gram negativas estimula la liberación por parte de los odontoblastos de IL-8 la cual es el principal factor quimiotáctico para los PMN. En los estadios iniciales de la inflamación pulpar estas células llegan al frente de avance de la lesión de caries a través de la irrigación pulpar por lo que se encuentran en la región apical desde la primer respuesta inflamatoria pulpar. Aparecen a menudo cercanos a la emergencia del conducto radicular, pueden dominar localmente la lesión y aún formar una cavidad abscedada, que podrá ser transitoria o permanente.

A su vez, estos componentes bacterianos estimularán a los leucocitos a liberar mediadores inflamatorios como TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-8 y PGE2. Todos estos factores han sido detectados en muestras periapicales.

Los linfocitos T helper predominan durante la fase aguda, mientras que un mayor número de linfocitos T supresores (CD4+CD25+) se asocia con la cronicidad.

Este proceso inflamatorio se asemeja al de cualquier otra parte del organismo con la diferencia que en los huesos maxilares la patología periapical de origen bacteriano, que no se resuelve, puede dar lugar a una reabsorción ósea.

La pérdida ósea localizada en los huesos de los maxilares resultante de una infección endodóntica es una combinación de una reacción inmune inflamatoria focal y una osteoclastogénesis localizada, y es un daño colateral inevitable para que el huésped pueda proveer una respuesta inmune efectiva contra la infección del conducto radicular, y será reversible en tanto que se controle la causa.

La salud de nuestros huesos es consecuencia del proceso de remodelado que ocurre durante toda la vida, reabsorción a cargo de los osteoclastos seguida por la aposición coordinada a cargo de los osteoblastos; la homeostasis ósea parecería estar regulada por un gran número de citoquinas, hormonas y factores de crecimiento que intervienen en la activación e inhibición de osteoblastos y osteoclastos.

Los osteoclastos derivan de células hematopoyéticas (línea monocito-macrófago). Probablemente, la mayor parte de los pre-osteoclastos se encuentren en el seno de la médula ósea; sin embargo, como ocurre con otras células de estirpe hematopoyética, existen también precursores circulantes en la sangre.

Los osteoblastos son de estirpe mesenquimal y la mayor parte de ellos se encuentra formando parte del estroma de la médula ósea o próximos a las superficies óseas. Tanto los osteoblastos como los osteoclastos cuando han cumplido su función entran en apoptosis; sin embargo, la mayoría de los osteoblastos quedan entrampados en la matriz que van sintetizando y

se transforman en osteocitos, mientras otros tapizarán la superficie ósea y reciben el nombre de células de revestimiento.

Se han identificado diversos mediadores químicos que participan en la regulación de la homeostasis ósea que determinan una interacción compleja y coordinada entre osteoblastos, osteoclastos y osteocitos. Entre estos mediadores se destaca el sistema OPG-RANKL-RANK.

OPG u osteoprotegerina, también conocida como factor de inhibición de la osteoclastogénesis, es un miembro de la superfamilia de los receptores del factor de necrosis tumoral que no permanece, tras su síntesis, como una proteína transmembrana sino que es secretada como proteína soluble. Se expresa en numerosos tejidos humanos (pulmón, corazón, riñón, hígado, intestino, estómago, cerebro, glándula tiroides y médula espinal) y su principal función parece ser la inhibición de la maduración y activación de los osteoclastos.

RANK (Receptor Activador de NF- κ B), se identifica solo en osteoclastos maduros, DC y preosteoclastos que son, por lo tanto, las células blanco principales para RANKL y OPG. Su activación conlleva no solo una reorganización en el citoesqueleto del osteoclasto y cambios fundamentales para su activación, movilidad y establecimiento en la superficie ósea a reabsorber, sino que desencadena una señal de supervivencia en el osteoclasto maduro.

RANKL (ligando de unión al Receptor Activador de NF- κ B) aparece en la membrana de osteoblastos, células del estroma y osteocitos, o es liberado de la superficie de éstas células por acción de las metaloproteasas; su ARNm se expresa no solo en tejido óseo sino en médula ósea y tejidos linfáticos. Su principal función es la estimulación de la histodiferenciación y

la activación de los osteoclastos, y promueve su supervivencia inhibiendo la apoptosis. Junto al factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF) son esenciales para promover la histodiferenciación de los pre-osteoclastos en osteoclastos maduros.

La IL-1 β , producida por macrófagos activados, y el TNF α , producido por los linfocitos T activados, son responsables de la reabsorción ósea local en la periodontitis apical asintomática. Los osteoclastos no tienen receptores para IL-1 β ni para TNF α , por ello requieren que otras células que tienen esos receptores los activen. De esta manera IL-1 β y TNF α se acoplan a receptores específicos en osteoblastos y células del estroma óseo, lo que hace que estas células expresen RANKL.

