



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

PAPEL DE LOS PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS EN LA
RESPUESTA INMUNE DE LA CAVIDAD ORAL.

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

C I R U J A N O D E N T I S T A

P R E S E N T A:

ESTEBAN MÁRQUEZ VILLAGOMEZ

TUTOR: DR. GONZALO MONTOYA AYALA.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIAS Y AGRADECIMIENTOS.

A Dios, por darme una vida maravillosa.

A mi padre Myr. Cab. Vicente Calderón Canchola, que me dio la oportunidad de crecer y caminar a su lado; ser maravilloso y único que guio mis pasos y me demostró su amor incondicional. Gracias por sus innumerables consejos; por acompañarme en cada uno de mis triunfos y fracasos; por animarme a no darme por vencido; por confiar en mí cuando tenía todo en contra; por respetar mis decisiones a pesar de lo equivocado que estaba; por todas las grandes aventuras que me han hecho ser feliz; por las interminables pláticas que me dieron una visión diferente; sé que nos sigue cuidando papá. Te amo.

A mi madre, una mujer de gran fortaleza y energía. Gracias mamá por su amor infinito; por su tolerancia para escucharme y entenderme; por ser mi cómplice en miles de cosas; por estar en las buenas y en las malas; por darme todo sin esperar nada a cambio. Hay cosas que las palabras no pueden describir, pero usted sabe lo mucho que la amo. Su fuerza y su amor me guiaron y me dieron alas para volar. Es la reina de mi vida.

A mi amada esposa, una mujer sensible que siempre está en el momento preciso y el lugar exacto; gracias amor por luchar a mi lado a pesar de todos los tropiezos y penalidades. Gracias por las noches en vela cuidando de mi salud, por ser la compañera perfecta, por comprender mi mal humor y por hacerme ver que los problemas se pueden solucionar si estamos juntos. Compartir mi vida contigo es una de las mejores decisiones que he tomado en mi vida. Nunca encontraré una mujer como tú. Te amo amor de mi vida.

A mi hija Miranda Mariel y a su hermanito (a), por ser el combustible capaz de que logre lo imposible. Mis niñas hermosas, las amo sobre todas las

cosas. Mirandita, llegaste para darle sentido a mi vida en momentos oscuros, eres la chispa que mi vida necesitaba. Nunca imagine sentir un amor infinito, como el que ustedes me inspiran mis nenas. Bebé, aún no te conozco, pero ya te amo, bienvenido a la familia Márquez Arvizu.

A mis hermanos, Gerardo y Enrique: por compartir tantas cosas, por enseñarme que la vida es una aventura. Gracias por una infancia increíble, llena de alegría, felicidad y descubrimiento. Gracias por ser mis mejores amigos, por confiar en mí, por escucharme, por armarse de paciencia, por estar en los momentos más complicados de mi vida. Estoy muy orgulloso de ser su hermano.

A mis sobrinos, Cesar y Luis Enrique: por recordarme que yo también fui niño y que no todo es disciplina y escuela.

A la familia Miranda Arrijoja: por acogerme como uno más de su familia. Especialmente a papá Memo, mamá Tete, a Ricardo y a mi querida suegra; porque me han demostrado su cariño en un sinfín de ocasiones; gracias por recordarme que la mejor salida a los problemas es la tolerancia y el amor.

A mis compañeros de armas, quienes hicieron de mí una persona emprendedora y con carácter. Especialmente al Myr. Cab. Armando Barrera Trujillo, mi jefe, muchas gracias por permitirme continuar con mis estudios; gracias por enfrentarse a las adversidades y dar la cara por mí; gracias por permitirme ser universitario y militar al mismo tiempo, pero, sobre todo, gracias por tratarme como a un amigo.

A mis grandes amigos Omar Rendón, Isidro Archundia, David Dozal, Cesar Rodríguez, Giovanni Flores y Miguel Ángel López. Quienes en diferentes etapas de mi vida han significado alegría y aventura. Gracias por el apoyo

moral, por tantas anécdotas, por tantas vivencias. Amigos en las buenas y en las malas.

A Dorothea Yatzil, porque siempre me recibes con un amor enigmático y único, tú no sabes de indiferencia, solo tienes amor para mí.

A la Secretaria de la Defensa Nacional, por permitirme crecer y desempeñarme laboralmente por 10 años de mi vida. Gracias por su formación llena de valores. Gracias por hacerme sentir un héroe.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por todas esas experiencias dentro de sus aulas. Por sentir un orgullo muy especial al decir que soy egresado de la UNAM.

A mis maestros, que a veces, sin reconocimiento alguno, se esmeraron por trasmitirme sus conocimientos y experiencias; gracias por su paciencia y tolerancia; gracias por su dedicación y compromiso; gracias por dejar la estabilidad de su hogar y consultorio para divulgar sus experiencias invaluable. Gracias Dr. Gonzalo Montoya Ayala, por fomentar mis ansias de conocimiento; gracias por darme la libertad de desempeñarme individualmente; gracias por su guía e invaluable conocimiento.

A todos aquellos que hicieron de mí una mejor persona.

1. INTRODUCCIÓN.....	7
2. OBJETIVOS.....	9
3. EL SISTEMA INMUNE Y SU COMPOSICIÓN.	10
3.1. INMUNIDAD INNATA, NATURAL O NATIVA.....	11
3.1.1. Barreras físicas: la piel.....	15
3.1.1.1. Epidermis.....	15
3.1.1.2. Dermis.	16
3.1.2. Barreras físicas: mucosas.....	17
3.1.2.1. Mucosa de la cavidad bucal y su inmunidad.....	17
3.1.3. Componentes celulares de la inmunidad innata.....	22
3.1.3.1. Papel de los queratinocitos en la inmunidad innata.....	24
3.1.3.2. Células dendríticas en la inmunidad innata.	24
3.1.3.3. Macrófagos.....	26
3.1.3.4. Neutrófilos.....	26
3.1.3.5. Células T en la inmunidad innata.....	27
3.1.4. Componentes moleculares de la inmunidad innata.....	28
3.1.4.1. Receptores de Reconocimiento de Patrones.....	28
3.1.4.2. Citocinas.....	30

3.1.4.3.	Moléculas Adhesivas.....	32
3.1.4.4.	Moléculas efectoras.....	34
3.1.4.5.	Moléculas emisoras de señales intracelulares.....	37
3.2.	INMUNIDAD ADAPTATIVA, ADQUIRIDA O ESPECÍFICA.....	38
3.3.	PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS (PAMs).....	44
3.3.1.	Composición, estructura y clasificación de los péptidos antimicrobianos.....	46
3.3.2.	Mecanismos de acción.....	49
3.3.2.1.	Interacciones con la membrana.....	50
3.3.2.2.	Mecanismos relacionados con los ácidos nucleicos, síntesis, translocación y plegamiento de proteínas.....	52
3.3.3.	Péptidos antimicrobianos humanos.....	52
3.3.4.	Péptidos antimicrobianos en la cavidad oral.....	54
3.3.4.1.	Familia de las Defensinas.....	57
3.3.4.2.	Familia de las Catelicidinas.....	65
3.3.4.3.	Familia de las Histatinas.....	69
4.	CONCLUSIONES.....	71
5.	BIBLIOGRAFÍA.....	73
6.	ÍNDICE DE FIGURAS.....	76

1. INTRODUCCIÓN.

La cavidad oral es un ecosistema diverso en donde proliferan e interactúan microbios en un ambiente cálido y húmedo. Es un nicho ecológico dinámico, abierto y expuesto continuamente a adquirir infecciones, en donde se estima la existencia de unas 700 especies; sin embargo, existe una flora normal que desempeña un papel importante en los mecanismos de defensa local de la superficie mucosa previniendo la colonización y la invasión por microorganismos más patógenos. A pesar de ello, esta misma flora normal tiene el potencial de convertirse en patógena bajo ciertas condiciones, por tanto, el estado de salud o enfermedad dependerá de la interacción entre el huésped y los microorganismos.

Los seres vivos han desarrollado mecanismos para identificar microorganismos patógenos y eliminarlos, diferenciándolos de los componentes propios del organismo. Esta labor de defensa de las agresiones externas está a cargo del sistema inmune, compuesto por un conjunto de órganos, tejidos, células y moléculas, que elaboran una respuesta coordinada. Históricamente, se concede gran importancia a los mecanismos adaptativos, adquiridos o específicos, representados principalmente por los linfocitos y las inmunoglobulinas. Aunque recientemente, la comunidad científica se ha enfocado en investigar y conocer la importancia de la respuesta inmune innata, natural o inespecífica.

Un componente de esta respuesta innata es la secreción de proteínas y péptidos antimicrobianos por medio de las glándulas salivales, células epiteliales orales y neutrófilos.

Estos péptidos son conocidos por tener un amplio espectro de actividad antimicrobiana que actúa contra bacterias (Gram-positivas y Gram-negativas), levaduras, hongos, parásitos y algunos virus. De este modo, los

péptidos antimicrobianos tienen el potencial de prevenir diversas enfermedades orales de origen microbiano tales como periodontitis, caries dental, candidiasis, gingivoestomatitis herpética e infecciones periapicales.

Los péptidos antimicrobianos están distribuidos abundantemente en el reino animal y vegetal con diferentes estructuras y composición de aminoácidos, pero comparten el rasgo común de ser antibióticos de amplio espectro y, esencialmente, la primera línea de defensa del huésped.

La investigación y estudio de los péptidos antimicrobianos en otras áreas de la salud está más avanzadas que en la odontología; sin embargo, su aplicación es basta y apenas empieza. Recientemente se ha descubierto que los péptidos antimicrobianos, pueden ser una alternativa ante la resistencia farmacológica de los microorganismos; así mismo, se han descubierto propiedades inmunomoduladoras, propiedades antiinflamatorias, quimiotácticas y en el proceso de cicatrización.

2. OBJETIVOS.

Conocer el origen de los péptidos antimicrobianos que tienen una estrecha relación con la cavidad oral y su interacción con los patógenos orales.

Identificar la composición, estructura química, clasificación de los péptidos y su relación como agentes antimicrobianos.

Reconocer los mecanismos de acción de los péptidos antimicrobianos como elementos importantes durante la respuesta inmune ante patógenos orales, que pudieran determinar su posible aplicación como agentes terapéuticos.

