



CEU

*Universidad
Cardenal Herrera*

Inauguración Curso Académico 2018-2019

Relato de un conflicto global a escala microscópica: La respuesta inflamatoria frente a patógenos

Juan Manuel Corpa Arenas

Catedrático de Histología y Anatomía Patológica

Facultad de Veterinaria

Universidad CEU Cardenal Herrera



CEU | *Ediciones*

Relato de un conflicto global a escala microscópica: La respuesta inflamatoria frente a patógenos

Juan Manuel Corpa Arenas

Catedrático de Histología y Anatomía Patológica

Facultad de Veterinaria

Universidad CEU Cardenal Herrera

Universidad CEU Cardenal Herrera

**Relato de un conflicto global a escala microscópica:
La respuesta inflamatoria frente a patógenos**

Cualquier forma de reproducción, distribución, comunicación pública o transformación de esta obra sólo puede ser realizada con la autorización de sus titulares, salvo excepción prevista por la ley. Diríjase a CEDRO (Centro Español de Derechos Reprográficos, www.cedro.org) si necesita fotocopiar o escanear algún fragmento de esta obra.

© 2018, Juan Manuel Corpa Arenas

© 2018, Fundación Universitaria San Pablo CEU

Maquetación: Luzmar Estrada Seidel (CEU *Ediciones*)

CEU *Ediciones*

Julián Romea 18, 28003 Madrid

www.ceuediciones.es

Depósito legal: M-30757-2018

Prefacio

Realizar la lección inaugural del curso académico en nuestra Universidad supone todo un honor y una gran responsabilidad. Es un verdadero placer poder dirigirme, en un mismo momento, a un selecto foro constituido por académicos, e invitados, formados en las diferentes áreas del conocimiento. Esto implica el importante reto de adecuar la temática y el nivel de la lección a los receptores de la charla, sin perder el rigor académico que se presupone a este tipo de actos. Por otro lado, la posibilidad de errar en el intento de satisfacer las expectativas depositadas en el ponente genera un cierto vértigo que, a su vez, se mezcla con la estimulante emoción de afrontar este gran reto.

En cuanto a la elección del tema, no ha sido demasiado complicada ya que siempre me ha apasionado investigar e intentar comprender los mecanismos ocultos en los sucesos cotidianos. Por ello, en esta clase magistral se describirán, de forma resumida, los principales participantes y acontecimientos que tienen lugar en el interior de los mamíferos durante la respuesta inflamatoria tras una infección microbiana.

Se hará mención a las lesiones provocadas por diferentes microorganismos, en especial por la bacteria *Staphylococcus aureus*, agente objeto de estudio de mi grupo de investigación en Patología y Sanidad Animal desde el año 2002. Igualmente, para completar esta lección magistral se mostrarán imágenes procedentes de casos clínicos que han sido remitidos al Servicio de Diagnóstico Anatomopatológico del Hospital Clínico Veterinario de la Facultad de Veterinaria y que han sido publicadas en diversas revistas científicas durante los últimos 20 años.

No quisiera terminar este prólogo sin previamente mostrar mi explícito agradecimiento al Decano de la Facultad de Veterinaria, José Terrado, y a la Rectora, Rosa Visiedo, por proponerme como ponente y aceptar la propuesta, respectivamente. Espero no defraudar su confianza.

Finalmente, quisiera también aprovechar esta oportunidad para rendir un breve pero sincero homenaje a aquellas personas que, de forma decisoria, han influido y condicionado mi vida. En primer lugar, a mis padres (Avelina y Agustín), que me inculcaron una serie de sólidos valores que, sin lugar a dudas, han forjado mi personalidad. A mi mujer (Esther) y mis dos hijos (Noemí y Álvaro), que son el verdadero motor de mi existencia y los principales inspiradores de mi vida. Así como a mi hermano y su familia, apoyos férreos cuando llega el momento. En el ámbito laboral también me gustaría resaltar lo privilegiado que me siento al compartir trabajo con todo el equipo de Anatomía Patológica (Joaquín, David, Laura, Agustín, becarios, técnicos, etc.) que permiten que venir a trabajar sea un verdadero placer. Por último, me gustaría dar las gracias a todas aquellas personas, tanto de la Facultad de Veterinaria como del resto de la Universidad, que facilitan nuestro día a día con su profesionalidad y su sonrisa. Muchas gracias a todos.

Introducción

¿Qué es la Patología o Anatomía Patológica?

La patología es la ciencia que estudia la enfermedad. Literalmente, patología es el estudio (*logos*) del sufrimiento (*pathos*). Básicamente implica “*el estudio de las modificaciones morfológicas y funcionales de los tejidos y fluidos corporales en la enfermedad*”. Por lo tanto, conocer la patología es fundamental para comprender cómo funcionan las enfermedades y consecuentemente cómo puede ser diagnosticadas, tratadas y prevenidas.

¿Quiénes se encargan del estudio de la Anatomía Patológica y cómo lo hacen?

Las personas que estudian esta disciplina reciben el nombre de patólogos. Tradicionalmente los patólogos estudiaban las manifestaciones morfológicas de la enfermedad (lesiones) pero, hoy día, además están también interesados en los cambios funcionales asociados a esas lesiones.

El patólogo debe ser capaz de manejar una gran variedad de herramientas y técnicas para estudiar las lesiones, algunas de ellas muy sofisticadas. Sin embargo, las principales siguen siendo sus ojos y manos. Se puede obtener mucha

información de un cadáver mediante su observación e inspección cuidadosas y los mejores patólogos son astutos observadores.

El estudio de la patología implica el uso de un lenguaje específico, con profundas raíces griegas y latinas, y cuyo aprendizaje permite el intercambio de información entre patólogos y clínicos.

Por lo tanto, el patólogo, a modo de corresponsal de guerra (utilizando, si me lo permiten, un símil periodístico), se interna microscópicamente en los tejidos y observando todos los focos conflictivos los describe detalladamente y los interpreta para poder llegar a un diagnóstico del proceso. La comunicación de la situación a los veterinarios clínicos les permite tomar las decisiones terapéuticas más acertadas orientadas a la curación de los animales.

La respuesta inflamatoria

La respuesta inflamatoria o inflamación es una reacción compleja de los tejidos vascularizados diseñada para eliminar del organismo hospedador (animal o humano) a agentes lesivos (p. ej., microbios, toxinas, cuerpos extraños, etc.) y también las consecuencias de estas lesiones (p. ej., células y tejidos muertos o necróticos). Sin inflamación las infecciones no serían controladas, las heridas nunca se cicatrizarían y los tejidos lesionados serían una fuente de lesión permanente.

Las principales defensas corporales frente a microorganismos invasores están constituidas por proteínas plasmáticas y leucocitos circulantes, así como fagocitos tisulares derivados de las células circulantes. La presencia de proteínas y leucocitos en la sangre permite a las defensas acudir rápidamente a cualquier lugar del cuerpo en el que puedan ser necesarias. Dado que los invasores, como los microbios, o células necróticas, se localizan inicialmente en los tejidos, fuera de la circulación, las células circulantes y las proteínas deben ser reclutadas hacia estos lugares extravasculares. La respuesta inflamatoria coordina las reacciones de los vasos, los leucocitos y las proteínas plasmáticas orientadas a conseguir este objetivo.

Las reacciones vascular y celular de la inflamación se activan mediante factores solubles, denominados mediadores de la inflamación, producidos por diversas células o generados a partir de las proteínas plasmáticas, y se activan o producen en respuesta al estímulo inflamatorio. Los microbios y las células necróticas pueden activar la elaboración de los mediadores de la inflamación, provocando así una respuesta inflamatoria. Estos mediadores inician y amplifican la

respuesta inflamatoria y condicionan el patrón, la intensidad y el tipo de manifestaciones clínicas y patológicas.

La inflamación puede ser aguda o crónica en función de la naturaleza del estímulo y la eficacia de la reacción inicial para eliminar el estímulo o los tejidos lesionados. La inflamación aguda se inicia de forma rápida (en minutos) y dura poco, unas horas o pocos días; se caracteriza, sobre todo, por la exudación de líquido y proteínas plasmáticas (edema) y la migración de leucocitos, sobre todo neutrófilos. Cuando la inflamación aguda consigue eliminar con éxito a los responsables del daño, la reacción desaparece; pero cuando la respuesta inflamatoria no consigue eliminarlos, se puede evolucionar a una fase crónica. La inflamación crónica puede aparecer después de la inflamación aguda o ser insidiosa desde el comienzo. Dura más tiempo y se asocia a la presencia de linfocitos y macrófagos, proliferación vascular, fibrosis y destrucción tisular.

La inflamación termina cuando se elimina el agente responsable del daño. La reacción se resuelve con rapidez, porque los mediadores se degradan y dispersan, y porque la vida de los leucocitos en los tejidos es corta. Además, se activan mecanismos antiinflamatorios que tratan de controlar la respuesta y evitar que ocasione lesiones excesivas al anfitrión.