Los pre-osteoclastos que circulan por el torrente sanguíneo expresan receptores de S1P (esfingosina 1 fosfato fosfolípido proveniente de plaquetas y glóbulos rojos), éstos pre-osteoclastos migran hacia el hueso y en condiciones fisiológicas las altas concentraciones sanguíneas de S1P actúan como factor quimioatrayente para que los mismos vuelvan al torrente sanguíneo.

El aumento de la expresión de RANKL disminuirá la expresión en el pre-osteoclasto que haya migrado del torrente sanguíneo de los receptores de S1P, actuando, de esta manera RANKL como un factor quimiotáctico indirecto haciendo que los pre-osteoclastos se queden en la zona permitiendo la unión de RANKL a RANK.

La unión de RANKL de los osteoblastos con RANK de los pre-osteoclastos inducirán a los pre-osteoclastos cercanos a convertirse en osteoclastos multinucleados, cuya característica principal es la expresión de un borde activo para reabsorber hueso. (Figura 26)

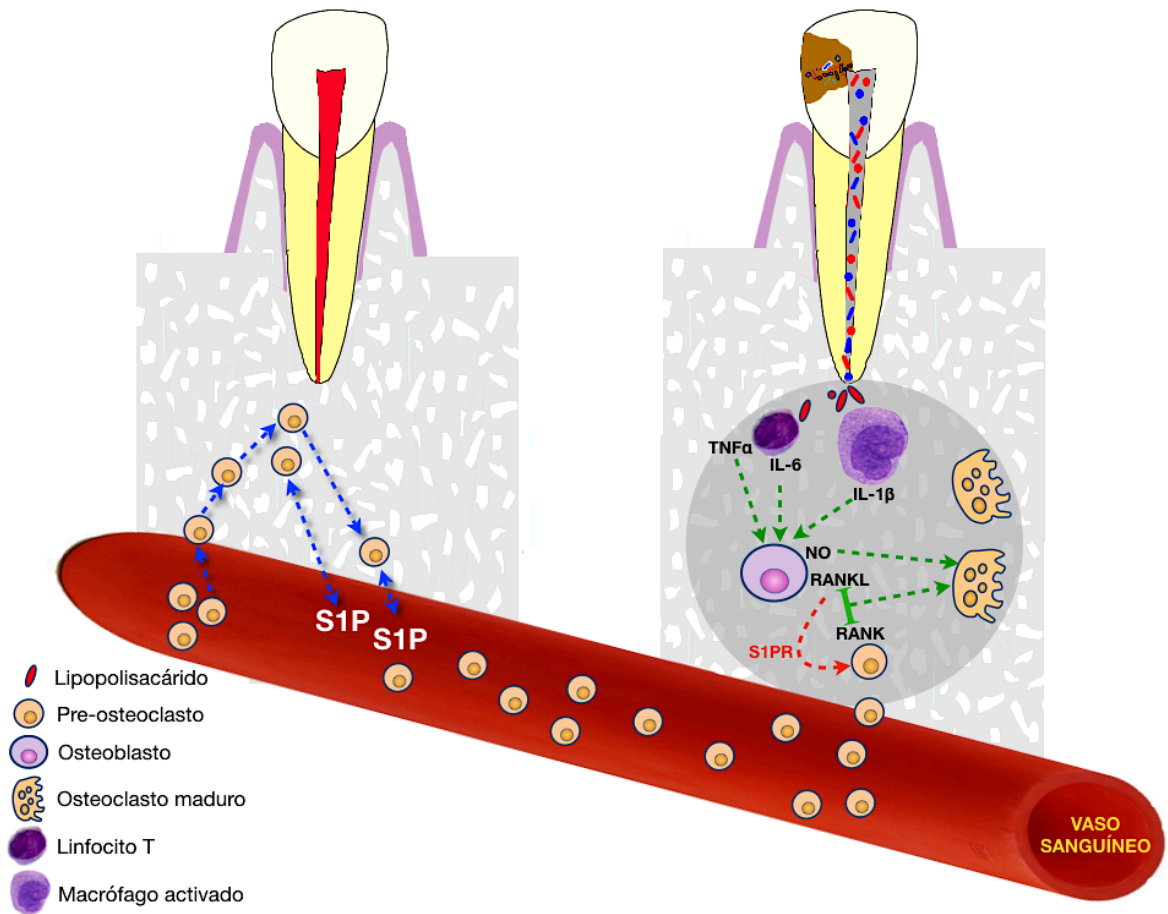


Figura 26 : En condiciones fisiológicas la expresión en la membrana de los pre-osteoclastos de receptores de esfingosina 1 fosfato (S1PR) provoca la vuelta al torrente sanguíneo de los pre-osteoclastos que migraron al tejido óseo debido a las altas concentraciones plasmáticas de S1P. El aumento de la expresión de RANKL en los osteoblastos reduce la expresión de S1PR por lo que los osteoclastos permanecen en la zona y la unión de RANK/RANKL desencadena la maduración a osteoclasto multinucleado. El óxido nítrico (NO) sintetizado por el osteoblasto participa de manera bifásica en la homeostasis ósea. La IL-6 secretada por el osteoblasto favorece la osteoclastogénesis.