3. EL SISTEMA INMUNE Y SU COMPOSICIÓN.

Todos los seres vivos pueden actuar como huéspedes para organismos infecciosos y es gracias a la evolución que se han desarrollado distintos mecanismos para defenderse y combatir enfermedades. El sistema inmune puede ser considerado como un sistema homeostático fisiológico que, dentro de ciertos límites, contribuye a la integridad del organismo con la neutralización del peligro, tanto externo como interno, y con el reconocimiento y la preservación de lo propio. Este sistema está constituido por un conjunto de moléculas, células y tejidos que interactúan y forman un frente común para responder ante cualquier elemento que dañe al individuo, con lo cual se integra la respuesta inmune. La mayoría de las veces esta respuesta es de naturaleza defensiva y se produce ante un agente exógeno o endógeno, que resulta extraño al organismo, comúnmente llamado antígeno (Ag).¹

El sistema inmunológico constantemente “patrulla” todo el organismo para buscar cualquier signo de infección. Si ocurre, se inducen cambios rápidos en el sitio local de la infección, que típicamente llevan a la inflamación. Al mismo tiempo, otros cambios son inducidos con mayor lentitud lejos del sitio de la infección en órganos especializados de la inmunidad, como los ganglios linfáticos. Todos estos cambios son originados por células de la inmunidad especializadas, algunas de las cuales están involucradas de manera selectiva en diferentes tipos de infección y en distintos sitios del cuerpo. Estas células utilizan una vasta gama de moléculas especializadas para comunicarse con células vecinas y más distantes, y algunas de estas moléculas también pueden causar cambios en órganos muy distantes del sitio de la infección. Todos los diferentes órganos, células y moléculas funcionan juntos para desencadenar una serie de eventos estrechamente

coordinados y regulados, una respuesta inmunitaria, que procura desencadenar la eliminación del agente infeccioso. ^{1,3}

El cuerpo humano contiene alrededor de 10^{13} células, y la cavidad oral, aproximadamente 10^7 bacterias por mililitro de saliva. Por lo que hay una interacción constante no solo con bacterias, sino también con virus, hongos y parásitos. El organismo es, en potencia, una rica fuente de alimento para microorganismos, y sin un sistema inmunitario perfectamente coordinado el ser humano sería vulnerable ante cualquier enfermedad. Si bien muchos microorganismos pueden coexistir pacíficamente con sus huéspedes, algunos tienen el potencial de causar daño o incluso la muerte. ²

3.1. INMUNIDAD INNATA, NATURAL O NATIVA.

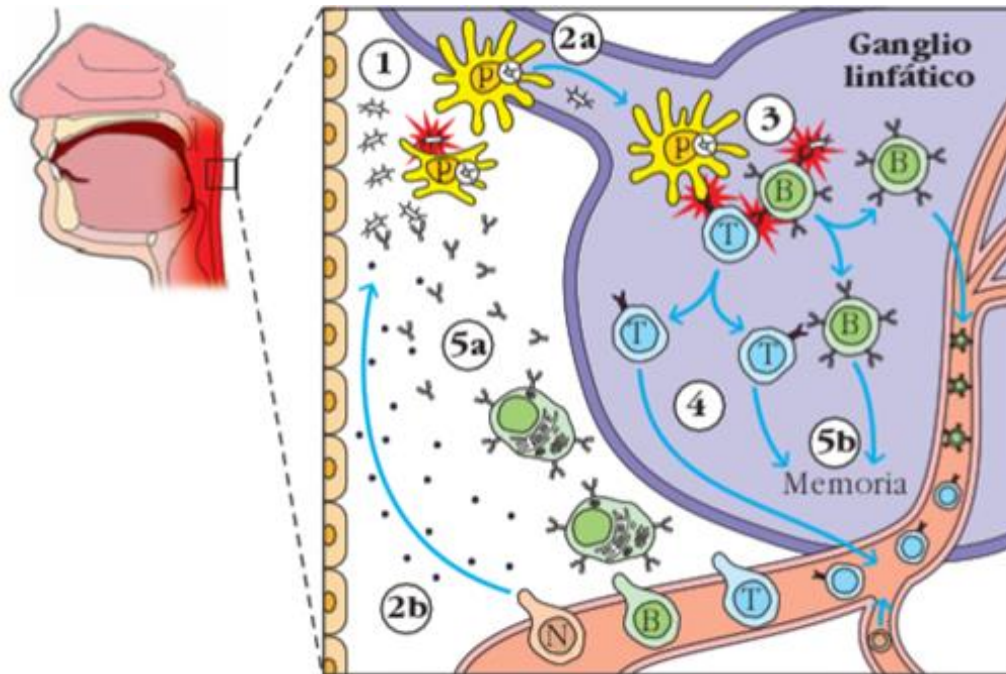
La defensa contra los microbios está mediada por las reacciones tempranas de la inmunidad innata y las respuestas tardías de la inmunidad adaptativa (Figura 1). ³

La inmunidad innata, también llamada natural o nativa, es el conjunto de mecanismos que constitutivamente actúan contra todos los microorganismos patógenos desde el primer contacto con ellos ya que esta defensa bloquea la entrada de microorganismos y los elimina rápidamente antes que penetren a los tejidos. Esta acción es inmediata y no es específica por lo que no diferencia la clase o especie del agresor y no deja memoria del encuentro con él. La inmunidad innata está presente desde el nacimiento. ¹

La inmunidad innata presenta una característica esencial: la rapidez. En las primeras horas y días de iniciado un proceso infeccioso será la encargada de enfrentarlo. Casi siempre logra erradicar la infección naciente. Si no alcanza este objetivo inicialmente, intentará contenerla hasta que los mecanismos

propios de la inmunidad adaptativa sean operativos, proceso que suele demandar varios días.⁴

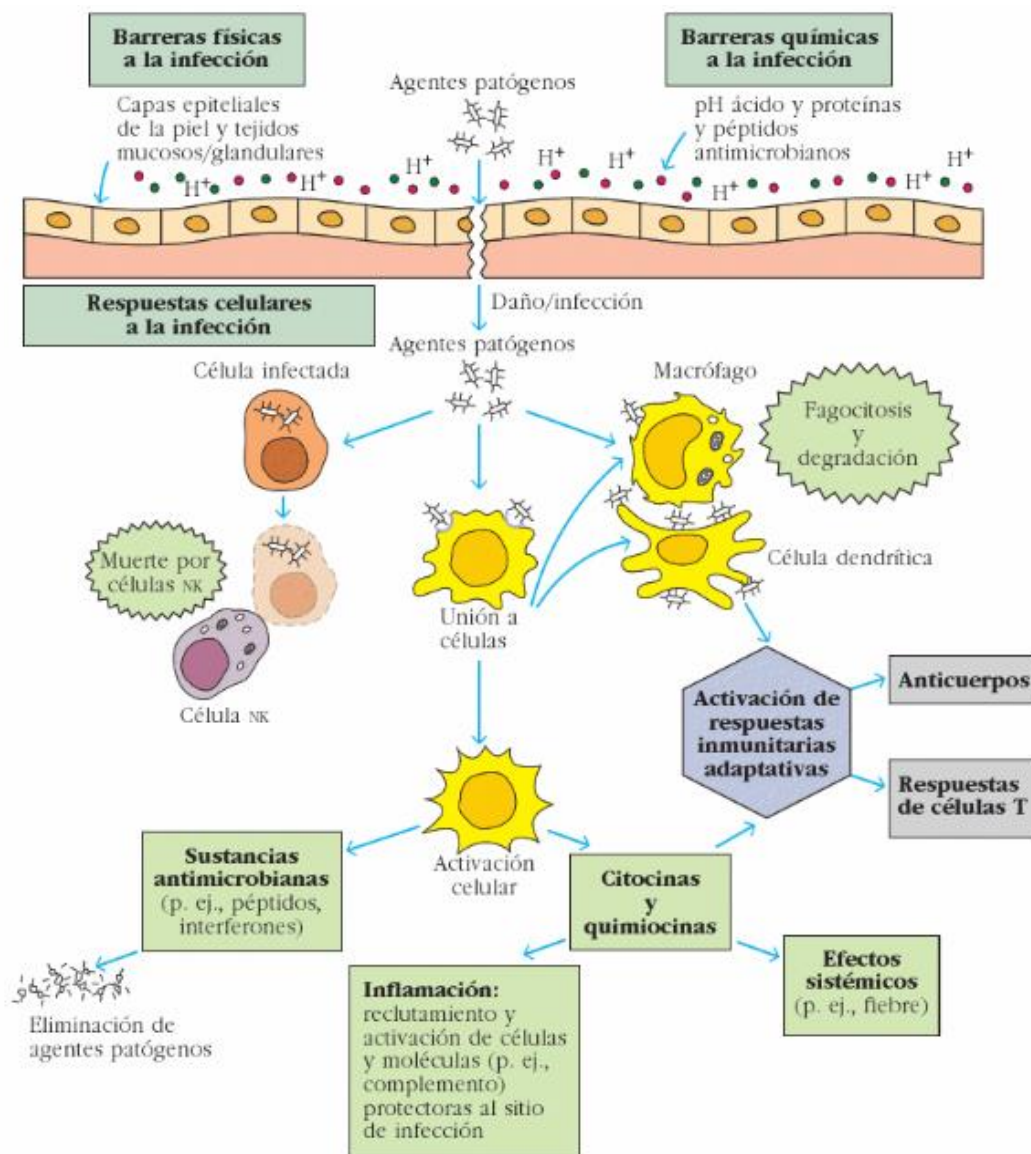
Figura 1. Interacción general entre las inmunidades innata y adaptativa.



1. Se introducen patógenos en una mucosa, donde son captadas por células fagocíticas (amarillo). 2a. En esta etapa innata, la célula fagocítica transporta fragmentos de bacterias hacia un ganglio linfático local para activar la inmunidad adaptativa. 2b. En el sitio de la infección los fagocitos liberan citoquinas (puntos negros) que causan entrada de líquido y ayudan a reclutar otras células inmunitarias hacia el sitio (inflamación). 3. En el ganglio linfático, las células T (azul) y B (verde) con especificidad de receptor son activadas cuando sus receptores de superficie se unen a antígeno que ha entrado al sistema. 4. La colaboración entre células T y B, impulsa la proliferación y diferenciación de linfocitos. 5a. Los linfocitos B secretan anticuerpos específicos para marcar y erradicar al agente patógeno. 5b. Se generan células T y B de memoria y estarán disponibles al inicio de una respuesta secundaria, que será mucho más rápida y mucho más específica para el antígeno.

La mayoría de los agentes infecciosos ingresan, en primer lugar, a través de los epitelios que recubren los aparatos respiratorio, digestivo y genitourinario y, en segundo lugar, a través de la piel. Los diferentes epitelios representan una primera barrera de protección, constitutiva, altamente eficaz y común frente a los procesos infecciosos de diferente etiología. Si estas barreras son superadas, la inmunidad innata responderá activando diferentes mecanismos, cuya naturaleza dependerá del microorganismo invasor (Figura 2).¹⁻⁴

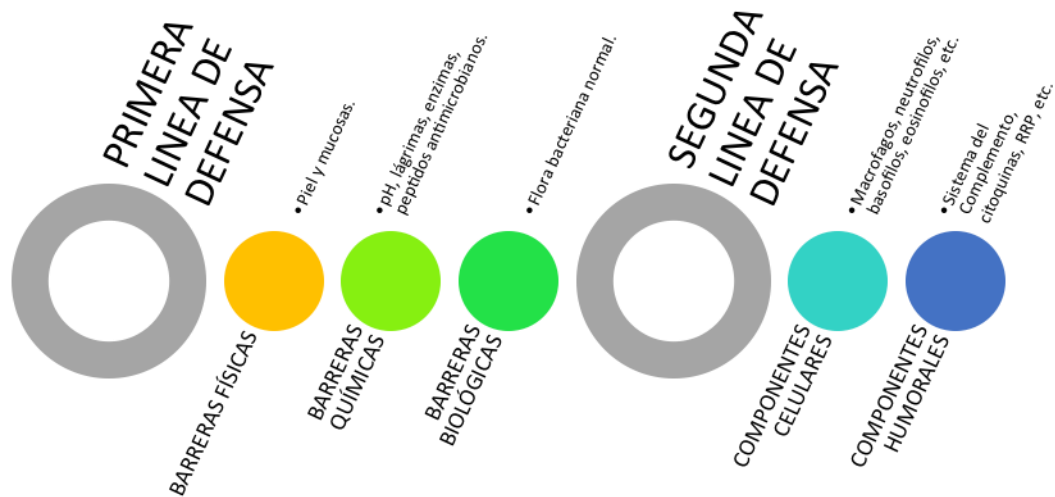
Figura 2. Perspectiva general de la inmunidad innata.