La respuesta inflamatoria se entremezcla de forma estrecha con el proceso de reparación. Al mismo tiempo, conforme la inflamación destruye, diluye y trata de aislar al agente lesivo, pone en marcha una serie de acontecimientos orientados a la regeneración o cicatrización del tejido lesionado. La reparación se inicia durante la inflamación, pero se completa cuando el estímulo lesivo se ha neutralizado. En el proceso de reparación se sustituye el tejido dañado mediante la regeneración de las células parenquimatosas nativas, rellenando el defecto con tejido fibroso (cicatriz) o, con más frecuencia, mediante una combinación de estos dos procesos.

La inflamación puede resultar lesiva en algunas situaciones. Los mecanismos diseñados para destruir a los invasores extraños y los tejidos necróticos tienen una capacidad intrínseca de lesionar también a los tejidos sanos. Cuando la inflamación se dirige de forma inadecuada frente a los tejidos propios y no se controla correctamente, se convierte en la causa de lesiones y enfermedades.

Relato de un conflicto milenario

En esta clase magistral, como se ha indicado anteriormente, nos vamos a internar en un mundo microscopio, y vamos a relatar y describir un conflicto global que lleva desarrollándose y refinándose durante millones de años en el interior de los seres vivos y que, curiosamente, muestra llamativos paralelismos con el “mundo humano” macroscópico.

En ningún caso se pretende hacer una alegoría de la violencia o la guerra sino simplemente describir, interpretar y comparar los acontecimientos que tienen lugar en el organismo (animal o humano) cuando un microorganismo pretende invadirlo y colonizarlo.

Día -1. Pasando revista a nuestros sistemas defensivos

Es fundamental conocer los componentes de nuestro sistema defensivo ya que los microbios intentarán vencer nuestros mecanismos de defensa estructurales, funcionales, fisiológicos e innatos. Esto, además, desencadenará una guerra sin cuartel que únicamente cesará con la destrucción y eliminación total del agente desencadenante, y todos los residuos generados durante el proceso, o la muerte del animal.

A niveles microscópicos hay un comportamiento despiadado tanto de los mecanismos defensivos como de los organismos atacantes. Al igual que ocurre en la naturaleza entre los animales, por mucho que se pretenda humanizarlos.

Sistemas de barreras

Barreras estructurales o físicas

Las barreras físicas impiden a los microbios el acceso a las células y tejidos diana, que son aquellas localizaciones sobre las que la bacteria ejerce su efecto patogénico. Aunque existen numerosas e importantes barreras estructurales macroscópicas en el cuerpo, tales como el hueso (cráneo o columna vertebral) o las meninges (dura madre) en este apartado nos vamos a referir a las barreras estructurales microscópicas formadas por las mucosas, las uniones muco-cutáneas y la piel.

Los sistemas alimentario, respiratorio, integumentario (piel), urogenital, así como del ojo y oído están recubiertos externamente por células epiteliales, fuertemente unidas entre sí mediante diferentes sistemas de unión (desmosomas,

complejos de unión, etc.), que descansan sobre membranas basales. Estas capas de células epiteliales constituyen la verdadera separación entre el exterior e interior del cuerpo.

La piel está protegida de los microbios por:

1. Su grosor físico, formado por cinco estratos de epitelio (basal, espinoso, granuloso, lúcido y córneo, de dentro a fuera), anclados por complejos de unión.
2. Queratinización, acidez y oleaginosidad del estrato córneo (el más externo) y las propiedades antibacterianas y antifúngicas del estrato lúcido.
3. Desprendimiento de las células queratinizadas (muertas) del estrato córneo al ambiente.

Por el contrario, las mucosas no poseen de forma tan marcada estos atributos de defensa física asociados al grosor. La piel, de un perro por ejemplo, oscila entre 0,5 a 5,0 mm mientras que la mucosa únicamente oscila entre 10 y 100 micras¹. Por lo tanto, el efecto de barrera física frente a los microbios de la piel es muy marcado, en comparación con las mucosas.

Barreras funcionales o biológicas

Los mecanismos de defensa funcional o biológica de las mucosas (sistemas alimentario, respiratorio y urogenital, así como oído y ojo) y de la piel son muy extensos. Incluyen funciones fisiológicas de peristaltismo (sistema alimentario y urinario) y limpieza mucociliar (sistema respiratorio) y las funciones biológicas de sustancias como el moco (sistemas alimentario, respiratorio y urogenital), sustancias bacteriostáticas y bacteriocidas como la lisozima, surfactante, ácido gástrico, ácidos biliares, y enzimas digestivos (sistemas alimentario y respiratorio). Sustancias y procesos como las lágrimas (ojo), cerumen (oído), y la función de descamación de las células de la piel permiten limpiar los microbios de las mucosas y la piel.

La mucosa de los sistemas alimentario y respiratorio están cubiertas por una capa de gel mucoso protector compuesta principalmente por glicoproteínas mucinosas sintetizadas y secretadas por las células caliciformes. Está formada por (1) una capa externa viscoelástica tipo gel que permite atrapar microbios (infecciosos y no infecciosos) y otras partículas y (2) una capa interna serosa que contiene sustancias (que difunden a la capa exterior) y que permite su desplazamiento unidireccional hacia arriba, junto a las bacterias, gracias al movimiento

¹ 1 mm = 1000 micras.

de los cilios de las células epiteliales. Esto permite la deglución o expectoración y, por lo tanto, la eliminación de los microbios.

El moco proporciona nutrientes para la microflora residente (bacterias beneficiosas), que se localizan en la zona externa viscoelástica, donde compiten por los recursos necesarios con los microbios patógenos y proporcionan un ambiente adecuado para los leucocitos asociados a la mucosa que fagocitan y destruyen microbios.

Se pueden producir cambios en la función de las células caliciformes (productoras de la capa mucosa) y en la composición química del moco durante la liberación de factores bioactivos por parte de los microbios o la activación de las células inmunes. Además, algunos factores predisponentes como la deshidratación, el transporte, la humedad y la ventilación, combinados con cambios climatológicos bruscos pueden alterar la función de las células caliciformes y la composición química del moco, haciendo a la mucosa más susceptible a las infecciones.

A continuación, se muestra el ejemplo de la mannheimiosis, una enfermedad que afecta al sistema respiratorio del ganado vacuno y que está provocada por la bacteria *Mannheimia haemolytica*. Esta bacteria expresa un factor de virulencia denominado neuraminidasa (una enzima glicósido hidrolasa), que reduce la viscosidad de la capa externa del moco, haciéndola menos densa y más fluida. Esto facilita un mejor acceso de la bacteria a las membranas celulares mediante gravedad y al movimiento aleatorio browniano². Al mismo tiempo la neuraminidasa también escinde el ácido siálico de la superficie de las membranas celulares, disminuyendo así la carga neta negativa de la superficie y permitiendo un contacto más cercano de la bacteria con las membranas.

Igualmente, alteraciones estructurales o funcionales en los sistemas de barreras pueden hacer a los animales más susceptibles a los microbios. Un ejemplo es la epiteliogénesis imperfecta, una enfermedad genética hereditaria autosómica y recesiva que afecta al epitelio de la piel y mucosas oral y esofágica de los caballos, vacas y cerdos jóvenes. Está causada por alteraciones de las placas sub-basales y sus hemodesmosomas y de la laminina-5, debilitando las uniones intercelulares, lo que provoca una pérdida de la piel y la mucosa dejando expuesta la matriz extracelular y los lechos vasculares a la infección por agentes infecciosos. Otros ejemplos pueden ser la perforación o ulceración de la piel como consecuencia de traumatismos (Ej., elefante –Ortega *et al.*, 2015–; conejos

² Movimiento aleatorio observado en las partículas que se encuentran en un medio fluido (líquido o gaseoso), como consecuencia de choques contra las moléculas de dicho fluido.

–Muñoz-Silvestre, 2018–) o condiciones ambientales inadecuadas (Ej., cocodrilo –Rosell *et al.*, 2019–).

Células efectoras de la respuesta inflamatoria

A continuación, se describirán las principales células que intervienen en la respuesta inflamatoria y que constituyen el principal componente de nuestro sistema defensivo.

Mastocitos y Basófilos

Actualmente se conoce que estos dos tipos celulares son distintos aunque, junto a otros granulocitos y monocitos, se originan y diferencian en la médula ósea a partir de un precursor celular común CD34⁺.

Los mastocitos se encuentran estratégicamente distribuidos por todo el tejido conectivo, adyacentes a pequeños vasos sanguíneos y linfáticos de la piel y membranas mucosas. Esto permite una respuesta rápida a proteínas externas, microbios u otras sustancias contribuyendo significativamente al inicio de la inflamación aguda. Esta localización también les permite interactuar con las células dendríticas (presentadoras de antígenos) residentes y liberar mediadores inflamatorios que activan a las células endoteliales.

Se han identificado dos tipos de mastocitos en función de su localización: mucosa o tejido conectivo. Los mastocitos de las mucosas están localizados principalmente en las mucosas respiratorias e intestinal y pueden incrementar en número durante algunos tipos de respuestas inmunes dependientes de linfocitos T colaboradores 2 (T_H2). Por el contrario, los mastocitos del tejido conectivo no muestran una dependencia de los linfocitos. Su vida media es de 4-12 semanas, dependiendo de su localización.