Tanto RANKL como su receptor en los pre-osteoclastos y osteoclastos (RANK) son moléculas transmembranales. Por lo tanto, la proximidad de ambas células es esencial para que este proceso tenga lugar.

Este proceso de activación tiene una regulación negativa por un mediador soluble, OPG, que inhibe de forma competitiva la activación de los osteoclastos al unirse al RANKL de los osteoblastos, impidiendo de esta manera la interacción RANKL/RANK.

Recientemente, se ha sugerido que cuando hay abundante osteoprotegerina ésta hace que la mayor parte del RANKL sintetizado se mantenga en el interior de la célula y, en consecuencia, inactivo. Por el contrario, en ausencia de osteoprotegerina el RANKL sintetizado se expresa en la membrana siendo capaz de interactuar con los pre-osteoclastos.

Este proceso explica cómo las citoquinas activan localmente a los osteoclastos que no tienen receptores de IL-1 β o TNF α .

El sistema OPG-RANKL-RANK no es el único grupo de mediadores químicos que modulan la homeostasis ósea. Los osteoblastos pueden sintetizar diversas citoquinas que promueven la reabsorción ósea por ejemplo IL-6 cuyo papel, probablemente, sea más importante en condiciones patológicas tales como la destrucción ósea ligada a procesos inflamatorios. La IL-6 es una citoquina multifuncional producida por varios tipos de células que regula la hematopoyesis, la inflamación, la respuesta inmune y la homeostasis ósea. Modula la diferenciación de osteoblastos y osteoclastos y se cree que juega un papel positivo e indirecto en la diferenciación de los osteoclastos al inducir la expresión de RANKL en la superficie de los osteoblastos.

Los osteoblastos también producen otras moléculas pequeñas, como el óxido nítrico, que puede tener efecto sobre la remodelación ósea actuando sobre osteoblastos u osteoclastos dependiendo de la isoforma enzimática que lo genera y la concentración.

Se ha demostrado una mayor expresión de IL-1 α y TNF α en la periodontitis apical sintomática y asintomática. Además, los niveles endógenos de IL-1 α y TNF α se correlacionan con la presencia de sintomatología en varias condiciones clínicas. En estudios in vitro el hidróxido de calcio desnaturaliza efectivamente IL-1 α y TNF α a niveles fisiológicos.

Un rasgo característico de la periodontitis apical crónica es la neoformación de fibras nerviosas peptidérgicas periféricas en el tejido perirradicular. Esta proliferación neuronal se produce durante la aparición de la lesión periapical, con un aumento selectivo en los neuropéptidos CGRP y sustancia P. En estudios in vitro el hidróxido de calcio desnaturaliza con eficacia CGRP.

En condiciones fisiológicas los osteoblastos secretan importantes cantidades de osteoprotegerina que al unirse al RANKL de los osteoblastos y de los preosteoblastos bloquea el desarrollo de la osteoclastogénesis al impedir que RANKL se una a RANK. Por otro lado, los osteoblastos inmaduros tienen una secreción de osteoprotegerina menor que la de los osteoblastos maduros e incrementan la expresión de RANKL, pudiendo reclutar osteoclastos para remodelar el tejido óseo viejo en el lugar donde va a depositarse tejido óseo nuevo.

Desde un punto de vista clínico, podríamos decir que la respuesta inflamatoria periapical puede ser sintomática o asintomática. El desarrollo de una u otra, estará íntimamente ligado a la virulencia de los

microorganismos que han colonizado el sistema de conductos radiculares y a la capacidad de respuesta inmunológica del paciente.

Tal como ocurre en la patología pulpar, la cronología clínica de la patología periapical no siempre sigue el mismo patrón evolutivo. Es decir, que pacientes con periodontitis apical sintomática no evolucionarán siempre a una asintomática si no se la trata, sino que el transcurrir de la patología podrá tomar tantos caminos como individuos haya. Esto se debe a que las categorías diagnósticas que se utilizan están basadas en signos y síntomas, por lo cual no pueden correlacionarse con el estado histopatológico de la respuesta inmune que esté aconteciendo.

Las características del hidróxido de calcio en relación al TNF α y al CGRP soportan su indicación como medicación intra-conducto para aprovechar no solo su acción antibacteriana sino también para modular la respuesta inmunológico-inflamatoria periapical, especialmente en lo referido a la reabsorción ósea de etiología bacteriana (periodontitis apical bacteriana) y a la reabsorción dentinaria externa.