Los elementos clave de la inmunidad innata son las barreras físicas y químicas que evitan la infección, proporcionadas por las capas de células epiteliales de la piel, tejido mucoso y tejidos glandulares. Una vez que los agentes patógenos entran al organismo, son confrontados por células con receptores de superficies e intracelulares que reconocen componentes de los agentes patógenos y desencadenan algunas células para que los fagociten y degraden; mientras tanto, otras células son activadas por medio de sus receptores para que produzcan sustancias antimicrobianas que matan agentes patógenos. Al mismo tiempo las citocinas reclutan células, moléculas y líquido que generan la inflamación. Las células asesinas naturales (NK) innatas reconocen y matan células infectadas por virus. Las citocinas causan efectos sistémicos que ayudan a eliminar la infección y contribuyen a la activación de la inmunidad adaptativa.

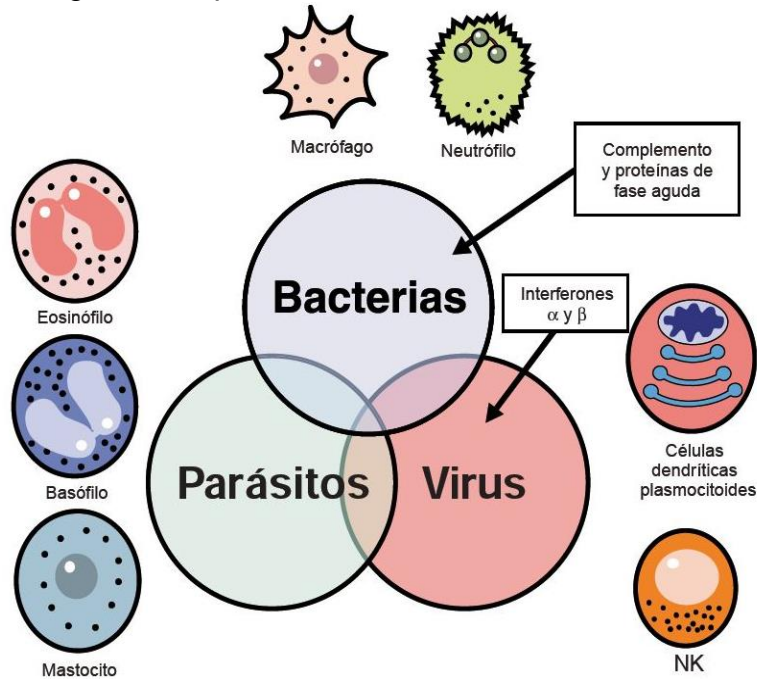
Así tenemos que la inmunidad innata está compuesta por barreras físicas, químicas y biológicas, que constituyen la primera línea de defensa; y diversos tipos celulares y humorales, que conforman la segunda línea de defensa del sistema inmunológico (Diagrama 1).³

Diagrama 1. Líneas de defensa de la inmunidad innata.



Sin embargo, estas líneas de defensas responderán con una alta especialización; por ejemplo, frente a una agresión mediada por bacterias, particularmente cuando estas presentan una cápsula polisacárida en su superficie, será decisiva la participación de los neutrófilos, los macrófagos, las proteínas de la fase aguda y el sistema del complemento. Frente a una infección viral, por el contrario, se destacará la participación de los interferones de tipo I, las células dendríticas plasmocitoides y las células NK. Frente a una infestación la respuesta inmunitaria innata recurrirá al reclutamiento y activación de mastocitos y eosinófilos (Figura 3).⁴

Figura 3. Especialización de la inmunidad innata.



Participación de los diferentes componentes celulares y humorales de la inmunidad innata en la defensa frente a las infecciones parasitarias, bacterianas y virales.

3.1.1. Barreras físicas: la piel.

La piel y los epitelios que recubren los aparatos respiratorio, digestivo y genitourinario representan la primera línea de defensa frente a los microorganismos comensales y patógenos. La mayoría de los procesos infecciosos se establecen a través de las mucosas y no de la piel. Esto puede entenderse al considerar no solo la eficacia de la piel como barrera antimicrobiana, sino también la enorme superficie expuesta de las mucosas, aproximadamente 200 veces mayor que la correspondiente a la piel. La piel está constituida por:

3.1.1.1. Epidermis.

Representa la superficie externa de la piel y se presenta como un epitelio estratificado. Los queratinocitos son las células predominantes que producen

queratina, proteína que contribuye a la resistencia de la piel a la acción perjudicial por diversos agentes físicos y químicos, además de dotarla de un alto grado de impermeabilidad. Los queratinocitos son producidos de manera constante en la piel y migran lentamente de la capa basal a la capa superficial de la dermis en un ciclo aproximado de 60 días. La descamación de las capas superficiales de los queratinocitos es continua y contribuye a inhibir la colonización de la piel por microorganismos patógenos. Por otra parte, la sequedad relativa de la superficie de la piel, su acidez (manto ácido, pH 5 a 6) y la flora microbiana cutánea normal contribuyen también a evitar la colonización microbiana. Las células especializadas de la epidermis incluyen un conjunto diferenciado de tipos celulares: células de Langerhans, que representan el tipo preponderante de células dendríticas presentes en la epidermis, melanocitos y células T, principalmente, células T CD8+. ³

3.1.1.2. Dermis.

Tiene un espesor de 4 a 5 veces superior al de la epidermis. A diferencia de esta, contiene vasos sanguíneos y linfáticos. La irrigación de la dermis permite el rápido ingreso de mediadores humorales de la respuesta inmunitaria, producidos en sitios distantes:

- a) En primer lugar, de los componentes del sistema de complemento que se produce principalmente en el hígado y complementariamente en diversos tipos celulares presentes en la piel, entre ellos los propios queratinocitos.
- b) En segundo lugar, las proteínas de la fase aguda, producidos también a nivel hepático.
- c) En tercer lugar, los anticuerpos IgG, producidos por los plasmocitos ubicados en la médula ósea. ¹⁻⁴

3.1.2. Barreras físicas: mucosas.

Se estima que una persona adulta posee 400 m² de superficie mucosa. Ello brinda a los microorganismos patógenos una amplia área expuesta al medio externo, potencialmente colonizable. Las mucosas confrontan ambientes densamente poblados con microorganismos, algunos de los cuales han desarrollado estrategias eficaces para colonizar las superficies epiteliales e invadir los tejidos subyacentes. Para hacer frente a este desafío, las mucosas ponen en juego diversos mecanismos microbiostáticos y microbicidas propios tanto de la inmunidad innata como adaptativa. ²

La continuidad del epitelio, las secreciones mucosas (principalmente mucina) y los péptidos antimicrobianos son las principales fuentes protectoras contra los patógenos que aportan las superficies mucosas. ²

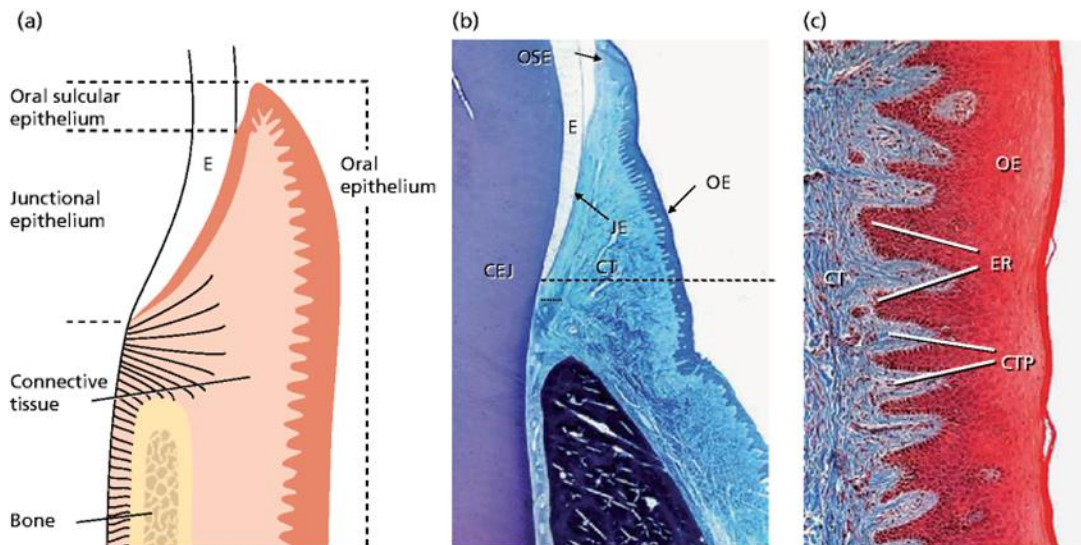
3.1.2.1. Mucosa de la cavidad bucal y su inmunidad.

La mucosa bucal se continúa con la piel de los labios y con las mucosas del paladar blando y de la faringe. La mucosa bucal consta de:

- a) La mucosa masticatoria que incluye la encía y el recubrimiento del paladar duro,
- b) La mucosa especializada que cubre el dorso de la lengua y
- c) La parte restante denominada mucosa de revestimiento.

La encía es parte de la de la mucosa masticatoria que recubre la apófisis alveolar y rodea la porción cervical de los dientes. Está compuesta de una capa epitelial y un tejido conectivo subyacente denominado lamina propia.

Figura 4. Representación esquemática y corte histológico de la encía.

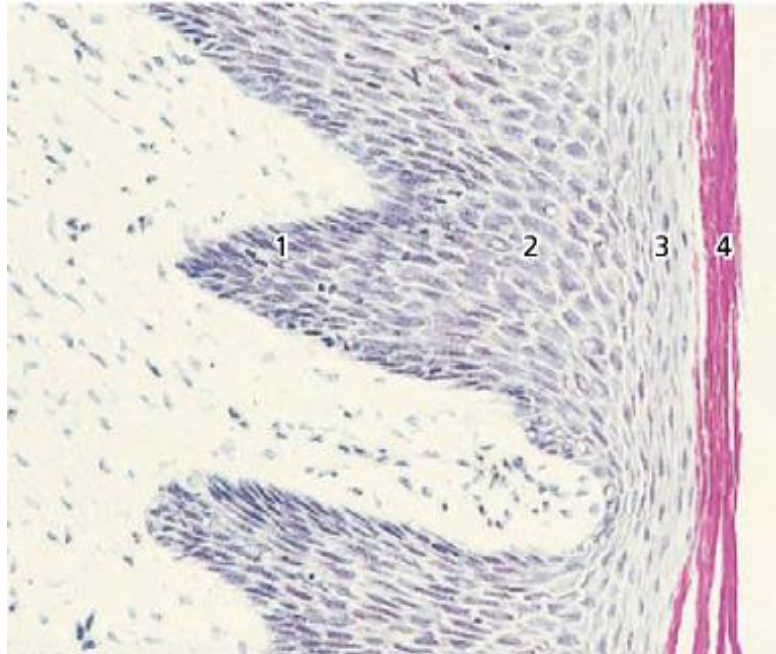


Histológicamente, la encía se divide en: a) Epitelio Bucal, b) Epitelio del surco, c) Epitelio de unión y, d) Tejido Conectivo (Figura 4a). La encía libre comprende todas las estructuras epiteliales y del tejido conectivo (CT) situadas hacia coronal de una línea horizontal trazada a nivel de la unión cementoamantina (CEJ). El epitelio que recubre la encía puede ser diferenciado en la siguiente forma: Epitelio Bucal (OE), que apunta a la cavidad bucal; Epitelio del surco (JE), que enfrenta al diente sin contactar con la superficie del esmalte (E) y; Epitelio de Unión (EU), que provee el contacto entre la encía y el diente (Figura 4b). El límite entre el epitelio bucal (OE) y el tejido conectivo subyacente (CT) presenta un recorrido ondulado. Las porciones de tejido conectivo que se proyectan en el epitelio se denominan papilas de tejido conectivo (CTP) y están separadas una de otras por crestas epiteliales llamadas papilas dérmicas (ER) (Figura 4c)

El epitelio bucal es de tipo estratificado queratinizado y sobre la base del grado de diferenciación de las células productoras de queratina puede ser dividido en los siguientes estratos celulares: 1) Capa basal (estrato basal o germinativo, 2) Capa de células espinosas (estrato espinoso), 3) Capa de células granulosas (estrato granuloso) y 4) Capa de células queratinizadas (estrato córneo) (Figura 5).⁵

Además de las células productoras de queratina (queratinocitos) que constituyen alrededor del 90% de la población celular total, el epitelio bucal contiene los siguientes tipos de células: melanocitos, células de Langerhans, células de Merkel y células inflamatorias.⁶

Figura 5. Estratos celulares del epitelio bucal.