Los mastocitos expresan en su superficie receptores de alta afinidad (Fc ϵ -RI) por las inmunoglobulinas E (IgE). La unión a estos receptores de antígenos como el polen, alérgenos y parásitos provoca un sobrecruzamiento que termina con la liberación de las sustancias pre-formadas que acumulan estas células en sus gránulos de almacenamiento (histamina TNF- α , proteasas neutras, proteoglicanos –condroitin sulfato y heparina–, serotonina, (en ratones, no en humanos), triptasa, varias citoquinas y factores de crecimiento -TNF, IL-4, factor de crecimiento fibroblástico, factor de crecimiento endotelial vascular, factor de crecimiento transformador, factor de crecimiento de nervios, IL-5, IL-6, IL-15 y factor de células madre). También sintetizan leucotrieno (LT) C₄ (LTC₄), prostaglandina (PG) D₂ (PGD₂), numerosas citoquinas, serotina (en algunas especies)

y quimioquinas. La liberación de todos estos mediadores contribuye significativamente al inicio de la respuesta inflamatoria aguda. También liberan enzimas proteolíticas como la tripsina o quimasa que contribuyen al remodelado de la matriz extracelular durante la reparación de heridas.

Los basófilos se asemejan a los neutrófilos y eosinófilos en que maduran en la médula ósea, circulan por la sangre periférica, son reclutados dentro de los tejidos y tiene una vida media de varios días en el tejido. Expresan receptores de alta afinidad para las IgE, como los mastocitos y liberan gránulos y mediadores inflamatorios. No poseen heparina, tiene un menor repertorio de citoquinas que los mastocitos y liberan sobre todo IL-4 e IL-13. Estas células pueden entrar en los lugares de inflamación, liberar citoquinas reguladoras y estimular a los linfocitos B para producir IgE, contribuyendo a la respuesta de tipo IgE. Los basófilos pueden ser abundantes en los infiltrados leucocitarios mediados por IgE en la mucosa de la nariz, senos, tracto respiratorio y piel y todos aquellos lugares particularmente predispuestos a sufrir condiciones alérgicas.

Ambos tipos de células son importantes en las reacciones de hipersensibilidad mediadas por las IgE. Son células efectoras en la hipersensibilidad inmediata tipo I, mediada por IgE. La liberación de sus gránulos y mediadores de la inflamación en el pulmón, por ejemplo, provoca secreción mucosa, acumulación de fluido seroproteínico en vías respiratorias, broncoconstricción y vasodilatación.

Las quimioquinas y citoquinas de ambos tipos celulares contribuyen al sistema inmune innato estimulando la quimiotaxis y la liberación de péptidos antimicrobianos. Los mediadores también mejoran la expresión de moléculas de adherencia en las células endoteliales de los vasos sanguíneos cercanos, lo que facilita que los leucocitos entren en el área afectada.

Neutrófilos

Los neutrófilos son normalmente el primer tipo celular leucocitario reclutado en el exudado inflamatorio. Su objetivo es (1) matar microbios, tales como bacterias, hongos, protozoos, y virus; (2) matar células tumorales; o (3) eliminar materiales extraños. Las actividades biológicas de los neutrófilos están diseñadas para destruir microbios mediante la degradación lisosomal pero, si la muerte no tiene éxito, pueden limitar el crecimiento de los microbios, dando tiempo a que se establezca la respuesta inmunológica adaptativa.

Los neutrófilos realizan dos funciones importantes para lograr sus efectos: (1) fagocitosis de los microbios o cuerpos extraños y (2) secreción y/o liberación

del contenido de sus gránulos dentro del exudado inflamatorio para mejorar la respuesta inflamatoria aguda.

Se producen en la médula ósea y circulan por el torrente sanguíneo. Su vida media en la sangre difiere entre especies oscilando entre 5 y 10 horas. Sin embargo, pueden vivir entre 1 y 4 días en el interior de los tejidos. En el interior de un foco inflamatorio los neutrófilos, y otros leucocitos, tienen que funcionar en situaciones de hipoxia lo que provoca la producción de factores (HIF-1 α) que inducen la transcripción de genes que promueven la fagocitosis, inhiben la apoptosis, liberan péptidos antimicrobianos y proteasas de los gránulos, liberación de citoquinas e inducen óxido nítrico sintasa (iNOS).

Los neutrófilos pueden internalizar grandes partículas de más de 0,5 micras de diámetro mediante fagocitosis, incluyendo microbios, cuerpos extraños, células senescentes y residuos. Aunque pueden fagocitar partículas no opsonizadas, la opsonización mejora considerablemente la eficacia de este proceso. Los neutrófilos tienen receptores para las opsoninas del complemento (CR1 y CR3) y receptores Fc (receptor γ Fc 1, IIA y IIIB) que se unen a fragmentos del complemento (C3b y C3bi) y a la porción Fc de las inmunoglobulinas como las IgG1 e IgG3. Estas uniones facilitan la fagocitosis y provocan la liberación de calcio del interior del retículo endoplásmico que induce la explosión respiratoria (oxidativa) que tiene como efecto la formación de radicales libres superóxido, que son empleados para matar a los microbios y degradar cuerpos extraños. Entre los compuestos originados destaca el peróxido de hidrógeno (agua oxigenada), ácido hipocloroso u óxido nítrico, potentes antisépticos naturales.

Los neutrófilos almacenan en su interior numerosas enzimas que intervienen en los procesos de destrucción y degradación como la mieloperoxidasa, que convierte el peróxido de hidrógeno en ácido hipocloroso; defensinas, catelicidinas y proteínas antimicrobianas, que forman poros en las membranas microbianas o lactoferrina, que secuestra el hierro libre inhibiendo el crecimiento de las bacterias fagocitadas. Todas estas enzimas también son liberadas al exterior de los neutrófilos favoreciendo la destrucción de los microbios. De hecho, si no son neutralizadas pueden llegar a dañar seriamente los tejidos. Para ello hay inhibidores de proteasas en el plasma que pasan a los tejidos cuando se producen los edemas inflamatorios.

Cuando los neutrófilos mueren pueden liberar trampas neutrofilicas extracelulares, denominadas NETs, compuestas principalmente por ADN embebido con péptidos antimicrobianos y proteínas y péptidos que incluyen lactoferrina,

gelatinasa, catelicidinas y defensinas α . Las NETs permiten atrapar y destruir bacterias. No obstante, algunas bacterias como *S. aureus* tienen enzimas (deoxiadenosina) que degradan NETs y así escapan de estas trampas induciendo, además, la muerte mediante apoptosis (por activación de la caspasa 3) de los leucocitos próximos.

Eosinófilos

Son células ligeramente más grandes que los neutrófilos y se caracterizan por poseer un núcleo normalmente bilobulado y grandes gránulos citoplasmáticos que poseen afinidad por el colorante eosina, lo que les da su nombre.

Los eosinófilos son reclutados desde el torrente sanguíneo al interior del tejido conectivo vascularizado en la mayor parte de los órganos como respuesta a la producción de sustancias químicas atrayentes presentes en alergias y enfermedades parasitarias.

Estas células poseen distintos tipos de gránulos que están repletos de proteínas básicas (proteína básica mayor, proteína catiónica eosinofílica, neurotoxina derivada de los eosinófilos y peroxidasa eosinofílica) que tiene efectos nocivos sobre los microbios, pero también son capaces de sintetizar citoquinas (IL1-IL6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-16, GM-CSF y TGF- α y β), quimioquinas, proteasas (histaminasa, arilsulfatasa, gelatinasa, etc.) y radicales oxidativos cuando son estimulados. Este elenco de mediadores es, a menudo, liberado en respuesta a infecciones helmínticas y, recientemente, los infiltrados eosinofílicos han sido implicados en la resistencia al desarrollo de determinados tipos de cáncer. Por otro lado, los productos de los eosinófilos pueden contribuir al daño de los tejidos en diferentes órganos, incluyendo los pulmones (asma), corazón, piel y tracto gastrointestinal.

El contenido de los gránulos de los eosinófilos se libera en respuesta a estímulos inflamatorios, de forma similar a lo que ocurre con los neutrófilos. Sin embargo, suelen producir un daño tisular mayor ya que los productos liberados degradan el colágeno, como ocurre en los granulomas eosinofílicos de gatos, caballos y perros.

Los principales quimioatrayentes para los eosinófilos son la histamina y el factor quimioatrayente eosinofílico A (de los mastocitos), C5a, citoquinas (IL-4, IL-5 e IL-13) y quimioquinas (CCL5) producidos por las células epiteliales, eosinófilos, mastocitos y helmintos. Esto justificaría que prácticamente todos los tumores de mastocitos en perro y algunos en gatos contienen eosinófilos.

Células asesinas naturales (“natural killer –NK–”) y linfocitos T asesinos naturales

Las células NK son células centinelas del sistema inmune que reciben esta denominación porque son capaces de destruir células tumorales y células infectadas por virus sin haber tenido un encuentro previo (y, por lo tanto, sin tener un reconocimiento previo) con ellas.