BIBLIOGRAFIA

1. Alshwaimi E, Purcell P, Kawai T, Sasaki H, Oukka M, Campos-Neto A, et al. Regulatory T cells in mouse periapical lesions. *J Endod* 2009; 35: 1229-33.
2. Anderson DM, Maraskovsky E, Billingsley WL, Dougall WC, Tometsko ME, Roux ER, et al. A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function. *Nature* 1997; 390 (6656): 175-9.
3. Armada L, Marotta Pdos S, Pires FR, Siqueira JF Jr. Expression and distribution of receptor activator of nuclear factor kappa B, receptor activator of nuclear factor kappa B ligand, and osteoprotegerin in periradicular cysts. *J Endod.* 2015; 41: 1281-7.
4. Balto K, Sasaki H, Stashenko P. Interleukin-6 deficiency increases inflammatory bone destruction. *Infect Immun* 2001;69(2):744-50.
5. Baumgartner J.C., Siquiera Jr J.F., Xia T., Rocas I.N. Geographical Differences in Bacteria Detected in Endodontic Infections Using Polymerase Chain Reaction. *JEndodon* VOL.30,NO.3,MARCH2004 (141-4).
6. Bergenholtz G. Micro-organisms from necrotic pulp in traumatized teeth. *Odontol. Revy.* 1974; 25: 347-58.
7. Boyce BF, Li P, Yao Z, et al. TNF-alpha and pathologic bone resorption. *Keio J Med* 2005;54(3):127-31.
8. Bsarkhordar RA, Hayashi C, Hussain MZ. Detection of interleukin-6 in human dental pulp and periapical lesions. *Endod Dent Traumatol* 1999;15(1):26-7.
9. Buelvas Jimenez, N., Suarez Useche, R.J. Regulación del inflammasoma NLRP3: bioquímica y más allá de ella. *IATREIA.* 28(2): 170-180, Abril-Junio 2015. ISSN 0121-0793 / ISSN-e 2011-7965.
10. Burgess TL, Qian Y, Kaufman S, Ring BD, Van G, Capparelli C et al. The ligand for osteoprotegerin (OPGL) directly activates mature osteoclasts. *J Cell Biol* 1999; 145 (3): 527-38.
11. Castellanos-Cosano, L, Martín-González, J, Calvo-Monroy, C, López-Frías, FJ, Velasco-Ortega, E, Llamas-Carreras, JM et al. Endodoncia preventiva: Protección pulpar mediante la técnica de eliminación de la caries en etapas (stepwise excavation). *Avances en Odontostomatología.* (5): 245-252. Octubre 2011 ISSN 2340-3152.
12. Cavalla F, Reyes M., Vernal R., Alvarez C., Paredes R., Garcia-Sesnich J., Infante M., Fariña V., High levels of CXCL12/Stromal cell-derived Factor 1 apical lesions of endodontic origin associated with mast cell infiltration. *J Endod.* Vol. 39, Issue 10, p1234-1239.

13. Chae P, Im M, Gibson F, Jiang Y, Graves D. Mice lacking monocyte chemoattractant protein 1 have enhanced susceptibility to an interstitial polymicrobial infection due to impaired monocyte recruitment. *Infect Immun* 2002; 70: 3164-3172.
14. Colic M, Gazivoda D, Vucevic D, Majstorovic I, Vasilijic S, Rudolf R, et al. Regulatory T-cells in periapical lesions. *J Dent Res* 2009; 88: 997-1002.
15. Colic M, Gazivoda D, Vucevic D, Vasilijic S, Rudolf R, Lukic A. Proinflammatory and immunoregulatory mechanisms in periapical lesions. *Mol Immunol* 2009; 47: 101-113.
16. Cooper, P.R., Holder, M.J. y Smith, A.J. Inflammation and Regeneration in the Dentin-Pulp Complex: A Double-edged Sword. *Journal of Endodontics*. 40 (4S): 46-51, Abril 2014 ISSN 0099-2399.
17. De Brito, LCN, Teles, FR, Teles, RP, Nogueira, PM, Vieira, LQ y Ribeiro Sobrinho, AP. Immunological profile of periapical endodontic infections from HIV and HIV+ patients. *International Endodontic Journal*. 48: 533-541, 2015. ISSN 1365-2591.
18. de Sa AR, Pimenta FJ, Dutra WO, Gomez RS. Immunocalization of interleukin 4, interleukin 6, and lymphotoxin alpha in dental granulomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003;96(3):356-60.
19. Desai, SV, Love, RM, Rich, AM y Seymour, GJ. Antigen recognition and presentation in periapical tissues: a role for TLR expressing cells? *International Endodontic Journal*, 44: 87-99, 2011. ISSN 1365-2591.
20. Dommisch H, Winter J, Acil Y, et al. Human beta-defensin (hBD-1, -2) expression in dental pulp. *Oral Microbiol Immunol* 2005;20(3):163-6.
21. Durán Gimenez-Rico HJ, Aller Reyero MA, Lorente Ruigómez L, Durán Gimenez-Rico L, Arias Pérez J, Durán Sacristán H. Sepsis y shock séptico: un torbellino de mediadores inflamatorios de difícil manejo terapéutico. *Anales de Medicina Interna (Madrid)* [en línea]. Vol.19, n.1. 2002 [fecha de consulta: 20 de Julio de 2017], pp.35-43. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-71992002000100010&lng=es&nrm=iso. ISSN 0212-7199.
22. Durand SH, Flacher V, Romeas A, et al. Lipoteichoic acid increases TLR and functional chemokine expression while reducing dentin formation in vitro differentiated human odontoblasts. *J Immunol* 2006;176(5):2880-7.
23. Estrela C, Figueiredo JAP. Endodontia: princípios biológicos e mecânicos. Porto Alegre: Artes Médicas; 2001.
24. Estrela C. Ciência endodôntica. Porto Alegre: Artes Médicas; 2004.