Estos tipos de células a menudo son de forma estrellada y poseen procesos citoplasmáticos de aspecto y dimensiones diferentes. Las células de Langerhans desempeñan un papel en el mecanismo de defensa de la mucosa bucal. Estas reaccionan con los antígenos en procesos de penetración del epitelio. En consecuencia, se inicia una respuesta inmunitaria temprana, que inhibe o impide la penetración adicional de antígenos en el tejido. ⁶

En su paso desde el estrato basal hasta la superficie epitelial, el queratinocito experimenta diferenciación continua. Por ello, una vez que el queratinocito se separa de la membrana basal ya no se puede dividir, pero conserva la capacidad de producir proteínas. En el estrato granular el queratinocito pierde su aparato reproductor de energía y de proteínas y se transforma abruptamente en una célula llena de queratina que por vía del estrato corneo se exfolia de la superficie epitelial. ⁶

El tejido conectivo del epitelio bucal, principalmente está constituido por fibras colágenas, fibroblastos, mastocitos, macrófagos y células inflamatorias. El macrófago tiene en el tejido diferentes funciones fagocíticas y de síntesis; quienes son particularmente numerosos en el tejido inflamado. Estas células derivan de los monocitos de la sangre circulante, que migran hacia el tejido conjuntivo. El tejido conectivo también posee células inflamatorias de distintos tipos, por ejemplo, neutrófilos, linfocitos y plasmocitos. Estas células inflamatorias contienen numerosos lisosomas que contienen enzimas lisosómicas. Estos componentes inmunológicos de la mucosa bucal corresponden a la inmunidad innata.⁶⁻⁷

Casi inapreciable, en el surco gingival aparece constantemente un flujo de líquido intercelular. Este líquido crevicular gingival (LCG), no solamente remueve mecánicamente bacterias y otros componentes, sino que contiene péptidos antimicrobianos (defensinas), lisozimas, inmunoglobulinas (IgG, IgA) y polimorfonucleares (PMN). El LCG se origina a partir del líquido intersticial y de los vasos sanguíneos, denominado extravasación plasmática.³²

Por eso cuando se desarrolla el proceso inflamatorio en la encía o en cualquier sitio anatómico, el resultado es el edema por el ensanchamiento de los vasos sanguíneos. El exceso de líquido acumulado en la encía, aumenta el flujo y la densidad del fluido crevicular. Junto con el líquido crevicular, las células que conforman el epitelio del surco y el epitelio de unión se están descamando frecuentemente, por tanto, aquellos microorganismos adheridos al epitelio se remueven con la descamación celular.³³

En el fondo del surco, sellado por las células del epitelio de unión (JE) se observa gran actividad biológica. Primero, estas células tienen alta mitosis y renuevan el EU constantemente y segundo, son capaces de producir defensinas y citoquinas (IL-1, TNFa, IL-8).³⁴ De esta manera, aunque se

están organizando las bacterias en forma de una biopelícula subgingival en continuidad, hay balance entre las bacterias y la respuesta del hospedero. ³⁵

De esta forma, cuando las bacterias producen factores de virulencia y estos entran en contacto con las células del epitelio del surco, las células del epitelio de unión producen péptidos antimicrobianos y citoquinas pro-inflamatorias. ²⁷ Los péptidos antimicrobianos en especial las defensinas dañan la superficie de las bacterias, permitiendo su eliminación. Pero son de gran importancia la producción de IL-1 y TNF α , quienes generan cambios vasculares. Incrementan el calibre de los vasos sanguíneos e inducen la expresión de proteínas de adhesión celular. Adicionalmente, producen IL-8, una citoquina con actividad quimiotáctica para polimorfonucleares (PMN). De esta forma, los PMN son atraídos al sitio donde se acumulan las bacterias, salen de los vasos sanguíneos y se acumulan en el tejido conectivo adyacente al surco alterando el tejido conectivo adyacente al epitelio de unión. Muchos PMN se abren paso por los espacios intercelulares del epitelio de unión y salen al surco donde se degranulan, ²⁸ liberando consigo péptidos antimicrobianos, lactoferrina, mieloperoxidasa, metaloproteinasas (MMP-8) y serin proteasas. ²⁹ Si bien todos estos reactivos biológicos son nocivos para las bacterias, también lo pueden ser para los tejidos periodontales por lo que se cree que el microARN juega un papel importante en la inmunomodulación en la respuesta inmune del surco gingival. No obstante, el agente infeccioso es controlado en la mayoría de casos, el estímulo disminuye y se establece un balance de la respuesta inmune. ³⁰

Después de estimulada la respuesta inmune innata, desencadena la respuesta inmune adaptativa y aparecen en el tejido conectivo linfocitos T CD4 y linfocitos B, ayudando a resolver el proceso inflamatorio. ³¹ La estimulación de linfocitos toma entre cinco y siete días en alcanzar su mayor activación. Por tanto, una buena respuesta innata es fundamental para

mantener la salud periodontal. Los linfocitos T CD4 producen citoquinas que promueven mejor actividad de macrófagos y co-estimulan a los linfocitos B a producir anticuerpos tipo IgG e IgA neutralizantes. ³ El resultado es una respuesta inmune que controla los microorganismos que se están acumulando en el surco periodontal, de forma silenciosa y sin expresar signos clínicos inflamatorios evidentes a simple vista.

3.1.3. Componentes celulares de la inmunidad innata.

En la inmunidad innata confluyen un amplio conjunto de tipos celulares que incluyen no solo los leucocitos, sino también las células que integran la piel y los epitelios de los aparatos respiratorio, digestivo y genitourinario; así como las propias células parenquimatosas que conforman los diversos tejidos (Tabla 1). ¹⁻⁵

Tabla 1. Componentes Celulares de la Inmunidad Innata.	
Células	Función General
Macrófagos	Reconocimiento de patógenos, fagocitosis, la inflamación y reparación de tejidos dañados.
Mastocitos	Detección de microorganismos, sintetizan citocinas que inducen la inflamación. Provocan contracción del musculo liso que ayudan a expeles parásitos.
Neutrófilos	Tienen un alto contenido de agentes antimicrobianos; son las primeras células en responder a la infección, altamente fagocíticos, y desencadenan el proceso de inflamación.
Eosinófilos	Tienen cierta capacidad fagocitaria y participan principalmente en infestaciones y respuestas alérgicas. Inducen producción de moco y participan en la reparación de daño tisular.
Basófilos	Estimuladores potentes de la inflamación.
Células NK	Proceso de inflamación; destruyen células infectadas y tumorales; regulan la respuesta inmunitaria. Se acumulan en respuesta a infecciones virales.
Células	Son las células presentadoras de antígeno que activan a los linfocitos T

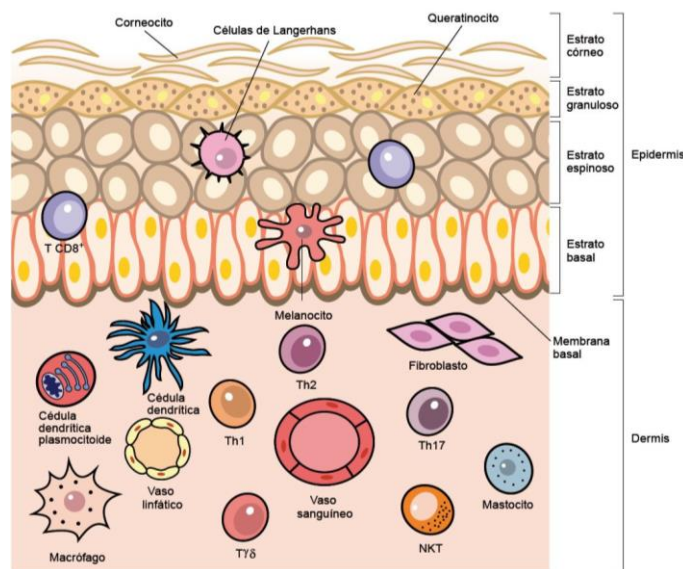
dendríticas	vírgenes e intervienen como enlace entre la inmunidad innata y la inmunidad específica (ejemplo: Células de Langerhans).
Células Epiteliales	Producen quimiocinas, citocinas y péptidos antimicrobianos como las β defensinas y las catelicidinas (ejemplo: Queratinocitos).
Monocitos (células cebadas)	Células precursoras de macrófagos y células dendríticas.

Las células de la inmunidad innata participan en la respuesta inmunitaria mediante dos grandes mecanismos:

- a) Ejerciendo una acción antimicrobiana y
- b) Produciendo mediadores capaces de orientar el curso de la respuesta inmunitaria, ya sea innata o adaptativa.

Como mencionamos anteriormente en la piel se ubican una gran variedad de tipos celulares que contribuye, a través de estos mecanismos, a la inmunidad antiinfecciosa local (Figura 6).⁴

Figura 6. Tipos celulares presentes en la epidermis y dermis.



3.1.3.1. Papel de los queratinocitos en la inmunidad innata.

Los queratinocitos no cumplen un papel pasivo en la inmunidad antimicrobiana. Por el contrario, al activarse liberan una amplia variedad de citocinas y quimiocinas inflamatorias capaces de mediar el reclutamiento y la activación de diferentes poblaciones leucocitarias que intentaran erradicar el proceso infeccioso naciente. ¹⁻²

La activación de los queratinocitos puede ser inducida por citocinas inflamatorias, esta parece ser la vía de mayor relevancia. El reconocimiento de los Patrones Moleculares Asociados a Patógenos (PMAP) por los Receptores de Reconocimiento de Patrones (RRP) expresados por el propio queratinocito es la principal vía de activación en las primeras etapas de la infección. ¹⁻²

Los queratinocitos activados no solo producen citocinas y quimiocinas, sino también péptidos antimicrobianos, como las β defensinas y las catelicidinas. Estos péptidos inducen alteraciones irreversibles en las membranas de las bacterias, hongos y ciertos virus con envoltura, presentan propiedades comunes; son fuertemente catiónicos y contienen secuencias de aminoácidos hidrófobos. Estas secuencias les permiten interactuar con las membranas de los microorganismos e inducir su destrucción. De los cuales abundaremos posteriormente. ¹⁻²

3.1.3.2. Células dendríticas en la inmunidad innata.

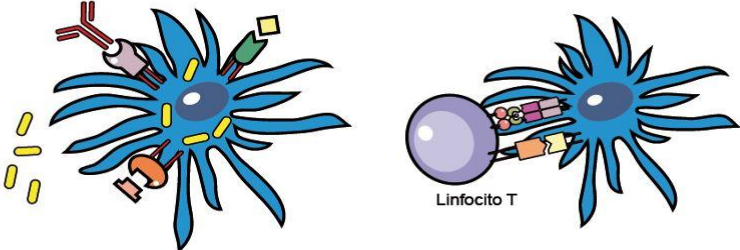
La capacidad de orientar el perfil de la inmunidad adaptativa es la segunda de las funciones esenciales de la inmunidad innata a través del accionar de las células dendríticas. Las células dendríticas son células que tienen un atributo esencial: activan las células T vírgenes y ponen en marcha la respuesta inmunitaria adaptativa. Frente a un efecto infeccioso las células

dendríticas presentes en el mismo foco infeccioso capturan los antígenos microbianos y, a través de sus RRP, reconocen las estructuras del patógeno y, en consecuencia, sus propiedades. Migran luego desde el foco infeccioso, por vía aferente linfática, hasta los ganglios linfáticos del sitio de infección, donde presentan el antígeno a los linfocitos T vírgenes e inducen su activación. ¹⁻⁵ Las células de Langerhans son las células dendríticas inmaduras preponderantes en la epidermis; quienes presentan tres propiedades fundamentales:

- a) Alta capacidad endocítica,
- b) Alta capacidad de procesamiento antigénico y
- c) Baja capacidad de presentar antígenos a los linfocitos T vírgenes.