Entran en las regiones de inflamación aguda horas o incluso días después del inicio de la lesión. Las células NK destruyen a las células diana mediante la producción de poros provocados por la liberación de unas proteínas que se denominan perforinas y que se encuentran almacenadas en el interior de sus gránulos citoplasmáticos.

Las células NK expresan el CD161, una lectina tipo C, pero no expresan CD3, el antígeno típico de los linfocitos T. Se pueden diferenciar dos poblaciones de células NK: (1) el 95% de las células NK son tipo I y se caracterizan por expresar CD56 y producir interferón gamma (IFN- γ); y una pequeña proporción, tipo II, que no expresan CD56 y producen IL-4, IL-5 e IL-13 participando así en la respuesta T_H2.

Los linfocitos T NK son linfocitos T (expresan el antígeno CD3) que poseen propiedades tanto de las células T como NK. Cuando se activan inducen la liberación de IFN- γ , IL-4 y GM-CSF. Por ello pueden jugar un importante papel en el desarrollo de enfermedades autoinmunes.

Monocitos y macrófagos

Los macrófagos se originan de los monocitos derivados de la médula ósea los cuales circulan por la sangre. Alcanzan la lesión inflamatoria aguda aproximadamente a las 12-48 horas tras el inicio de la lesión, dependiendo del agente o sustancia que la desencadene. Los monocitos sanguíneos se transforman en macrófagos cuando pasan a los tejidos.

Hay dos tipos de macrófagos que podemos observar en los tejidos: macrófagos que residen dentro de un tejido/órgano específico (de forma libre o fijados al tejido) y macrófagos que derivan de los monocitos sanguíneos en respuesta a un estímulo inflamatorio y llegan al tejido afectado. Los macrófagos residentes forman el llamado sistema mononuclear fagocitario y engloba a los macrófagos presentes en tejido conectivo (histiocitos), hígado (células de Kupffer), pulmón (macrófagos alveolares e intravasculares), nódulos linfáticos, bazo, médula ósea, fluidos serosos (macrófagos pleurales y peritoneales), cerebro (células de la microglía), y piel (histiocitos).

Durante la inflamación los macrófagos expresan receptores (dominios Fc IgG, C3b) para mediadores químicos de la inflamación que estimulan actividades migratorias, quimiotácticas, pinocíticas y fagocíticas en respuesta a estímulos inflamatorios.

Una vez dentro de las lesiones inflamatorias, los receptores de los monocitos se unen con citoquinas, antígenos y otros estímulos que rápidamente activan la maduración del monocito a macrófago.

Los macrófagos funcionalmente son un componente del sistema inmune innato, en base al papel que juegan en la fagocitosis y liberación de citoquinas durante la respuesta inflamatoria aguda. Sin embargo, también son el principal desencadenante de la respuesta inmune adaptativa, por su capacidad para procesar y presentar los antígenos y regular la actividad de los linfocitos T. De hecho, se considera que los monocitos/macrófagos son la célula típica de la inflamación crónica. Los receptores Fc de los macrófagos y las células dendríticas se activan al unirse con inmunoglobulinas. Hay receptores Fc para IgM, IgA, IgG e IgE.

Los macrófagos, en los tejidos, pueden ser activados por estímulos no-inmunológicos como las endotoxinas o por citoquinas producidas por linfocitos T inmuno-activados. Los macrófagos activados son relativamente grandes (20-25 micras), con abundante y claro citoplasma y un único núcleo oval o poligonal ligeramente excéntrico. Los macrófagos activados pueden sufrir otra diferenciación y transformarse en macrófagos o células epitelioides o incluso en células gigantes multinucleadas como respuesta a la presencia de cuerpos extraños o a la presencia de patógenos intracelulares persistentes. Estas células son mucho más grandes que los macrófagos activados, con mayor citoplasma, con varios núcleos y con mayor capacidad de fagocitosis, en el caso de las células gigantes multinucleadas. Éstas pueden tener sus núcleos en el centro de la célula (célula multinucleada de cuerpo extraño) o alrededor, junto a la membrana celular, tomando la forma de una herradura (célula multinucleada de Langhans).

Linfocitos

Los linfocitos juegan un papel protagonista en la mayor parte de las lesiones inflamatorias crónicas, especialmente en las enfermedades autoinmunes y en las enfermedades donde hay antígenos persistentes. Como los macrófagos, los linfocitos entran en áreas de inflamación aguda no resueltas dentro de las primeras 24-48 horas, siendo atraídos por quimioquinas, citoquinas y otros estímulos. Microscópicamente suelen agregarse alrededor de los vasos sanguíneos y rodeando granulomas o distribuidos al azar dentro del tejido lesionado. En

encefalitis virales los linfocitos se distribuyen comúnmente adoptando un patrón perivascular, inicialmente en la materia gris. En otras enfermedades como la estomatitis linfoplasmocítica y pododermatitis de los gatos, los linfocitos y las células plasmáticas son las células principales en las lesiones.

Pueden diferenciarse dos tipos de poblaciones linfocitarias: T y B. Los linfocitos T, a su vez, pueden dividirse en linfocitos γ/δ y α/β . Los linfocitos γ/δ suelen ser los primeros linfocitos T que llegan a las lesiones de la inflamación crónica y pueden contribuir al desarrollo de granulomas. Esta característica ha sido bien estudiada en ganado vacuno en la formación de granulomas clásicos durante la infección por *Mycobacterium tuberculosis* o *M. bovis* y la formación de lesiones granulomatosas difusas en infecciones por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*.

Los linfocitos T α/β (CD4/CD8) penetran en las áreas de inflamación crónica y son fundamentales para la regulación del tipo de respuesta inmune adaptativa que se produce (respuestas crónicas T_H1 , T_H2 o T_H0 y/o formación de granulomas). Bajo la influencia de las citoquinas estos linfocitos pueden diferenciarse en (1) linfocitos memoria efectores que penetran en lugares de inflamación extralinfoides; y (2) linfocitos de memoria centrales, que colonizan la sangre y los órganos linfoides. Los linfocitos de memoria contribuyen a la persistencia de la respuesta inflamatoria crónica y la formación de granulomas.

Los linfocitos T tienen una relación recíproca con los macrófagos en la inflamación crónica, estimulándose entre sí, liberando mediadores inflamatorios que actúan sobre otras células (IFN- γ , IL-1 y TNF). Esta reciprocidad termina cuando desaparece el antígeno desencadenante o aparece un mecanismo modulador.

Los linfocitos B participan en la inflamación crónica principalmente de dos formas. (1) Pueden captar y presentar antígenos y (2) pueden diferenciarse en células plasmáticas productoras de inmunoglobulinas, que sintetizan anticuerpos que se unen y opsonizan antígenos facilitando su fagocitosis.

Células dendríticas

Este tipo de células juegan un papel central en el procesamiento y presentación de antígenos y en la estimulación de la inmunidad adaptativa. Funcionalmente sirven como células centinela y participan en la respuesta inmune adaptativa. Prácticamente todos los tejidos y órganos contienen células dendríticas; sin embargo, son más abundantes en los tejidos que cubren el cuerpo, como la piel y las membranas mucosas de los tractos respiratorio y alimentario. Aunque tienen

cierta semejanza con los macrófagos se ha demostrado que son diferentes. Las células dendríticas inmaduras (CD34+) migran a lugares de gran exposición a antígenos, captan antígenos y migran y maduran en un órgano linfoide en el cual presentan el antígeno a linfocitos T y B. Este proceso de migración está mediado por quimioquinas y moléculas de adhesión.

Células endoteliales

Aunque las células endoteliales no son realmente células efectoras defensivas, como las descritas con anterioridad, se han añadido porque juegan un importante papel en la inflamación. Son las células que forman las paredes internas de los vasos sanguíneos y, por lo tanto, separan la sangre y el tejido circundante. Desarrollan un papel extremadamente sofisticado en la regulación de diferentes procesos como la hemostasis/coagulación, presión vascular, angiogénesis en la reparación de heridas, carcinogénesis, traslado de leucocitos e inflamación.

Bajo condiciones fisiológicas permiten el paso a través de su citoplasma (transcitosis) dentro de pequeñas vesículas de diferentes sustancias (albúmina, lipoproteínas de baja densidad, metaloproteinasas e insulina). También permiten el paso para-celular (entre las uniones celulares) de agua e iones cuando se produce una contracción celular de forma secundaria a estímulos fisiológicos y/o mediadores inflamatorios. De esta forma, durante la inflamación, permiten la salida de líquido y la formación de edemas en los tejidos extravasculares.

Intervienen en la regulación del tono vascular mediante la producción de moléculas vasoconstrictoras (p. ej. Angiotensina II) y vasodilatadoras (NO o PGI₂). Una vez activadas, además de estos mediadores químicos, también expresan moléculas de adhesión y receptores como las selectinas E y P; y ligandos para la selectina L; PECAM-1; JAM A, B y C y la superfamilia de inmunoglobulinas ICAM-1. Todas estas moléculas de adhesión sirven como ligandos para la adherencia leucocitaria.

Al inicio de la inflamación las células endoteliales también producen sustancias procoagulativas que facilitan la coagulación de la sangre.