25. Ferrer Cañabate J, Tovar I, Martínez P. Osteoprotegerina y Sistema RANKL/RANK: ¿el futuro del metabolismo óseo? *Anales de Medicina Interna*. 19 (8): 385-388, 2002. ISSN 0212-7199.
26. Fukada SY, Silva TA, Saconato IF, Garlet GP, Avila-Campos MJ, Silva JS, et al. iNOS-derived nitric oxide modulates infection-stimulated bone loss. *J Dent Res* 2008; 87: 1155-1159.
27. Fuller K, Wong B, Fox S, Choi Y, Chambers TJ. TRANCE is necessary and sufficient for osteoblast-mediated activation of bone resorption in osteoclasts. *J Exp Med* 1998; 188 (5): 997-1001.
28. Garlet TP, Fukada SY, Saconato IF, Avila-Campos MJ, Silva TAD, Garlet GP, et al. CCR2 deficiency results in increased osteolysis in experimental periapical lesions in mice. *J Endod* 2010; 36: 244-250.
29. Gilles J, Carnes D, Dallas M, Holt S, Bonewald L. Oral bone loss is increased in ovariectomized rats. *J Endodon* 1997; 23: 419-422.
30. Hahn, C-L y Liewehr, F.R. Relationships between Caries Bacteria, Host Responses, and Clinical Signs and Symptoms of Pulpitis. *Journal of Endodontics*, 33 (3): 213 – 219, Marzo 2007. ISSN 0099-2399.
31. Harris DP, Goodrich S, Mohrs K, Mohrs M, Lund FE. Cutting edge: the development of IL-4-producing B cells (B effector 2 cells) is controlled by IL-4, IL-4 receptor alpha, and Th2 cells. *J. Immunol.* 2005; 175: 7103–107.
32. Hasegawa T, Yoshimura Y, Kikuri T, et al. Expression of receptor activator of NF-kappa B ligand and osteoprotegerin in culture of human periodontal ligament cells. *J Periodont Res* 2002; 37(6):405–11.
33. Hing L, Carlson L, Siebenlist U & Boyce BF. Mechanism by which NF- kB regulates osteoclast numbers. *Bone* 1998; (Supl. 1) S190 (Abstract no. 1172).
34. Hirao K, Yumoto H, Takahashi K, Mukai K, Nakanishi T, Matsuo T. Roles of TLR2, TLR4, NOD2, and NOD1 in pulp fibroblasts. *J Dent Res* 2009; 88: 762-767.
35. Hirao K, Yumoto H, Takahashi K, Mukai K, Nakanishi T, Matsuo T. Roles of TLR2, TLR4, NOD2, and NOD1 in pulp fibroblasts. *J Dent Res* 2009; 88: 762-767.
36. Hosokawa, Y, Hirao, K, Yumoto, H, Washio, A, Nakanishi, T, Takegawa, D, Kitamura, C, y Matsuo, T. Functional Roles of NOD1 in Odontoblasts on Dental Pulp Innate Immunity. *BioMed Research International*, vol. 2016, ID del artículo 9325436, 11 páginas, 2016. doi:10.1155/2016/9325436.
37. Huang GT, Chugal N, Potente AP, Zhang X. Constitutive expression of interleukin-8 and intercellular adhesion molecule-1 in human dental pulps. *Int J Oral Biol* 1999; 24(4):163–8.