Figura 7. Propiedades de las células dendríticas maduras e inmaduras.

Células dendríticas inmaduras y maduras



	INMADURAS	MADURAS
Ubicación	Tejidos periféricos	Órganos linfáticos secundarios
Capacidad endocítica	Alta	Baja
Capacidad de procesamiento	Alta	Baja
Moléculas coestimuladoras y de clase I y II del CMH	Expresión baja	Expresión alta
Capacidad de presentar antígenos a linfocitos T naíve	Baja	Alta
Expresión de CCR7	Baja	Alta

Las células dendríticas inmaduras expresan RRP y numerosos receptores para quimiocinas y citocinas. Estos receptores median la activación de las células dendríticas e inducen un cambio fisiológico, denominado “maduración” de las células dendríticas. El proceso de maduración representa un evento crucial en la fisiología de las células dendríticas, ya que les permite transformarse en células efectivas para presentar el antígeno y activar los linfocitos T vírgenes, induciendo su expresión clonal y diferenciación en perfiles efectores particulares (Figura 7).¹⁻⁵

3.1.3.3. Macrófagos.

Los macrófagos residen en casi todos los tejidos del organismo, y son componentes importantes de las respuestas inmunitarias tanto innata como adaptativa. Los precursores circulantes de macrófagos, que son producidos en la médula ósea, se llaman mastocitos. Cuando un monocito entra a un tejido, puede desarrollarse hacia una forma llamada macrófago maduro.¹⁻⁵

Los macrófagos desempeñan funciones cruciales en el remodelado de órganos y el crecimiento de los mismos durante el desarrollo, y en la regulación de las funciones de tejido normal (homeostasis). Poseen receptores especializados que reconocen células que han sido programadas para que mueran por medio del proceso de la apoptosis y ayudan en el remodelado de tejido sin formación de tejido cicatrizal.¹⁻⁵

De igual manera poseen receptores (RRP) que reconocen diferentes tipos de agentes infecciosos, lo que permite distinguir entre clases amplias de virus, bacterias y hongos.¹⁻⁵

3.1.3.4. Neutrófilos.

Son cruciales en la defensa contra bacterias piógenas (formadoras de pus), son liberados a partir de la médula ósea como células maduras, y tienen

lapsos de vida muy breves. No se encuentran en tejidos normales, pero son reclutados con rapidez hacia sitios de inflamación aguda. Los neutrófilos son altamente fagocíticos. Poseen de manera constitutiva una amplia variedad de mecanismos antimicrobianos. Muchas de las moléculas necesarias para generar mecanismos de muerte son preformadas y almacenadas de diferentes tipos de gránulos citoplasmáticos. Cuando un microbio ha sido fagocitado, algunos de estos gránulos se fusionan en el fagosoma, y liberan su contenido tóxico hacia el microbio. Los neutrófilos también tienen la capacidad de matar microbios fuera de la célula. Además de sus agentes antimicrobianos, los gránulos también contienen enzimas proteolíticas que desintegran el tejido circundante. Cuando los neutrófilos encuentran bacterias que son capaces de resistir a la muerte, mueren y, en algunas infecciones, los tejidos licuados forman pus que descarga en abscesos. ¹⁻⁵

3.1.3.5. Células T en la inmunidad innata.

La dermis se caracteriza por una nutrida población de células T, tanto CD4+ y CD8+. La mayoría de las células T que se localizan en la piel sana son células T de memoria, caracterizadas por la expresión de CLA (antígeno cutáneo linfocitario) y el receptor de quimiocinas CCR10, receptor que media la infiltración de linfocitos T de memoria a la piel, en respuesta a la producción local de la quimiocina CCL27. En respuesta a procesos infecciosos o inflamatorios, diferentes poblaciones de células T efectoras serán reclutadas en la piel, desde la sangre.

Al activarse, los linfocitos T, en particular los linfocitos T CD4+, podrán diferenciarse en diversos perfiles funcionales: Th1, Th2, Thf, Th17, Th22, Th9 y Treg. Cada uno de estos perfiles se caracteriza por la producción de diferentes citocinas y median diferentes funciones inmunitarias. ¹⁻⁵

3.1.4. Componentes moleculares de la inmunidad innata.

Los componentes celulares de la inmunidad innata son acompañados por componentes moleculares que desempeñan las siguientes funciones: ³

- a) Controlar la posición de las células inmunitarias dentro de la célula; por ejemplo, permiten que estas células se localicen dentro de los tejidos normales o que lleguen al sitio de infección.
- b) Permitir el reconocimiento de agentes infecciosos y otras señales, de modo que la célula puede montar una respuesta apropiada.
- c) Comunicarse con otras células cercanas o en tejidos más distantes, para ayudar a desencadenar una respuesta coordinada.
- d) Actuar de manera directa o indirecta como moléculas efectoras; por ejemplo, al ayudar a matar al agente infeccioso (dentro de las células o fuera de las mismas) o matar células que albergan agentes infecciosos (citotoxicidad celular).

3.1.4.1. Receptores de Reconocimiento de Patrones.

Esta amplia variedad de tipos celulares comparte una herramienta común para reconocer a los patógenos: los Receptores de Reconocimiento de Patrones (RRP). Los RRP comprenden cinco familias diferentes: ³⁻⁵

- a) Los Receptores Tipo Toll (Toll-like Receptors, TLR).
- b) Receptores Lectina de Tipo C (CLR).
- c) Los NRL (nucleotide-binding domain, leucine rich repeat-containing gene family).
- d) Los RLR (RIG like receptors).
- e) Los Receptores Scavenger.

Los RRP reconocen a los Patrones Moleculares Asociados con Patógenos (PMAP). Los PMAP son moléculas presentes en los microorganismos que comparten tres propiedades: ³⁻⁵

- a) Se expresan en los microorganismos, pero no en el huésped,
- b) Son compartidos por diferentes microorganismos y
- c) Son esenciales para la supervivencia o patogenicidad de los microorganismos.

Entre los PMAP mejor caracterizados están el lipopolisacárido (LPS, presente en la superficie de las bacterias Gram-negativas), la flagelina (componente estructural del flagelo bacteriano), el peptidoglucano (componente de la pared bacteriana) y los ácidos nucleicos bacterianos. ⁴

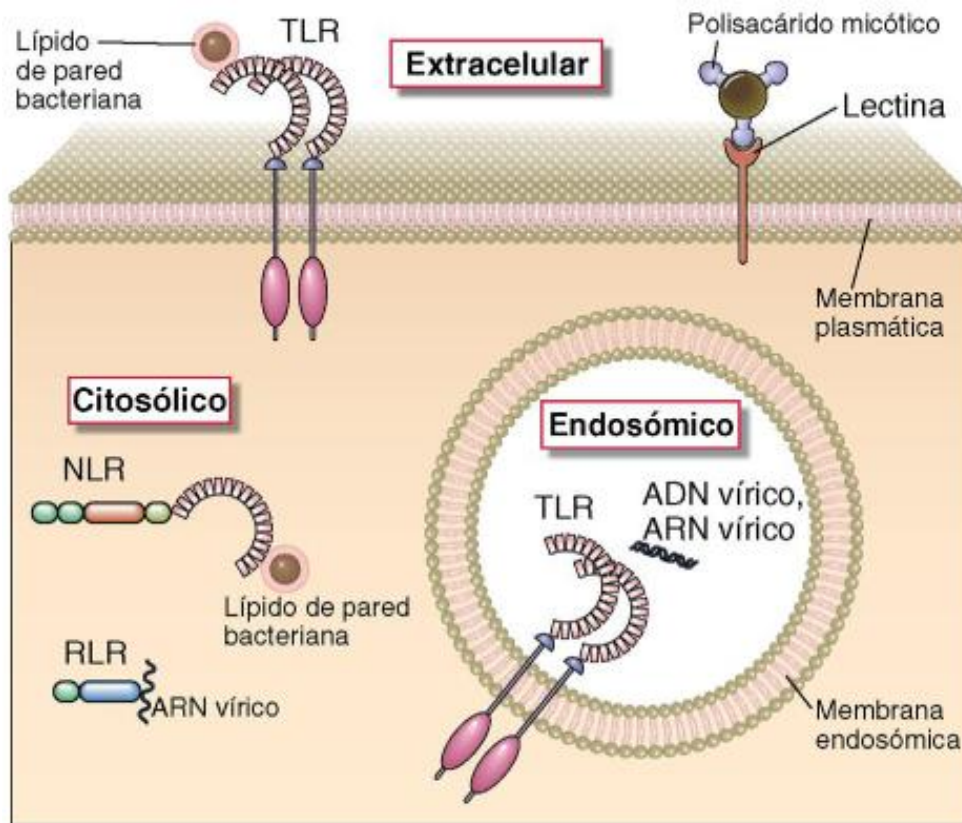
Los Receptores de Reconocimiento de Patrones se ubican en las membranas plasmáticas, citoplasma o membranas endosómicas de células fagocíticas, células epiteliales y dendríticas. Estas diversas localizaciones aseguran que el sistema innato pueda responder a microorganismos presentes fuera o dentro de las células o dentro de diferentes compartimientos celulares (Figura 8). ³

Los queratinocitos expresan una segunda familia de RRP: los NLR, los cuales no solo reconocen a los PAMP sino también a los DAPM (danger-associated molecular pattern) entre los que encontramos ATP, cristales de ácido úrico, radiación UV y proteínas de shock térmico.

Los PMAP representan un conjunto diferenciado de componentes microbianos que le permiten a las células de la inmunidad innata el rápido reconocimiento de un proceso infeccioso naciente y la inmediata puesta en marcha de una respuesta que integra, básicamente, tres categorías de

compuestos: sustancias con actividad microbiostática o microbicida (péptidos antimicrobianos), citocinas y quimiocinas.^{3,4}

Figura 8. Localización celular de los RRP.



3.1.4.2. Citocinas.

Las citocinas representan mediadores esenciales en la respuesta inmunitaria, tanto innata como adaptativa. La relevancia de la inmunidad innata no está dada solo por su capacidad de actuar rápidamente, erradicando o conteniendo la infección naciente. La inmunidad innata deberá desentrañar las propiedades del patógeno a fin de orientar el perfil de la respuesta inmunitaria adaptativa. En el sistema inmunitario, las citoquinas

ayudan a desencadenar una respuesta integrada y coordinada apropiada para el tipo de infección que ha ocurrido. Las citocinas pueden actuar localmente en la misma célula o en células diferentes, de una manera autocrina o paracrina; algunas también pueden actuar sobre células o tejidos distantes de una manera endocrina. ³

Las citocinas son producidas por todas las células innatas, por lo que son muy eficientes para estimular respuestas inflamatorias y, por ende, se llaman citocinas proinflamatorias. Por ejemplo, algunas citocinas inducen respuestas de células endoteliales locales, que llevan al aumento de la permeabilidad y reclutamiento de leucocitos. Algunas también actúan sobre tejidos distantes y contribuyen a respuestas inflamatorias sistémicas. Algunas también ayudan a estimular la reparación de heridas, la curación y remodelado de tejido, incluso la estimulación o inhibición del crecimiento de nuevos vasos sanguíneos (Diagrama 2). ³

Diagrama 2. Clasificación de las Citocinas.