Mediadores de la inflamación

Al igual que los ejércitos han desarrollado a lo largo de los siglos el empleo de señales (banderas, cuernos, tambores, mensajes de radio, etc.) para coordinar sus ataques y estrategias, nuestro sistema defensivo utiliza una serie de compuestos químicos llamados mediadores de la inflamación. La actividad y acontecimientos celulares que acabamos de describir están dirigidos y coordinados

por una serie de mediadores químicos que poseen las siguientes características generales:

1. Pueden estar circulando en el plasma sanguíneo (p. ej., complemento, cininas, factores de la coagulación). Estos mediadores se sintetizan en el hígado como precursores inactivos.
2. Puede producirse localmente por células del foco inflamatorio. En este caso los mediadores están encerrados en gránulos intracelulares (p. ej., histamina de los mastocitos) o se sintetizan *de novo* (p. ej., prostaglandinas) en respuesta a un estímulo.
3. Para realizar su actividad biológica pueden (1) unirse a receptores de células diana (más frecuente), (2) tener actividad enzimática, tóxica o ambas.
4. Pueden estimular la liberación de moléculas efectoras secundarias que modulan (aumentan o disminuyen) la respuesta.
5. Pueden actuar específicamente sobre un tipo celular o a nivel generalizado.
6. Se suelen degradar con rapidez debido a su gran capacidad para producir efectos nocivos en el organismo.

Existe una gran variedad de mediadores de la inflamación (proteasas plasmáticas, como los sistemas de cininas –bradicinina–, de la coagulación –trombina, fibrina, plasmina– o del complemento –C3–; aminas vasoactivas, como la histamina y serotonina; metabolitos del ácido araquidónico, como las prostaglandinas, leucotrienos y factor activador de plaquetas; óxido nítrico y radicales libres derivados del oxígeno; citoquinas, como la IL-1 y el TNF; y proteínas de fase aguda).

Conociendo a tu enemigo

Es muy importante conocer bien los agentes etiológicos que pretenden invadirnos, qué vías de entrada suelen utilizar y qué mecanismos de virulencia emplean, con el objetivo de prevenir, en la medida de lo posible, su invasión y diseminación.

Causas de la inflamación

Las causas que pueden desencadenar una respuesta inflamatoria son muy numerosas: físicas (traumatismos, radiaciones, calor, frío, etc.); químicas (agentes orgánicos e inorgánicos); inmunológicas (inmunocomplejos, respuestas mediadas por células, etc.); y biológicas (bacterias, virus, hongos, parásitos y toxinas).

En esta clase magistral nos centraremos en la respuesta inflamatoria desencadenada por la invasión del organismo por agentes biológicos, principalmente microbios (bacterias). No obstante, la respuesta que generan todas las causas anteriormente mencionadas es, a grandes rasgos, similar y tienen lugar tanto en animales como en humanos, con ciertas particularidades.

Patogenicidad bacteriana

La patogenicidad es la habilidad que tiene un agente etiológico (por ejemplo, una bacteria) para causar enfermedad. La patogenicidad de una bacteria está regulada por sus factores de virulencia. De forma resumida, los factores de virulencia son moléculas (glicoproteínas y glicolípidos), derivadas de genes bacterianos, que permiten a las bacterias matar células fagocitarias, bloquear la fagocitosis, impedir la fusión de los lisosomas, evitar su muerte dentro de los fagocitos y mejorar su replicación dentro de los fagocitos. Por lo tanto, su expresión permite a las bacterias adherirse y colonizar la piel y mucosas, infectar células, crecer y replicarse y causar muerte celular (necrosis) de forma exitosa.

De esta forma, gracias a los factores de virulencia, los microbios inhiben las respuestas inmunes innata y adaptativa, permitiendo a la bacteria evadir los mecanismos de defensa y también proliferar en un ambiente hostil.

Otras circunstancias que indirectamente pueden influir en el éxito de los factores de virulencia bacterianos incluyen estrés físico y medio ambiental, como el clima, acceso a comida y agua, manejo (transporte) o condiciones de alojamiento (ventilación, humedad y masificación).

Portales de entrada

Los portales de entrada son los accesos que emplean los microbios para entrar en el interior del cuerpo del animal. Los principales son las mucosas de los sistemas alimentario, respiratorio y urogenital; la piel; el oído y el ojo. En numerosas ocasiones, las células del portal de entrada no coinciden con las células diana sobre las que la bacteria ejerce su efecto patogénico. Por ejemplo, en la disentería porcina (*Brachyspira hyodysenteriae*) la bacteria entra por el sistema alimentario pero sus células diana están localizadas en la mucosa (células caliciformes)

del colon y ciego y, por lo tanto, el microbio debe viajar una gran distancia hasta alcanzarlas.

Día 0. Primeras 6 horas. ¡Nos atacan! Inflamación sobreaguda (congestión y edema)

Adhesión, colonización, toxigénesis e invasión son procesos que ocurren durante el encuentro inicial entre las bacterias y las células de las mucosas o piel en los portales de entrada.

En este punto inicial, los animales poseen varios mecanismos defensivos para evitar la adhesión bacteriana, como la descamación y reemplazo continuo de las células de la piel y las mucosas (cada 48 horas), peristaltismo y ondulaciones mucociliares unidireccionales.

Las bacterias tienen que evadir todos estos mecanismos para poder adherirse, colonizar (replicarse) e invadir el organismo. Para ello las bacterias se adhieren mediante la producción de una serie de proteínas de membrana, denominadas adhesinas, que se unen a receptores situados sobre la superficie de las células de la mucosa y piel. Algunas bacterias emplean extensiones de sus membranas celulares denominadas fimbrias o pili, que también poseen adhesinas, para unirse a las células animales. Por ejemplo, en el intestino delgado, la adhesión mediante el pilus K99 permite a *Escherichia coli* adherirse a los enterocitos y reducir su pérdida en número debido al peristaltismo intestinal.

Cuando los microbios penetran por los portales de entrada, normalmente en mucosas o piel, y se encuentran inicialmente con las células y tejidos, la colonización (infección) dependerá del establecimiento de una “cabeza de playa”, donde se genere un número suficiente de bacterias, que permita el establecimiento, mantenimiento, amplificación y, si es necesario, la diseminación del microbio. Tras la colonización, las bacterias producen otro grupo de factores de virulencia denominados invasinas o factores de diseminación.

Las invasinas permiten a la bacteria su rápida diseminación dentro y a través de los espacios intercelulares y protegerse en áreas seguras, como la lámina propia, aisladas de ambientes desfavorables o de moléculas defensivas derivadas del hospedador.

Por lo tanto, una vez producida una brecha en el sistema de barreras (Ej., piel) se facilita la entrada de bacterias (Ej., *S. aureus*) a tejidos más profundos como la dermis. Los mastocitos, situados estratégicamente alrededor de los vasos

sanguíneos, dan la voz de alarma y se inicia la respuesta inflamatoria aguda con el propósito de diluir y aislar los microbios para facilitar su destrucción. *“Si puedes atacar unos pocos soldados con muchos, diezmarás el número de tus adversarios”* (Sun Tzu, *El arte de la guerra*).

La degranulación de los mastocitos provoca la liberación de sus mediadores químicos preformados (principalmente histamina y leucotrienos) que ejercen su acción sobre los vasos sanguíneos (células endoteliales) provocando una serie de fenómenos vasculares:

1. Cambios del calibre vascular (vasodilatación) e incremento del flujo sanguíneo.

Tras una vasoconstricción transitoria (segundos) se produce una vasodilatación arteriolar, lo que da lugar a un aumento del riego sanguíneo local. Esto genera un enrojecimiento (eritema y rubor) y un aumento de la temperatura (calor).

2. Aumento de la permeabilidad vascular.

El aumento del flujo sanguíneo provoca un incremento de la presión hidrostática intravascular que genera la salida de líquido al exterior del vaso (trasudado). Al mismo tiempo, las células endoteliales de las vénulas, que poseen receptores a la histamina, bradiquinina y leucotrienos que han liberado los mastocitos, se contraen generando hendiduras entre ellas. Las hendiduras permiten la salida, al exterior del vaso, de líquidos, proteínas (fibrinógeno) e incluso células (exudado). Se trata de un proceso reversible que puede durar unos minutos o hasta 24 horas, según qué mediadores intervengan (TNF o IL-1). La salida de proteínas al tejido extravascular provoca un incremento de la presión oncótica tisular que atrae más líquido de los capilares sanguíneos dando lugar a un edema inflamatorio.

El objetivo de la producción del líquido de edema es diluir y, por lo tanto, aislar a las bacterias para facilitar su destrucción. Además, las proteínas extravasadas (fibrinógeno) al salir de los vasos se coagulan y forman una red proteica de fibrina que atrapa a las bacterias.

Se observan, clínicamente, los signos de Celso: Rubor y calor (por el incremento de flujo sanguíneo), tumor (aumento del tamaño, por el mayor flujo y los edemas) y dolor (liberación de mediadores de la inflamación).