38. Huang GT, Do M, Wingard M, Park JS, Chugal N. Effect of interleukin-6 deficiency on the formation of periapical lesions after pulp exposure in mice. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001; 92: 83-88.
39. Huang GT, Potente AP, Kim JW, Chugal N, Zhang X. Increased interleukin-8 expression in inflamed human dental pulps. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1999; 88: 214-20.
40. Huang GT, Potente AP, Kim JW, et al. Increased interleukin-8 expression in inflamed human dental pulps. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1999;88(2):214-20.
41. Ishimi Y, Miyaura C, Jin CH, et al. IL-6 is produced by osteoblasts and induces bone resorption. *J Immunol* 1990;145(10):3297-303.
42. Jiang H-W, Zhang W, Ren B-P, et al. Expression of toll like receptor 4 in normal human odontoblasts and dental pulp tissue. *J Endod* 2006;32(8):747-51.
43. Jiang Y, Mehta C, Hsu T, Alsulaimani F. Bacteria induce osteoclastogenesis via an osteoblast-independent pathway. *Infect Immun* 2002; 70: 3143-8.
44. José A. Riancho JA y Delgado-Calle J., Mecanismos de interacción osteoblasto-osteoclasto. *Reumatol Clin.* 2011;7(S2):S1-S4.
45. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germfree and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1965;20:340-8.
46. Kanzaki H, Chiba M, Shimizu Y, Mitani H. Dual regulation of osteoclast differentiation by periodontal ligament cells through RANKL stimulation and OPG inhibition. *J Dent Res* 2001;80(3):887-91.
47. Kawashima N, Stashenko P. Expression of bone-resorptive and regulatory cytokines in murine periapical inflammation. *Arch Oral Biol* 1999;44(1):55-66.
48. Kawashima N, Suzuki N, Yang G, Ohi C, Okuhara S, Nakano-Kawanishi H, Suda H. Kinetics of RANKL, RANK and OPG expressions in experimentally induced rat periapical lesions. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 2007; 103: 707-11.
49. Kayaoglu G, Orstavik D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004;15(5):308-20.
50. Khan AA, Xiaoling S, Hargreaves KM. Effect of calcium hydroxide on pro inflammatory cytokines and neuropeptides. *J Endod* 2008;34: 1360 - 1363

51. Kusumoto Y, Hirano H, Saitoh K, et al. Human gingival epithelial cells produce chemotactic factors interleukin-8 and monocyte chemoattractant protein-1 after stimulation with *Porphyromonas gingivalis* via toll-like receptor 2. *J Periodontol* 2004;75(3):370–9.
52. Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 1998; 93: 165–76.
53. Latz, E, Xiao, S, Stutz, A. Activation and regulation of the inflammasome. *Nature reviews. Immunology* [en línea]. Vol 13, No 6, Junio 2013 [fecha de consulta: 17 de Julio de 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3807999/> ISSN : 1474-1733.
54. Lu, H-X, Xiao, M-Z, Niu Z-Y, Guo X-M, Zhao S-L, Wang H-G, Guo H-Y. Effect of IL-1ra on human dental pulp cells and pulpal inflammation. *International Endodontic Journal*, 35, 807-811, 2002. ISSN 1365-2591.
55. Lum L, Wong BR, Josien R, Becherer JD, Erdjument-Bromage H, Schlondorff J. et al. Evidence for a role of a tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha)-converting enzyme-like protease in shedding of TRANCE, a TNF family member involved in osteoclastogenesis and dendritic cell survival. *J Biol Chem* 1999; 274 (19): 13613-8.
56. Maciel, KF, Neves De Brito LC, Tavares WLF, Moreira G, Nicoli JR, Viera LQ y Ribeiro Sobrinho AP. Cytokine expression in response to root canal infection in gnotobiotic mice. *International Endodontic Journal*, 45, 354–362, 2012. ISSN 1365-2591.
57. Malyankar UM, Scatena M, Suchland KL, Yun TJ, Clark EA, Giachelli CM. Osteoprotegerin is an alpha vbeta 3-induced, NF-kappa B-dependent survival factor for endothelial cells. *J Biol Chem* 2000; 275 (28): 20959-62.
58. Martínez Moreno, J.A., Hernández López, J.C., Urcuqui-Inchima, S. La estimulación de TLR, receptores tipo NOD y dectina-1 en neutrófilos humanos induce la producción de citocinas proinflamatorias. *IATREIA*. 27(2): 135-146, Abril-Junio 2014. ISSN 0121-0793 / ISSN-e 2011-7965.
59. Marx RE. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. *J Oral Maxillofac Surg* 2003;61(9):1115–17.
60. Melo MD, Obeid G. Osteonecrosis of the jaws in patients with a history of receiving bisphosphonate therapy: strategies for prevention and early recognition. *J Am Dent Assoc* 2005;136(12):1675–81.
61. Menezes R, Garlet TP, Letra A, Bramante CM, Campanelli AP, Figueira Rde C, et al. Differential patterns of receptor activator of nuclear factor kappa B ligand/osteoprotegerin expression in human periapical