Las citoquinas o citocinas llevan a cabo las siguientes funciones: ³

- a) Actividad antiviral.
- b) Crecimiento y modulación de la secreción de inmunoglobulinas.
- c) Actividad proinflamatoria y antiinflamatoria.
- d) Hematopoyesis, estimulando el crecimiento y la diferenciación de las células precursoras hematopoyéticas.
- e) Activación, crecimiento y diferenciación de los linfocitos B.
- f) Efecto antitumoral, por medio del Factor de Necrosis Tumoral.

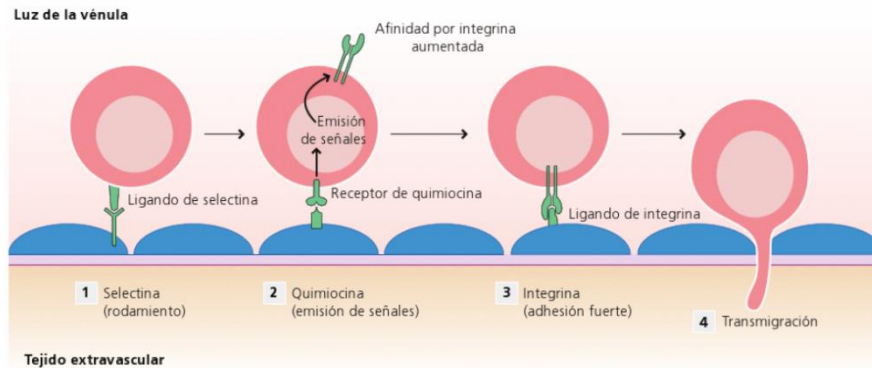
3.1.4.3. Moléculas Adhesivas.

En todos los casos, las células que entran a tejidos desde la sangre deben cruzar la barrera de células endoteliales que revisten vasos sanguíneos, y entrar a sitios extravasculares. Este proceso se llama extravasación o migración transendotelial. Está claro que toda célula necesita distinguir entre un sitio y otro (por ejemplo, tejidos normales en contraposición con inflamados) las células también necesitan ser capaces de migrar dentro de tejidos y de retener sus posiciones en estos tejidos; estas funciones dependen de las moléculas de adhesión. ³⁻⁴

El encausamiento selectivo de diferentes células hacia distintos sitios en diferentes momentos está controlado por un notorio sistema de reconocimiento. En parte, esto involucra moléculas de adhesión de leucocitos, que son de dos clases principales: selectinas e integrinas. Estas se unen a contraligandos sobre células endoteliales que se denominan en conjunto adresinas porque, juntas, proporcionan “direcciones (addresses)” para ayudar a los leucocitos a encontrar su camino a través de, y hacia, diferentes tipos de tejidos. Un tercer tipo de moléculas involucradas en el encausamiento de células no son moléculas de adhesión, sino que son receptores para un grupo de citocinas especializado llamadas quimiocinas. ³

En conjunto, las permutaciones y combinaciones de diferentes selectinas, integrinas, quimiocinas y receptores de quimiocina proporcionan un sistema altamente discriminatorio a fin de asegurar que las células correctas vayan a los sitios correctos en el momento correcto (Figura 9).³⁻⁴

Figura 9. Funcionamiento de las moléculas de adhesión.



3.1.4.3.1. Selectinas.

Los leucocitos en la sangre pueden fijarse de manera transitoria al endotelio de las vénulas, y rodar a lo largo del mismo. El rodamiento por lo general está mediado por selectinas (las lectinas son proteínas que unen a ligandos carbohidrato). El rodamiento da a la célula tiempo de interactuar con moléculas expresadas sobre la superficie endotelial que definen el endotelio y, por ende, para identificar el tejido en donde se encuentran y el estado de ese tejido.⁵

3.1.4.3.2. Quimiocinas y receptores de quimiocina.

Estimulan células para que migren de manera direccional a favor de un gradiente de concentración de la quimiocina. La migración celular se llama quimiotaxis. Además de promover la migración de células direccional dentro de los tejidos donde se producen, las quimiocinas pueden ser transferidas a

través del endotelio hacia el lado luminal y quedar fijas a las células endoteliales con el fin de activar a las integrinas. ⁵

3.1.4.3.3. Integrinas.

Cuando los leucocitos reciben señales apropiadas por medio de quimiocinas, dejan de rodar y se fijan firmemente a las células endoteliales. El rodamiento de leucocitos puede suspenderse debido a la fuerte unión que ocurre entre las integrinas y sus contraligandos sobre el endotelio. Las integrinas existen en dos estados: afinidad alta o afinidad baja. Las integrinas de leucocitos circulantes se encuentran en el estado de afinidad baja, y carecen de capacidad de unión fuerte. El cambio hacia el estado de afinidad alta ocurre en respuesta a la recepción por el leucocito de señales por medio de sus receptores de quimiocina. ⁵

3.1.4.4. Moléculas efectoras.

Hay dos grupos de moléculas efectoras principales muy importantes en la inmunidad: el sistema de complemento y los anticuerpos. El complemento es un sistema multimolecular de proteínas en la sangre y los líquidos tisulares; es principalmente un componente de la inmunidad innata. Los anticuerpos, secretados por células B cuando se desarrollan hacia células plasmáticas, son principalmente componentes de la inmunidad adaptativa. Empero, tanto el complemento como los anticuerpos están involucrados en cada tipo de inmunidad. ⁵

3.1.4.4.1. Funciones compartidas del complemento y los anticuerpos.

El complemento y los anticuerpos tienen, cada uno, características y funciones especializadas, pero algunas son compartidas entre ellos; éstas comprenden:

Reclutamiento hacia los sitios de infección. Ambos son tipos de moléculas solubles que circulan en la sangre, pero que pueden ser reclutadas hacia sitios de infección porque las respuestas inflamatorias locales aumentan la permeabilidad del endotelio, lo que les permite cruzar hacia espacios tisulares extravasculares. ⁵

- a) Formación de inmunocomplejos. Ambos pueden unirse a antígenos solubles para formar complejos que pueden inducir inflamación.
- b) Oponización. Es el proceso de cubrir microbios para aumentar su captación y eliminación subsiguiente por fagocitos. Los microbios cubiertos con complemento o anticuerpos son dirigidos hacia receptores especializados, llamados receptores opsónicos. Estos son, respectivamente, los receptores de complemento y los receptores Fc (FcR); hay varios tipos de cada uno.
- c) Aumento de la inmunidad adaptativa. Los componentes del complemento, y los anticuerpos, cuando están unidos a antígenos, pueden aumentar diferentes tipos de respuestas inmunitarias adaptativas.

3.1.4.4.2. Sistema del Complemento.

El sistema de complemento es una cascada en la cual la activación de un componente puede llevar a la activación del siguiente, y puesto que una molécula activada puede activar varias o muchas otras, hay ampliación incorporada en el sistema. El sistema del complemento puede ser activado por tres vías diferentes: ¹⁻⁵

- a) La vía de la lectina de unión a manosa (MLB), es iniciada por un RRP soluble, que se une a la superficie de microbios.
- b) La vía alternativa, es desencadenada de manera espontánea y sirve para amplificar las otras dos vías.

- c) La vía clásica, activada por unión de complementos a anticuerpos sobre la superficie de microbios.

Además de las funciones en la opsonización de microbios y el aumento de las respuestas de células B, la unión de complemento a algunos microbios puede llevar al montaje de otros componentes que forman un poro en la membrana, lo que lleva a lisis directa del microbio. Otros componentes del complemento se difunden hacia afuera desde el sitio de activación, y están involucrados en la estimulación de la inflamación. El complemento también desempeña una función importante en la ayuda a solubilizar y eliminar inmunocomplejos de la sangre. Al igual que con todos los sistemas de cascada, la vía del complemento está estrechamente regulada para ayudar a limitar el daño de células del huésped; en muchos casos esta regulación está mediada por enzimas que dividen componentes activos y los desactivas. ¹⁻⁵

3.1.4.4.3. Anticuerpos y receptores Fc.

Diferentes tipos o clases de anticuerpos se clasifican de acuerdo con el tipo de región constante que contienen. En seres humanos estos se llaman IgM, IgG, IgA, IgE e IgD. Todos pueden secretarse como anticuerpos solubles, aunque la IgD existe principalmente como una forma unida a célula. Además de estas clases principales de anticuerpos, también hay subclases de algunos de ellos, como las diferentes formas de IgG que tienen distintas funciones. Las diferentes funciones de distintos tipos de anticuerpos están determinadas de manera exclusiva por sus regiones constantes. ³

Diferentes clases de anticuerpos por lo general se encuentran en distintos compartimientos del organismo. Por ejemplo, la IgM y la IgG comúnmente se encuentran en la sangre y en sitios de inflamación, y la IgG también puede cruzar la placenta hacia el feto. En contraste, la IgA típicamente es secretada hacia sitios mucosos y hacia la leche materna de mamíferos, desde donde

puede pasar a los recién nacidos. La IgE está presente a cifras bajas en la sangre, pero se une con alta afinidad a mastocitos en tejidos. ³

Así mismo, tienen diferentes funciones; por ejemplo, la IgM no puede actuar como una opsonina por sí sola, pero es en particular eficiente para activar el complemento. Algunos tipos de IgG son muy buenas opsoninas, y en algunos casos también aumentan la muerte de microbios por fagocitos. La IgA y algunos tipos de IgG son muy eficientes en su capacidad de unirse a virus, bacterias o toxinas y evitar que infecten células o actúen sobre las mismas. La IgE es muy buen “sensibilizador” de mastocitos: cuando un antígeno se une a IgE que está fija a mastocitos o eosinófilos, estimula la desgranulación, y los mediadores que son liberados ayudan a estimular la inflamación y pueden ser tóxicos para microbios o parásitos más grandes. ³

3.1.4.5. Moléculas emisoras de señales intracelulares.

Las moléculas receptoras asociadas con células están enlazadas a componentes intracelulares que pueden traducir señales. La transducción de señal es iniciada cuando un receptor reconoce su ligando; esto estimula diferentes cascadas bioquímicas intracelulares (vías de transducción de señales). Algunas de estas señales finalmente actúan sobre el citoesqueleto, de modo que la célula puede cambiar de forma, internalizar moléculas o partículas, o moverse. Otras aumentan o disminuyen la susceptibilidad de una célula a apoptosis, lo que regula la supervivencia celular. Aun otros pueden emitir señales hacia el núcleo, activar factores de transcripción y activar la expresión de genes y, por ende, de las proteínas que son sintetizadas dentro de la célula. ³