Días 1-3. ¡A las armas! Llegada de las primeras células defensivas, los neutrófilos. Inflamación aguda

A partir de las 6 horas y alcanzando su máxima expresión a las 24-48 horas, tienen lugar una serie de acontecimientos celulares que tienen como finalidad el envío de la primera fuerza de choque del sistema defensivo, los neutrófilos, cuyo fin último es engullir (fagocitar) y matar a las bacterias invasoras.

Marginación y rodamiento

La dilatación de los vasos y el consiguiente mayor flujo de sangre en la zona inflamada permite la llegada de un mayor número de células defensivas. Además, la salida de líquidos hace que la sangre sea más densa (viscosa) y circule con mayor lentitud en la zona afectada. Esto provoca que los leucocitos (neutrófilos), que habitualmente circulan a gran velocidad por el centro del vaso, choquen con los glóbulos rojos y desvíen su trayectoria (marginación) hacia las paredes de las vénulas y capilares.

Los neutrófilos, en las paredes de los vasos, comienzan a rodar y a disminuir su velocidad (alrededor de 40 cm/seg³; una célula sanguínea tarda entre 20 y 60 segundos en dar una vuelta al circuito sanguíneo) gracias al establecimiento de una serie de uniones receptor-ligando muy laxas y transitorias que se establecen entre la superficie del neutrófilo y de las células endoteliales. Estas uniones tienen lugar por la expresión de una serie de proteínas de superficie denominadas selectinas (E, L y P) que, en las células endoteliales, está estimulada por los mediadores químicos producidos por los mastocitos.

Adherencia y transmigración

La velocidad de los neutrófilos ha disminuido considerablemente, pero deben pararse por completo. Para ello, los neutrófilos establecen uniones más fuertes empleando otras proteínas de superficie presentes tanto en los leucocitos (integrinas) como en las células endoteliales (inmunoglobulinas: ICAM, molécula de adherencia intercelular o VCAM-1, molécula de adherencia a células vasculares).

La expresión de ambos tipos de proteínas de superficie está estimulada por la producción previa de citoquinas (TNF e IL-1). Además, la producción de sustancias quimiotácticas en el foco inflamatorio facilita el cambio de conformación que tienen que sufrir las integrinas para ser plenamente funcionales.

³ Velocidad sanguínea medida en la arteria aorta.

Una vez que los neutrófilos se han parado por completo deben atravesar la pared de los vasos para alcanzar la matriz extracelular. Para ello emplean, inicialmente, unas proteínas de superficie denominadas PECAM-1 (inmunoglobulinas CD31+) que les permite, a modo de brazos, deslizarse entre las células endoteliales. Éstas descansan sobre una membrana basal que los leucocitos, en una segunda fase, también tiene que atravesar. Para ello producen una enzima (colagenasa) que digiere esta última barrera antes de llegar al tejido extravascular.

Quimiotaxis y activación

Tras salir de los vasos, los neutrófilos se desplazan hacia el lugar de la lesión atraídos por una serie de compuestos quimiotácticos de origen exógeno y endógeno: productos bacterianos solubles, componentes del sistema de complemento (C5a), productos del metabolismo del ácido araquidónico (LT B4) y citoquinas (IL-8).

Las moléculas quimiotácticas se unen a receptores específicos sobre la superficie del leucocito, provocando su activación, mediada por la proteína G de la fosfolipasa C. Este hecho desencadena una sucesión de acontecimientos que provocan el incremento de calcio intracelular (tanto procedente del retículo endoplásmico, como del exterior celular) que desencadenan el ensamblaje de los elementos contráctiles citoesqueléticos necesarios para el movimiento por pseudópodos.

La dirección del movimiento depende de la mayor densidad de interacciones entre receptores y ligandos quimiotácticos en el borde de avance celular.

Las sustancias quimiotácticas inducen otras respuestas en los leucocitos, conocidas como activación leucocítica: (1) desgranulación y secreción de enzimas lisosómicas, (2) producción de metabolitos del ácido araquidónico y (3) modulación (aumento o disminución de número y afinidad) de las moléculas de adherencia leucocítica.

Fagocitosis y desgranulación

Una vez que los neutrófilos, u otras células fagocitarias, llegan al foco de inflamación su objetivo es fagocitar (engullir) al agente causal que ha generado la infección. Únicamente acabando con la causa puede desaparecer la inflamación. En este proceso se distinguen tres etapas:

1. Reconocimiento y unión de la partícula al leucocito.

Aunque las células fagocitarias pueden fagocitar directamente cuerpos extraños o microbios, la fagocitosis es más eficiente si éstos se encuentran recubiertos de una serie de moléculas que el fagocito es capaz de reconocer por sus receptores de superficie. A estas moléculas se les denomina opsoninas y al proceso de recubrimiento, opsonización. Las opsoninas son proteínas del suero sanguíneo que se unen a moléculas de superficie de las bacterias y facilitan la unión a receptores de opsoninas de los leucocitos. Los tipos de opsoninas más importantes son Ig G, fragmento C3b del complemento y colectinas.

2. Ingestión o atrapamiento con formación de vacuolas fagocíticas.

En esta etapa los fagocitos emiten prolongaciones citoplasmáticas, denominadas pseudópodos, que rodean la bacteria y se fusionan formando una vacuola fagocítica o fagosoma.

Los lisosomas son vesículas que tienen las células fagocitarias en su interior (citoplasma) y que contienen un amplio arsenal de enzimas y moléculas tóxicas para las bacterias. Una vez formado el fagosoma se fusionan con los lisosomas, formándose un fagolisosoma, donde el contenido del lisosoma entra en contacto con la bacteria provocando su lisis o destrucción.

3. La muerte y destrucción de las bacterias.

La destrucción microbiana se efectúa principalmente mediante radicales reactivos de oxígeno: ión superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), etc. Los lisosomas de los neutrófilos (gránulos azurófilos) contienen una enzima (mieloperoxidasa) que convierte el H_2O_2 , en presencia de Cl^- , en radical hipocloroso ($HOCl$), que es un antimicrobiano muy potente.

Otros componentes de los gránulos leucocíticos con capacidad para matar bacterias y otros agentes infecciosos son la proteína bactericida, que incrementa la permeabilidad; la lisozima, que degrada el revestimiento bacteriano; la proteína básica mayor, tóxica para parásitos o las defensinas, que agujerean membranas microbianas.

A pesar de todo lo anteriormente expuesto, en ocasiones, estos procesos no son eficaces y los microbios sobreviven. Esto suele deberse, como se ha explicado anteriormente, a la acción de los factores de virulencia bacterianos. Su expresión permite a las bacterias alterar los mecanismos de reconocimiento y destrucción bacteriana pudiendo llegar a replicarse en el interior de los fagocitos (Ej., *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*).

Por lo tanto, según el número y tipo de factores de virulencia que posean las bacterias invasoras provocarán que el proceso inflamatorio se prolongue y sea necesaria la intervención de más células inflamatorias y nuevos mecanismos defensivos.

El incremento leve y controlado de la temperatura corporal (fiebre), por ejemplo, es un mecanismo defensivo, desencadenado por la producción de citoquinas (IL-1, TNF e IL-6) y prostaglandinas (PGE₂), que tiene dos efectos beneficiosos para la lucha contra las infecciones bacterianas. Por un lado, mejora el funcionamiento de los leucocitos produciéndose una fagocitosis más eficiente; y por otro, disminuye la capacidad de las bacterias para adquirir y asimilar el hierro, un elemento fundamental para su funcionamiento. Cuando la fiebre es elevada, los efectos beneficiosos desaparecen y puede ocasionar la muerte del individuo.

Días 3-4. ¡Llegan refuerzos! La caballería pesada. Inflamación subaguda

La persistencia del foco inflamatorio, asociada a una resistencia de los microbios invasores debida a una relativa ineficacia de la respuesta inmune innata (neutrófilos, mastocitos, células NK, etc.) hace necesario la intervención de la respuesta inmune adquirida con la llegada estelar de los macrófagos, acompañados de numerosos linfocitos.

Los macrófagos circulan en la sangre a gran velocidad en forma de monocitos y salen de los vasos sanguíneos, atraídos por diversos agentes quimiotácticos producidos en el foco inflamatorio, mediante diapedesis, de forma similar a como ocurría con los neutrófilos.

Una vez que los monocitos salen de los vasos sanguíneos y pasan a la sangre se activan y transforman en macrófagos. Esta activación está regulada por diversos estímulos que provocan un diferente comportamiento del macrófago. De forma clásica los linfocitos T activados por los compuestos liberados en el foco inflamatorio, producen interferón gamma lo que transforma al monocito en un macrófago, que posee un mayor tamaño y capacidad fagocitaria orientada a la destrucción del agente etiológico. El macrófago produce especies reactivas del oxígeno y nitrógeno, proteasas, citoquinas y quimioquinas, factores de la coagulación y metabolitos del ácido araquidónico. También expresa el antígeno MHC II, facilita la explosión respiratoria, libera IL-1 y TNF para la destrucción

de bacterias (y activación de los linfocitos circundantes, generando un círculo vicioso de activación linfocito-macrófago) y estimula la hipersensibilidad retardada.