- granulomas: possible association with progressive or stable nature of the lesions. *J Endod* 2008; 34: 932-8.
62. Mesa-Villanueva, M., Patiño, P.J. Receptores tipo Toll: entre el reconocimiento de lo no propio infeccioso y las señales endógenas de peligro. *Inmunología*. 25 (2): 115-130, Abril-Junio 2006 ISSN: 0213-9626.
63. Metzger Z, Abramovitz I. Periapical lesions of endodontic origin. En: *Ingle's Endodontics*, 6th edn (Ingle JI, Bakland LK, Baumgartner JC, eds.). Hamilton, Ontario: BC Decker, 2008: 494-519.
64. Metzger Z. Macrophages in periapical lesions. *Endod. Dent. Traumatol.* 2000; 16: 1-8.
65. Moura AAM, Davidowicz H, Dias LP, Bardauil MRRS. Assymptomatic apical periodontitis: clinical report. *Rev Inst Ciênc Saúde.* 2007;25(4):463-8.
66. Nair PN. On the causes of persistent apical periodontitis: a review. *Int Endod J* 2006;39(4):249-81.
67. Nair PN. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004; 15: 348-81.
68. Pagier M, Hoover DM, Yang D, et al. Human beta-defensins. *Cell Mol Life Sci* 2006;63(11):1294-313.
69. Papadakis Vañesa, H.S.; Escalona Cárdenas, L.A.; Ávila, M. y Correnti, MA. Relación entre niveles de Sustancia P y dolor en pacientes con diagnóstico de Pulpitis Irreversible. *Acta Odontológica Venezolana* [en línea]. Vol. 53, no 1, 2015 [fecha de consulta: 18 de Junio de 2017] Disponible en: <http://www.actaodontologica.com/ediciones/2015/1/art-20/>. ISSN: 0001-6365
70. Pérez Ruíz, A.O., Ventura Hernández, M.I. y Valverde Grandal, O. Descripción de las propiedades funcionales del sistema nociceptivo trigeminal en relación con el dolor pulpar. *Revista Cubana de Estomatología* [en línea]. Vol 52, no 3, Septiembre 2015 [fecha de consulta: 18 de Junio de 2017]. Disponible en: <http://www.revestomatologia.sld.cu/index.php/est/article/view/376/199>. ISSN 1561-297X.
71. Peters LB, Wesselink PR, Moorer WR. Penetration of bacteria in bovine root dentine in vitro. *Int Endod J.* 2000;(33):28-36.
72. Pinchiari RR. Aspectos relevantes relacionados ao biofilme perirradicular. 2007. 58 f. Monografía (Especialização em Endodontia) – Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas, Regional Santo André; 2007.

73. Rahimi P, Wang C, Stashenko P, Lee S, Lorenzo J, Graves D. Monocyte chemoattractant protein-1 expression and monocyte recruitment in osseous inflammation in the mouse. *Endocrinology* 1995; 136: 2752-9.
74. Rechenberg D-K, Galicia JC, Peters OA (2016) Biological Markers for Pulpal Inflammation: A Systematic Review. *PLoS ONE* [en línea]. 29 de Noviembre, 2016. Vol. 11 No. 11 [fecha de consulta: 20 de Julio de 2017] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5127562/pdf/pone.0167289.pdf> eISSN 1932-6203.
75. Reeves R, Stanley HR. The relationship of bacterial penetration and pulpal pathosis in carious teeth. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology*; 22(1):59-65. 1966 ISSN 0030-4220.
76. Riancho JA, Delgado-Calle J. Mecanismos de interacción osteoblasto-osteoclasto. *Reumatol Clin*. 2011;7(S2):S1-S4
77. Ricucci D, Russo J, Rutberg M, Burleson JA, Spångberg LS. A prospective cohort study of endodontic treatments of 1,369 root canals: results after 5 years. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2011 Dec;112(6):825-42. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2011.08.003>
78. Ricucci D, Siqueira JF Jr, Bate AL, Pitt Ford TR. Histologic investigation of root canal-treated teeth with apical periodontitis: a retrospective study from twenty-four patients. *J Endod* 2009; 35: 493-502.
79. Sarathy AP, Bourgeois SL Jr, Goodell GG. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws and endodontic treatment: two case reports. *J Endod* 2005;31(10):759-63.
80. Sasaki H, Hou L, Belani A, et al. IL-10, but not IL-4, suppresses infection-stimulated bone resorption in vivo. *J Immunol* 2000;165(7):3626-30.
81. Saucedo García, M. y Gavilanes Ruíz M. Las map cinasas: elementos de señalización en la defensa de las plantas contra patógenos. *Revista de Educación Bioquímica*. 24 (1): 4-11, 2005. ISSN 1665-1995
82. Segura Egea, J.J., Martín González, J., Sánchez Domínguez, B., Martín Jiménez, M., Saucedo Márquez, J.J., Tarilonte Delgado, M.L. Respuesta inmune innata pulpar frente a la caries: mecanismos efectores. *Endodoncia*. 32 (2): 85-96, Abril-Junio 2014 ISSN 1130-9903.
83. Silva TA, Garlet GP, Fukada SY, Silva JS, Cunha FQ. Chemokines in oral inflammatory diseases: apical periodontitis and periodontal disease. *J Dent Res* 2007; 86: 306-19.
84. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Luthy R et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997; 89 (2): 309-19.
85. Spoletti, P., Blotta F. Bases Biológicas para la Endodoncia [en línea]. Rosario, Argentina: Blotta, Francisco y Spoletti, Pablo. 2016. [citado el 14