3.2. INMUNIDAD ADAPTATIVA, ADQUIRIDA O ESPECÍFICA.

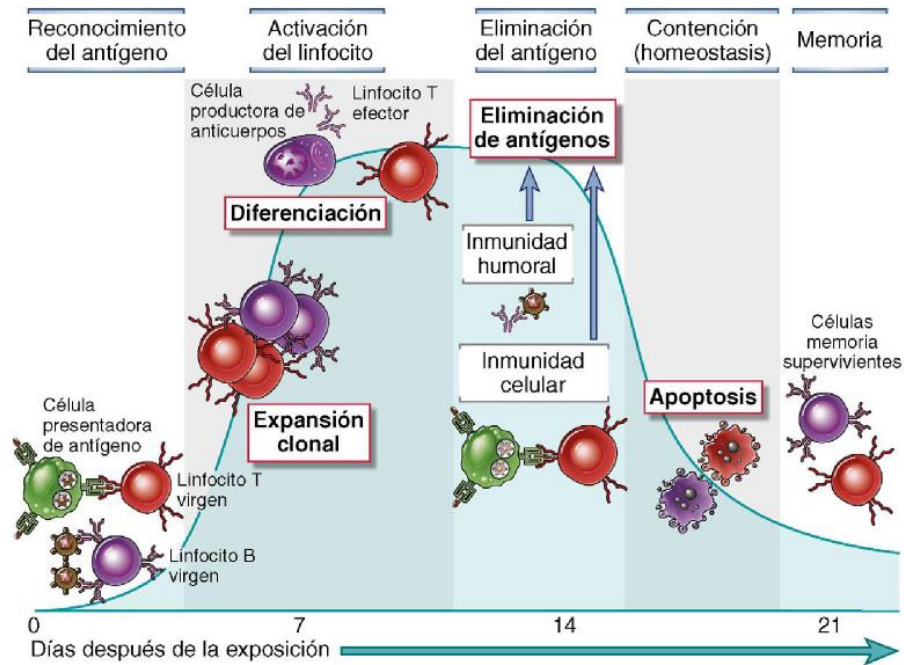
Las reacciones de la inmunidad innata controlan e incluso erradican infecciones. Sin embargo, una característica de muchos microbios patógenos es que han evolucionado para resistir a la inmunidad innata. La defensa contra estos microorganismos patógenos requiere los mecanismos más potentes y especializados de la inmunidad adaptativa, que le impiden invadir y replicarse en las células y los tejidos del anfitrión.³

El sistema inmunitario adaptativo recurre a tres estrategias principales para combatir a la mayoría de los microbios:

- a) Los anticuerpos segregados se unen a los microorganismos extracelulares, bloquean su capacidad para infectar las células del anfitrión y favorecen su ingestión por los fagocitos y su destrucción posterior.
- b) Los fagocitos ingieren los microbios y los destruyen, y los linfocitos T cooperadores fomentan sus capacidades microbicidas.
- c) Los linfocitos T citotóxicos destruyen las células infectadas por los microbios que son inaccesibles a los anticuerpos y a la destrucción por los fagocitos.

El objetivo de la respuesta adaptativa consiste en activar uno o varios de estos mecanismos de defensa contra los diversos microbios que puedan hallarse presentes en distintos lugares anatómicos, como la luz intestinal, la circulación o el interior de las células.³ Todas las respuestas inmunitarias adaptativas se desarrollan en fases cada una corresponde a reacciones particulares de los linfocitos (Figura 10).

Figura 10. Fases de la respuesta inmunitaria adaptativa.



Las respuestas inmunitarias adaptativas constan de fases distintas; las tres primeras son el reconocimiento del antígeno, la activación de los linfocitos y la eliminación del antígeno (fase efectora). La respuesta se contrae (declina) a medida que los linfocitos estimulados por el antígeno mueren por apoptosis, lo que restaura la homeostasis, y las células específicas frente al antígeno que sobreviven son responsables de la memoria. La duración de cada fase puede variar en diferentes respuestas inmunitarias.

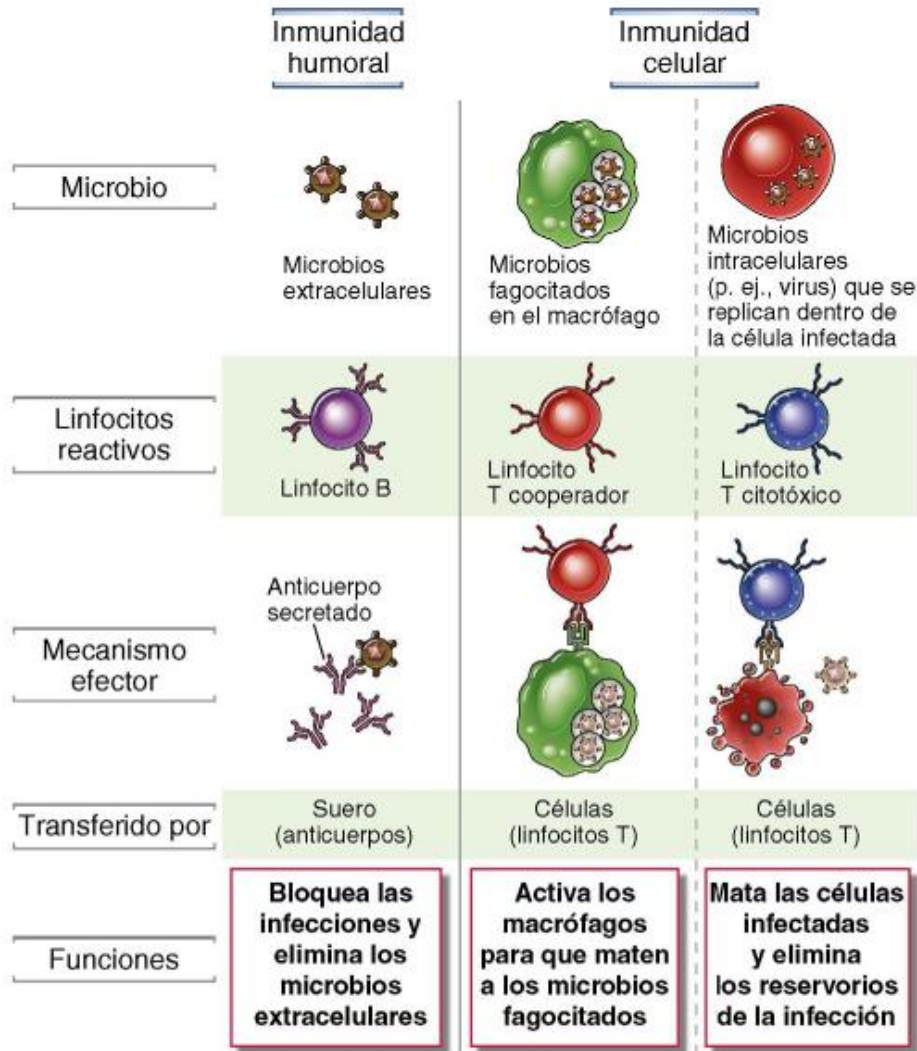
Las células dendríticas son las encargadas de presentar los péptidos microbianos a los linfocitos T CD4+ y CD8+ vírgenes y ponen en marcha las respuestas inmunitarias adaptativas contra los antígenos proteínicos. Las que se encuentran situadas en los epitelios y los tejidos conjuntivos atrapan a los microorganismos, digieren sus proteínas en péptidos y los expresan en su superficie unidos a las moléculas del MHC, que están especializadas en la presentación de péptidos en el sistema inmunitario adaptativo.³

La inmunidad adaptativa es específica frente a diferentes antígenos microbianos y no microbianos, y aumenta con exposiciones repetidas al antígeno (memoria inmunitaria) (Tabla 2).³

Tabla 2. Características principales de las respuestas inmunitarias adaptativas.	
Características	Significado funcional
Especificidad	Asegura que la respuesta inmunitaria frente a un microbio (o antígeno no microbiano) se dirija solo a ese microbio (antígeno).
Diversidad	Capacita al sistema inmunitario para responder a una gran diversidad de antígenos.
Memoria	Aumenta la capacidad de combatir infecciones repetidas por el mismo microbio.
Expansión clonal	Aumenta el número de linfocitos específicos frente al antígeno capaces de controlar los microbios.
Especialización	Genera respuestas que son óptimas para la defensa contra diferentes tipos de microbios.
Contención y homeostasis	Permite al sistema inmunitario recuperarse de una respuesta de modo que pueda responder de forma eficaz a los antígenos con los que se encuentre de nuevo.
Falta de reactividad frente a lo propio	Impide dañar al anfitrión durante las respuestas a antígenos extraños.

La inmunidad adaptativa comprende: a) la inmunidad humoral, que está mediada por los linfocitos B y sus productos secretados, los anticuerpos y sus funciones en la defensa contra microbios extracelular y b) la inmunidad celular, que esta mediada por los linfocitos T y sus productos, como las citocinas, y es importante para la defensa contra los microbios intracelulares (Figura 11).³

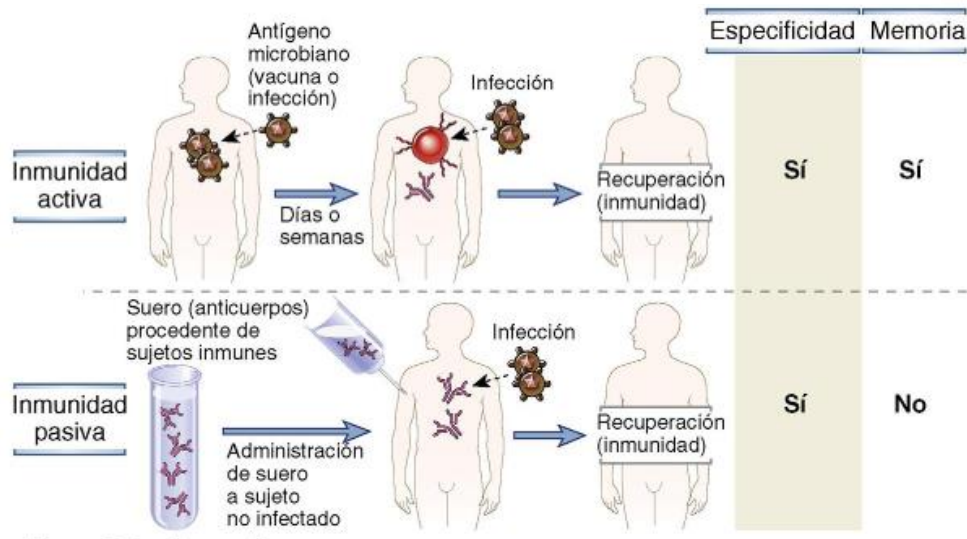
Figura 11. Tipos de inmunidad adaptativa.



En la inmunidad humoral, los linfocitos B secretan anticuerpos que evitan las infecciones y eliminan los microbios extracelulares. En la inmunidad celular, los linfocitos T cooperadores activan macrófagos para que maten a los microbios fagocitados, o los linfocitos T citotóxicos destruyen directamente las células infectadas.

La inmunidad puede adquirirse por una respuesta al antígeno (inmunidad activa) o conferirse mediante la transferencia de anticuerpos o células procedentes de un sujeto inmunizado (inmunidad pasiva) (Figura 12).³

Figura12. Inmunidad Activa y Pasiva.



La inmunidad activa se confiere mediante la respuesta del anfitrión a un microbio o un antígeno microbiano, mientras que la inmunidad pasiva se confiere mediante la transferencia adoptiva de anticuerpos o linfocitos T específicos frente al microbio. Ambas formas de inmunidad proporcionan resistencia a la infección y son específicas frente a antígenos microbianos, pero solo las respuestas inmunitarias activas generan memoria inmunitaria.