Aun así, algunos microbios son capaces de sobrevivir a la acción de los macrófagos. Un ejemplo es la bacteria *Rhodococcus equi*, que provoca una grave neumonía en caballos, tras ser inhalados y quedar atrapados en el moco de las vías respiratorias, son fagocitados por los macrófagos asociados a mucosas y transportados (a modo de caballo de Troya) por el tráfico leucocitario al tejido linfoide local de los pulmones y a los nódulos linfáticos traqueobronquiales regionales.

Días 5-7. La batalla se dilata. Inflamación crónica

Tras una infección bacteriana, que ha afectado a varios animales de un rebaño, no todos los individuos responden de la misma forma y existen numerosos condicionantes que pueden, como se ha indicado en la introducción, inclinar la balanza hacia el lado del microbio o del hospedador.

En algunos individuos pueden resolverse la infección por completo, en otros pueden quedar secuelas, en forma de abscesos o cicatrices, mientras que en otros la infección puede perdurar en el tiempo y dar lugar a una inflamación crónica. Esta opción es la menos deseable. *“No hay ningún país que se haya beneficiado por guerras prolongadas”* (Sun Tzu, *El arte de la guerra*).

Por lo tanto, existen varias posibles evoluciones del proceso inflamatorio:

Resolución. Cuando se produce un restablecimiento de la normalidad histológica y funcional. Esto ocurre cuando:

1. La lesión es limitada o de duración breve.
2. Cuando no hay destrucción de tejido o es mínima.
3. Cuando el tejido es capaz de sustituir a las células muertas o lesionadas irreversiblemente.

En estos casos se produce la eliminación del agente lesivo, de los mediadores y células de la inflamación aguda y la sustitución de las células lesionadas permite la vuelta a la funcionalidad normal del órgano o tejido afectado.

Formación de un absceso. Cuando se ha producido un infiltrado neutrofílico muy abundante o en infecciones provocadas por agentes piógenos (p. ej., *S. aureus*) las lesiones evolucionan hacia la formación de abscesos. Estas lesiones nunca se regeneran ya que la eliminación de enzimas por parte de los neutrófilos

provoca una gran destrucción de los tejidos y siempre evolucionan hacia una cicatrización.

Cicatrización o fibrosis. Cuando la destrucción del tejido es muy importante (p. ej., un absceso) o se afectan tejidos que no tienen capacidad de regeneración (p. ej., infarto cardiaco) se genera una cicatriz. Si durante la inflamación se producen exudados fibrinosos extensos (por una mayor permeabilidad vascular) pueden no reabsorberse por completo y organizarse por la penetración de elementos del tejido conjuntivo produciendo fibrosis.

Inflamación crónica. Se caracteriza porque es un proceso prolongado en el tiempo (semanas, meses o años) donde, de forma simultánea, se observa una inflamación activa, donde la célula más abundante es el macrófago, con lesión de tejidos y fenómenos de reparación (fibrosis y neovascularización). Está causada por un estímulo inflamatorio persistente (microbios, cuerpos extraños, reacciones inmunes, etc.) que estimula la inmunidad innata y adquirida. Con el tiempo, si las lesiones en los tejidos son muy extensas, se produce una cicatriz o puede regenerarse, si el agente causante es finalmente eliminado y las lesiones no son excesivamente graves.

En ocasiones, cuando se produce una activación persistente mediada por linfocitos T frente a ciertos microorganismos (p. ej., micobacterias) o cuerpos extraños (p. ej., granulomas de cuerpo extraño) se genera un tipo especial de inflamación crónica que se denomina inflamación granulomatosa. Se caracteriza por la presencia de macrófagos especiales (células epitelioides y células gigantes multinucleadas) que no suelen destruir al agente infeccioso pero se forma un granuloma que lo rodea y encierra, como si fuera una prisión, evitando su diseminación. Posee una morfología particular caracterizada por un núcleo de necrosis, rodeado por macrófagos activados, células epitelioides y células gigantes multinucleadas, rodeadas de linfocitos y un ribete de fibroblastos y tejido conectivo (p. ej., granulomas tuberculosos, parasitarios, cuerpos extraños, etc.).

Fin de la invasión

Una vez muertas todas las bacterias, al no producirse nuevos mediadores, comienzan los mecanismos de resolución de la inflamación. La permeabilidad vascular vuelve a la normalidad, por lo que deja de salir líquido y proteínas. El líquido de edema y las proteínas de los tejidos son drenados por los vasos linfáticos y retirados por los macrófagos mediante pinocitosis. Todas las células defensivas y células muertas son fagocitadas por los macrófagos del foco inflamatorio

que también producen factores de crecimiento que inician la reparación y, finalmente, los macrófagos se retiran y desaparecen.

Guerra química. Administración de antibióticos

En ocasiones, cuando la respuesta inflamatoria no está resultado eficaz, los médicos (veterinarios o humanos) la refuerzan con la administración de fármacos que poseen un efecto específico contra las bacterias, los antibióticos. Esta ha sido la principal herramienta de lucha antibacteriana desde la II Guerra Mundial. No obstante, su utilización injustificada tanto en medicina humana como veterinaria, no respetando las pautas de administración indicadas por los profesionales sanitarios y empleándolos masivamente como promotores de crecimiento, en animales, ha generado la aparición de resistencias bacterianas a estos fármacos, neutralizando su efecto.

Resistencia a antibióticos

La resistencia antibiótica implica la habilidad de las bacterias a sobrevivir a los efectos de los antibióticos. Esto involucra la selección natural de genes bacterianos mutados al azar. Estos genes codifican moléculas bacterianas (p. ej., factores de virulencia) que causan resistencia mediante cuatro mecanismos:

4. Desactivación enzimática del antibiótico, mediante su inactivación o modificación.
5. Alteración de los lugares de unión de los antibióticos.
6. Alteraciones de las rutas metabólicas.
7. Reducción de la acumulación de antibióticos en la bacteria mediante la disminución de la permeabilidad de la membrana bacteriana a los antibióticos y/o mejorando el flujo de expulsión de antibióticos a través de bombas de membrana.

Este problema afecta a multitud de géneros bacterianos algunos de ellos muy patógenos para la especie humana y frente a los cuales prácticamente casi nos hemos quedado sin herramientas terapéuticas a nivel hospitalario.

Un ejemplo de esta situación la tenemos con la bacteria *S. aureus* donde cepas resistentes a la meticilina (MRSA) se han diseminado por la mayor parte de los hospitales humanos desde la segunda mitad del siglo XX y actualmente se consideran endémicas en todos los hospitales de los países desarrollados. En 2005

aparecieron también este tipo de cepas resistentes, asociados a la ganadería (LA-MRSA), inicialmente en cerdos, después en caballos, vacas y pollos y, recientemente nuestro grupo de investigación también ha descrito nuevas cepas LA-MRSA en conejos.

Cómo es posible que se haya llegado a esta situación y qué mecanismos emplean las bacterias para hacerse resistentes

Lo primero que hay que comprender es que los factores de virulencia que confieren resistencia a los antibióticos están codificados en genes que se encuentran en: (1) ADN cromosomal, (2) ADN de bacteriófagos o (3) en plásmidos bacterianos. Estos genes pueden ser transferidos entre bacterias del mismo o diferente género mediante mecanismos de transferencia genética vertical y horizontal.

1. *Transferencia genética vertical.* Es un proceso por el cual una bacteria pasa sus factores de virulencia (p. ej., resistencia a antibióticos) a su descendencia (reproducción asexual) durante la replicación de su ADN. Esto hace que su descendencia sea totalmente resistente a un antibiótico.
2. *Transferencia genética horizontal.* Las bacterias también pueden transferir sus genes de resistencia a antibióticos entre bacterias.
 - Conjugación. Paso de plásmidos⁴ entre bacterias tras producirse un contacto directo entre ellas. Es la forma más frecuente.
 - Transformación. Adquisición de ADN con genes de resistencia a antibióticos que están libres en los fluidos extracelulares tras la muerte de la bacteria que los contenía.
 - Transducción. Virus específicos de bacterias (bacteriófagos) transfieren ADN entre dos bacterias íntimamente relacionadas.

La tasa de mutación espontánea de resistencia a antibióticos es aproximadamente de 1×10^8 a 1×10^9 . Esto quiere decir que una de cada 100 o 1000 millones de bacterias de una infección desarrolla resistencias mediante mutaciones. Aparentemente no parece muy elevada, pero hay que tener en cuenta que el tiempo que una bacteria tarda en dividirse o una colonia bacteriana en duplicar su número (*tiempo de generación*) puede llegar a ser de unos 15 minutos.

⁴ Los plásmidos son grupos de genes extracromosomales con capacidad de autoreplicación que codifican genes de virulencia y están localizados en el citoplasma bacteriano.

En un organismo vivo, empleando un modelo cunícola experimental desarrollado por nuestro grupo en la CEU-UCH, hemos comprobado que tras infectar la dermis con 300 bacterias de *S. aureus*, a las 12 horas recuperamos 11 millones y a los 3 días, tras interactuar con el sistema inmune, se pueden llegar a recoger de la lesión más 500 millones de bacterias.

Por lo tanto, aunque las mutaciones genéticas asociadas a la resistencia a antibióticos son muy raras, los tiempos de generación bacterianos son tan rápidos que la probabilidad de aparición de cepas resistentes a antibióticos no es despreciable.