- de Julio de 2017] Disponible en: <http://bibliotecas.unr.edu.ar/acceso/9789874205216.pdf> ISBN 978-987-42-0521-6.
86. Stashenko P, Teles R, D'Souza R. Periapical inflammatory responses and their modulation. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998;9(4):498–521.
 87. Stashenko P, Wang C, Riley E, Wu Y, Ostroff G, Niederman R. Reduction of infection-stimulated peripical bone resorption by the biological response modifier PGG glucan. *J Dent Res* 1995; 74: 323–330.
 88. Stashenko P, Wang CY, Tani-Ishii N, Yu SM. Pathogenesis of induced rat periapical lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994; 78: 494–502.
 89. Stashenko P, Yu SM. T helper and T suppressor cell reversal during the development of induced rat periapical lesions. *J. Dent. Res.* 1989; 68: 830–4.
 90. Suda T, Takahashi N, Udagawa N, Jimi E, Gillespie MT, Martin TJ. Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. *Endocr. Rev.* 1999; 20: 345–57.
 91. SUN, Z., WANG, L. y PENG, B. Kinetics of glycogen synthase kinase (GSK)3b and phosphorylated GSK3b (Ser 9) expression in experimentally induced periapical lesions. *International Endodontic Journal.* 47, 1107–1116, 2014. ISSN 1365-2591
 92. Sundqvist G. Bacteriological studies of necrotic dental pulps. Thesis, Umeå University, 1976.
 93. Takahashi K. Microbiological, pathological, inflammatory, immunological and molecular biological aspects of periradicular disease. *Int Endod J* 1998;31(5):311–25.
 94. Takeichi O, Saito I, Tsurumachi T, Moro I, Saito T. Expression of inflammatory cytokine genes in vivo by human alveolar bone-derived polymorphonuclear leukocytes isolated from chronically inflamed sites of bone resorption. *Calcif Tissue Int* 1996; 58: 244–248.
 95. Tani-Ishii N, Kuchiba K, Osada T, Watanabe Y, Umemoto T. Effect of T-cell deficiency on the formation of periapical lesions in mice: histological comparison between periapical lesion formation in BALB/c and BALB/c nu/nu mice. *J. Endod.* 1995; 21: 195–9.
 96. Torabinejad, M. y Walton, R.E. PERIRADICULAR LESIONS. En: INGLE, J.I, BAKLAND, L.K. *Endodontics.* 5ta Edición. Ontario: BC Decker Inc., 2002. Pp. 175-201. ISBN 1-55009-188-3.
 97. Walker KF, Lappin DF, Takahashi K, et al. Cytokine expression in periapical granulation tissue as assessed by immunohistochemistry. *Eur J Oral Sci* 2000;108(3): 195–201.

- 98.Walker KF, Lappin DF, Takahashi K, Hope J, Macdonald DG, Kinane DF. Cytokine expression in periapical granulation tissue as assessed by immunohistochemistry. *Eur J Oral Sci* 2000; 108: 195-201.
- 99.Wallstrom JB, Torabinejad M, Kettering J, McMillan P. Role of T cells in the pathogenesis of periapical lesions. A preliminary report. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 1993; 76: 213-18.
- 100.Wong BR, Besser D, Kim N, Arron JR, Vologodskaja M et al. TRANCE, a TNF family member, activates Akt/PKB through a signaling complex involving TRAF6 and c-Src. *Mol Cell.* 1999; 4 (6): 1041-9.
- 101.Wong BR, Rho J, Arron J, Robinson E, Orlinick J, Chao M, et al. TRANCE is a novel ligand of the tumor necrosis factor receptor family that activates c-Jun N-terminal kinase in T cells. *J Biol Chem* 1997; 272 (40): 25190-4.
- 102.Xing L, Schwarz EM, Boyce BF. Osteoclast precursors, RANKL/ RANK, and immunology. *Immunol Rev* 2005;208:19-29.
- 103.Yao Z, Li P, Zhang Q, et al. Tumor necrosis factor-alpha increases circulating osteoclast precursor numbers by promoting their proliferation and differentiation in the bone marrow through up-regulation of c-Fms expression. *J Biol Chem* 2006;281(17):11846-55.
- 104.Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Mochizuki SI, Yano K, Fujise N et al. Identity of osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF) and osteoprotegerin (OPG): a mechanism by which OPG/OCIF inhibits osteoclastogenesis in vitro. *Endocrinology* 1998; 139 (3): 1329-37.
- 105.Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinoshita M, Mochizuki S, et al. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95 (7): 3597-602.
- 106.Yoshitake F, Itoh S, Narita H, Ishihara K, Ebisu, S. Interleukin-6 directly inhibits osteoclast differentiation by suppressing receptor activator of NF-kappaB signaling pathways. *J Biol Chem* 2008; 283(17):11535-40.

Bases Inmunológicas para la Endodoncia
Blotta - Spoleti
Rosario, Argentina.
Abril 2019