Además, el empleo de antibióticos constituye una forma de presión ambiental para las bacterias; aquellas que tienen una mutación genética favorable (p ej., factores de virulencia para la resistencia a antibióticos) sobreviven a la terapia y continúan su multiplicación.

En resumen, la resistencia a los antibióticos, en un ambiente de gran presión antibiótica, constituye una ventaja evolutiva para las bacterias. Por ello, únicamente aquellas bacterias que posean los genes que confieren resistencia antibiótica van a sobrevivir y el resto de las bacterias morirán. De esta forma, el empleo inadecuado y desmesurado de antibióticos lo que realmente está provocando es un estímulo para que las bacterias se transmitan genes de resistencia y se está seleccionando a aquellas bacterias más resistentes.

La situación es de tal calado que la Comisión Europea activó un protocolo de actuación para la reducción del empleo de antibióticos en todos los países europeos. En España, uno de los países con mayores tasas de empleo de antibióticos de Europa, este plan de reducción (llevado a cabo por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios) está siendo todo un éxito y, por ejemplo, microorganismos resistentes a la colistina, hace unos años, han vuelto a ser sensibles.

Aclaraciones finales

El descubrimiento de los antibióticos ha sido, sin lugar a duda, uno de los más grandes descubrimientos de la Humanidad. Siguen siendo plenamente útiles y, actualmente, insustituibles. Por lo tanto, los planes de reducción de antibióticos no implican su eliminación (tampoco en medicina veterinaria) sino un empleo más racional y orientado al tratamiento terapéutico.

En ningún caso, ya que no está permitido por la legislación europea ni española, puede haber presencia de antibióticos en la carne destinada a consumo humano. Por ello la carne, de cualquier especie animal, que llega al consumidor siempre ha estado libre de estos fármacos y ha sido y es sanitariamente saludable. Este hecho está garantizado por la inspección sanitaria y labor que realizan los veterinarios.

Bibliografía

AIRES-DE-SOUSA, M. (2016). "MRSA among animals: current overview". *Clinical Microbiology and Infection* 23(6): 373-380.

CORPA, J. M., HERMANS, K., HAESEBROUCK, E. (2009). "Main pathologies associated with *Staphylococcus aureus* infections in rabbits: a review". *World Rabbit Science* 17: 115-125.

COTRAN, R. S., KUMAR, V., COLLINS, T. (2000). "Patología estructural y funcional". 6ª ed. Editorial McGraw-Hill Interamericana. Madrid. España.

FEYNMAN, R. (1970). "The Feynman lectures on physics". Vol I. Addison Wesley Longman. EE. UU.

KUMAR, V., ABBAS, A. K., FAUSTO, N., ASTER, J. C. (2010). "Robbins and Cotran pathologic basis of disease". 8ª ed. Editorial Elsevier. Philadelphia. EE. UU.

LORENTE-MÉNDEZ, C.; MARTÍNEZ, C. M., CORPA, J. M. (2009). "Pathology in practice. Systemic cryptococcosis caused by *C. neoformans* and concomitant severe pulmonary aelurostrongylosis". *Journal of the American Veterinary Medical Association* 235 (12): 1407-1409.

MCGAVIN, D., ZACHARY, J. F. (2007). "Pathologic basis of veterinary disease". 4ª ed. Editorial Mosby Elsevier. St. Louis. EE. UU.

MORENO-GRÚA, E., PÉREZ-FUENTES, S., MUÑOZ-SILVESTRE, A., VIANA, D., FERNÁNDEZ-ROS, A. B., SANZ-TEJERO, C., CORPA, J. M., SELVA, L. (2018). "Characterization of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates obtained from commercial rabbitries located in the Iberia Peninsula". *Frontiers in Microbiology*. 9: 1812.

MUÑOZ-SILVESTRE, A. (2018). "Caracterización inmunopatológica de un modelo de infección experimental intradérmica por *Staphylococcus aureus* en conejos". Tesis doctoral.

ORTEGA, J., CORPA, J. M., ORDEN, J. A., BLANCO, J., CARBONELL, M. D., GERIQUE, A. C., LATIMER, E., HAYWARD, G. S., ROEMMELT, A., KRAMER, T., ROMÉY, A., KASSIMI, L. B., CASARES. (2015). "Acute death associated with *Citrobacter freundii* infection in an African elephant (*Loxodonta africana*)". *Journal of the Veterinary Diagnostic Investigation* 27(5): 632-636.

ROSELL, J., BARRAGÁN, A., CARBONELL, M. D., GERIQUE, C., FERNÁNDEZ, M., PÉREZ, V., CASARES, M., VIANA, D., SELVA, L., ORTEGA, J., CORPA, J. M. (2019). "Pathology in practice. Ulcerative dermatitis and septicemia associated with *Mycobacterium avium* subsp. *avium* and *Citrobacter braakii* co-infection in a Nile crocodile (*Crocodylus niloticus*)". *Journal of the American Veterinary Medical Association*. Aceptado para su publicación.

SEGURA, P., MARTINEZ, J., PERIS, B., SELVA, L., VIANA, D., PENADES, J. R., CORPA, J. M. (2007). "Staphylococcal infections in rabbit does on two industrial farms". *Veterinary Record* 160(25): 869-872.

SLAUSON, D. O., COOPER, B. J. (2002). "Mechanisms of disease. A textbook of comparative general pathology". 3ª ed. Editorial Mosby. St. Louis. EE. UU.

TZU, S. (2012). "El arte de la guerra, traducción y comentarios del grupo Denma". Edaf editorial. Madrid. España.

VIANA, D., SELVA, L., CALLANAN, J. J., GUERRERO, I., FERRIAN, J., CORPA, J. M. (2011). "Strains of *Staphylococcus aureus* and pathology associated with chronic suppurative mastitis in rabbits". *The Veterinary Journal* 190 (3): 403-407.

VIANA, D., SELVA, L., PENADÉS, M., CORPA, J. M. (2015). "Screening of virulence genes in *Staphylococcus aureus* isolates from rabbits". *World Rabbit Science* 23: 185-195.

VIANA, D., SELVA, L., SEGURA, P., PENADÉS, J. R., CORPA, J. M. (2007). "Genotypic characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from rabbit lesions". *Veterinary Microbiology* 121: 288-298.

ZACHARY, J. F., MCGAVIN, D. (2011). "Pathologic basis of veterinary disease". 5ª ed. Editorial Mosby Elsevier. St. Louis. EE. UU.

Juan Manuel Corpa Arenas (Cuenca, 1971) es Profesor Catedrático de Histología y Anatomía Patológica de la Universidad CEU Cardenal Herrera desde 2012 aunque fue contratado, como Profesor Titular, en 1999. Es licenciado en Veterinaria por la Universidad Complutense de Madrid (1995) y doctor en Veterinaria por la Universidad de León (1999). Su trabajo de tesis doctoral (“Aspectos inmunopatológicos de la paratuberculosis de los pequeños rumiantes. Respuesta inmune asociada a la vacunación”) obtuvo el Premio Extraordinario de Doctorado. Ha completado su formación docente e investigadora en diversos centros de investigación y Universidades (Moredun Research Institute de Edimburgo, Universidades de Pisa, Bolonia, Dublín y Davis –California, EE.UU.–).

Ha desarrollado una intensa actividad investigadora en el ámbito de la Sanidad Animal sobre todo en el campo de la patología cunícola, habiendo dirigido 7 proyectos de investigación del MINECO/GVA, 10 de la CEU-UCH y 10 convenios con empresas; ha publicado 152 documentos científicos (54 en revistas internacionales recogidas en el Journal Citation Report, 50 en revistas nacionales de índole profesional o de difusión científica y 48 aportaciones a congresos publicados en extenso) y 1 libro. Además, ha participado en 141 comunicaciones en congresos nacionales e internacionales; ha dirigido 8 tesis doctorales y está dirigiendo, en estos momentos, otras 4 más; ha dirigido 10 diplomas de estudios avanzados; ha recibido 5 premios (3 de investigación, 1 de innovación docente y otro de gestión de los servicios); tiene 3 sexenios de investigación; una patente y un índice H de 13.

Ha ostentado diversos cargos de gestión en la Universidad, sobre todo relacionados con la investigación: vicerrector de investigación, presidente del Comité Ético de Bienestar Animal, director de la Unidad de Gestión de la Investigación, secretario de la Comisión de Investigación y director del Instituto de Investigación CEU de Ciencias Biomédicas de la Universidad CEU Cardenal Herrera. Actualmente es el coordinador adjunto del programa de doctorado de Ciencia y Tecnología de la Salud de la CEU Escuela Internacional de Doctorado.

Además, desde 2016 es el presidente de la Asociación Española de Cunicultura, la asociación científica que engloba a todos los científicos que trabajan en el ámbito de la cunicultura y, desde 2018, es el Tesorero de la Unión de Entidades Españolas de Ciencia Animal, asociación que agrupa y coordina a las asociaciones y fundaciones constituidas en España con actividades dedicadas a la I+D de la Ciencia Animal.