El sistema inmunitario posee varias propiedades que son fundamentales para sus funciones normales. Entre ellas están la especificidad frente a diferentes antígenos, un repertorio diverso capaz de reconocer una amplia variedad de antígenos, el recuerdo de la exposición al antígeno, la capacidad expandir rápidamente los clones de los linfocitos específicos frente al antígeno, las respuestas especializadas frente a diferentes microbios, el mantenimiento del homeostasis y la capacidad de discriminar entre antígenos extraños y propios.³

Los linfocitos son las únicas células capaces de reconocer de forma específica antígenos, y por ello son las principales células de la inmunidad adaptativa. Las dos principales subpoblaciones de linfocitos son los linfocitos B y los linfocitos T, y difieren en sus receptores para el antígeno y en sus funciones. La célula presentadora de antígenos especializada captura

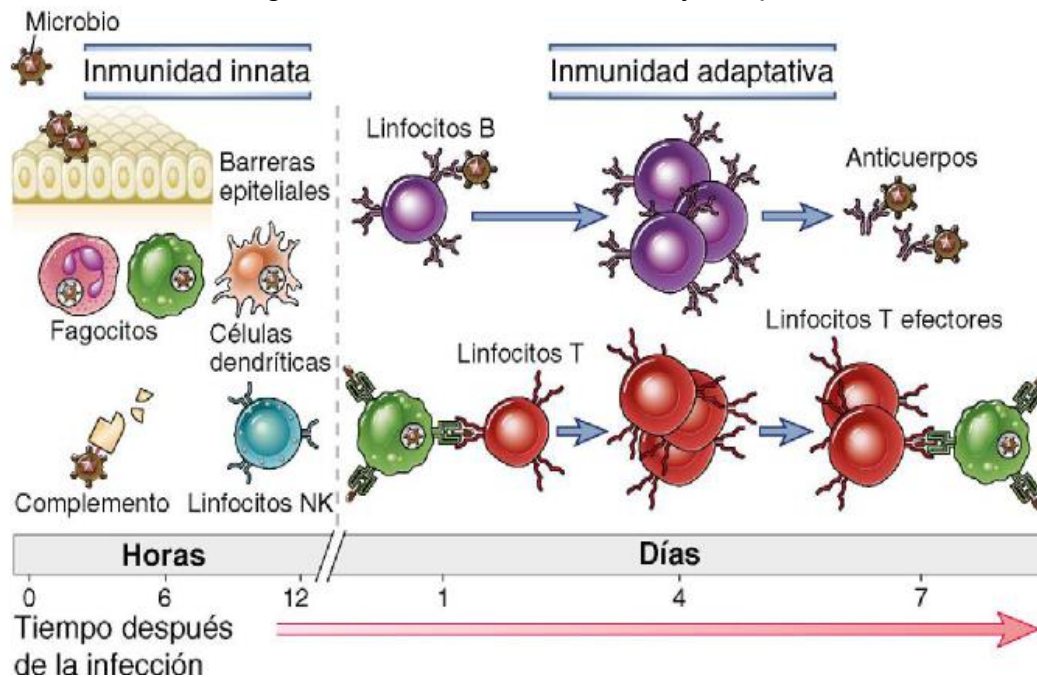
antígenos microbianos y los muestra para que sean reconocidos por los linfocitos. La eliminación de los antígenos requiere a menudo la participación de varias células efectoras. La respuesta inmunitaria adaptativa la inicia el reconocimiento de antígenos extraños por linfocitos específicos. Los linfocitos responden mediante proliferación y diferenciación en células efectoras, cuya función es eliminar el antígeno y convertirse en células de memoria, que muestran respuesta potenciadas ante posteriores encuentros con el antígeno. La activación de los linfocitos requiere el antígeno y señales adicionales que pueden proporcionar los microbios o las respuestas inmunitarias innatas que producen frente a ellos. ³⁻⁵

Los linfocitos T CD4+ cooperadores ayudan a los macrófagos a eliminar los microbios ingeridos y a los linfocitos B a producir anticuerpos. Los linfocitos T CD8+ provocan la lisis a las células que albergan microorganismos intracelulares, con los que eliminan los reservorios de la infección. Los anticuerpos, los productos de los linfocitos B, neutralizan la patogenicidad de los microbios y promueven su eliminación por los fagocitos y por la activación del sistema del complemento. ³⁻⁵

Así tenemos que la respuesta inmunitaria innata y la respuesta inmunitaria adaptativa, son los ingredientes de un sistema integral encargado de defender al anfitrión, en el que funcionan conjuntamente numerosas células y moléculas. Los mecanismos de la inmunidad innata constituyen una primera línea de defensa eficaz contra las infecciones. Sin embargo, muchos microorganismos patógenos han evolucionado hasta ser resistentes a la inmunidad innata, y su eliminación exige aquellos mecanismos más potentes de la inmunidad adaptativa. Hay muchas conexiones entre el sistema inmunitario innato y el adaptativo. La respuesta inmunitaria innata frente a los microbios estimula las respuestas inmunitarias adaptativas e influye en su naturaleza. Por el contrario, las respuestas inmunitarias adaptativas actúan a

menudo potenciando los mecanismos protectores de la inmunidad innata, lo que las hace capaces de combatir a los microbios patógenos (Figura 13).³

Figura 13. Inmunidades innata y adaptativa.



Los mecanismos de la inmunidad innata proporcionan la defensa inicial contra las infecciones. Las respuestas inmunitarias adaptativas aparecen después y consisten en la activación de los linfocitos. La cinética de las respuestas inmunitarias innata y adaptativa son aproximaciones y pueden variar en diferentes infecciones.

3.3. PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS (PAMs).

Los organismos vivos son sistemas abiertos que se encuentran constantemente expuestos al ambiente, lo que implica afrontar el riesgo constante de adquirir infecciones; para defenderse de este tipo de amenazas han desarrollado mecanismos de defensa que conforman el sistema inmune como se describió anteriormente.⁸

El contacto inicial de los microorganismos patógenos generalmente ocurre en la superficie del cuerpo y en las mucosas. En este sitio tiene lugar la primera

línea de defensa por medio del sistema inmunitario innato que no requiere una exposición previa de reconocimiento a los microorganismos patógenos. Las respuestas inmunitarias adquiridas son posteriores y se vinculan con la activación de las células B y T dirigidas contra antígenos específicos. Una vez, que el sistema inmune es activado se desencadena una respuesta consistente en una cascada de eventos innatos y adquiridos. Para que se lleven a cabo dichas cascadas de reacciones es imprescindible el reconocimiento de proteínas, mediante la interacción de pequeñas secuencias de aminoácidos (motivos) que permitan el reconocimiento y la activación de la vía necesaria para una función celular determinada. Se han identificado secuencias de aminoácidos que pueden determinar la función de una proteína, como el caso del motivo RGD en integrinas, que es primordial para la adhesión celular gracias a su interacción con distintos elementos de la matriz extracelular. En la actualidad, ha tomado gran auge el estudio de péptidos con actividad biológica ya que pueden ejercer un papel importante en la regulación metabólica. Estos péptidos funcionales o bioactivos se definen como secuencias de aminoácidos inactivos en el interior de la proteína precursora, que ejercen determinadas actividades biológicas tras su liberación mediante hidrólisis química o enzimática. Generalmente, son péptidos de pequeño tamaño, de 3 a 20 aminoácidos. Existen estudios que demuestran que péptidos bioactivos derivados de diferentes proteínas ejercen efectos inmunomoduladores *in vitro* e *in vivo*. Una variedad importante de estas moléculas es la secreción de péptidos antimicrobianos (PAMs) que forman parte del arsenal de la respuesta inmunitaria innata, ya que proporcionan un mecanismo efectivo y rápido como línea frontal de defensa.^{10,22}

Estos péptidos antimicrobianos se han encontrado en casi todos los seres vivos (insectos, anfibios, plantas y mamíferos). El espectro de actividad de los PAMs es amplio, se encuentra actividad antiviral, antifúngica,

antibacteriana, en algunos casos, antitumoral. Hasta Julio de 2015, según la base de datos del Department of Pathology & Microbiology University of Nebraska Medical Center, se han encontrado 2600 péptidos y proteínas antimicrobianas de los cuales 111 son péptidos humanos.¹³

Los PAMs son, generalmente, pequeños péptidos catiónicos que contienen menos de 100 aminoácidos y son producidos por diferentes células de la piel y las mucosas de las vías aéreas y digestivas; se expresan de forma constitutiva o inducible dependiendo del organismo y del tejido en el que estén presentes al momento de la infección, y tienen un amplio espectro antimicrobiano y bajo potencial de resistencia.⁷ Sus mecanismos de acción son múltiples e incluyen interacciones con la membrana celular, inhibición de síntesis proteica y de ácidos nucleicos, con funciones inmunomoduladoras, quimiotácticas y en el proceso de cicatrización.^{8,9}

Los PAMs se han identificado en una variedad de tejidos como la piel, los ojos, los oídos, la boca, las vías respiratorias, pulmón, los intestinos y el tracto urinario. Mientras se detecta catelicidina humana LL-37 en la piel de recién nacidos, la β -defensina 2 (HBD-2) se expresa frecuentemente en adultos mayores. La familia de las defensinas y la catelicidina son significativamente más altos en los queratinocitos fetales que en las células de la piel después del parto. La lisosima y lactoferrina se han encontrado en las lágrimas humanas. Mientras que las defensinas, histatinas y las catelicidinas son importantes en la prevención y actividad antimicrobiana en la cavidad oral.¹²

3.3.1. Composición, estructura y clasificación de los péptidos antimicrobianos.

La primera proteína antimicrobiana reconocida fue la lisosima humana (130 aminoácidos), descubierta en la saliva por Alexander Fleming en 1922. Sin

embargo, el aislamiento y la caracterización de más PAMs con secuencias de aminoácidos definidas no comenzaron hasta la década de 1980. Inicialmente, se utilizaron métodos cromatográficos para aislar y caracterizar nuevos péptidos. Con el reconocimiento de la secuencia de los péptidos, métodos bioinformáticos se desarrollaron más adelante para identificar PAMs a nivel genómico.⁹

Según la secuencia, carga, conformación y estructura, tamaño, hidrofobicidad y anfipaticidad son las características antimicrobianas de los PAMs. Sin embargo, existen dos características comunes en la mayoría de los PAMs, sin importar su estructura o su tamaño. Primero, tienen carga positiva debido a la presencia de un gran número de aminoácidos básicos (en su mayoría lisina y arginina), y segundo, aproximadamente 50% de los aminoácidos que los constituyen son hidrofóbicos. Así tenemos que los PAMs tienen diversas formas de clasificarse:¹⁴

- a) Sobre la base de fuente biológica: De bacterias (bacteriocinas), de plantas, de animales (insectos, anfibios, peces, reptiles, mamíferos, etc.) basados en nombres de la familia de origen.
- b) Sobre la base de las funciones biológicas: antibacteriano, antiviral, antifúngico, insecticida, quimiotaxis, la cicatrización de heridas, la promoción del crecimiento antiparasital, etc.
- c) En base a las propiedades de los péptidos:
 - I. Carga Neta: catiónicos, neutros y aniónicos.
 - II. Hidrofobicidad: hidrófobos, antipáticos e hidrófilos.
 - III. Tamaño: ultrapequeño (2 a 10 aa), pequeño (10 a 24 aa), mediano (25 a 50 aa) y grande (50 a 100 aa). PAMs mayores a 100 aa son con consideradas proteínas antimicrobianas.
- d) Con base a su composición y estructura:

- I. Péptidos aniónicos: son pequeños péptidos ricos en ácido glutámico y aspártico, como la maximina de anfibios y la dermidina en seres humanos.
- II. Péptidos lineales catiónicos con α -hélice, se incluyen las LL-37 de humanos, CAP-18 de conejos, magainina de anfibios y cecropinas de insectos y nematodos.
- III. Péptidos catiónicos enriquecidos con aminoácidos específicos, como la abaecina de abeja adicionada con prolina; la profenina del cerdo; la indolicidina del ganado y la histatina de primates.
- IV. Péptidos aniónicos y catiónicos que contienen cisteína y forman puentes disulfuro, como las brevininas y la protegrina en cerdos; y las defensinas de mamíferos e insectos.
- V. Fragmentos peptídicos de péptidos aniónicos y catiónicos, como: lactoferricina proveniente de lactoferrina, casodicina de caseína y los dominios de α lactalbúmina, hemoglobina humana, lisozima y ovoalbúmina.

e) Basándose en la estructura secundaria (Figura 14):

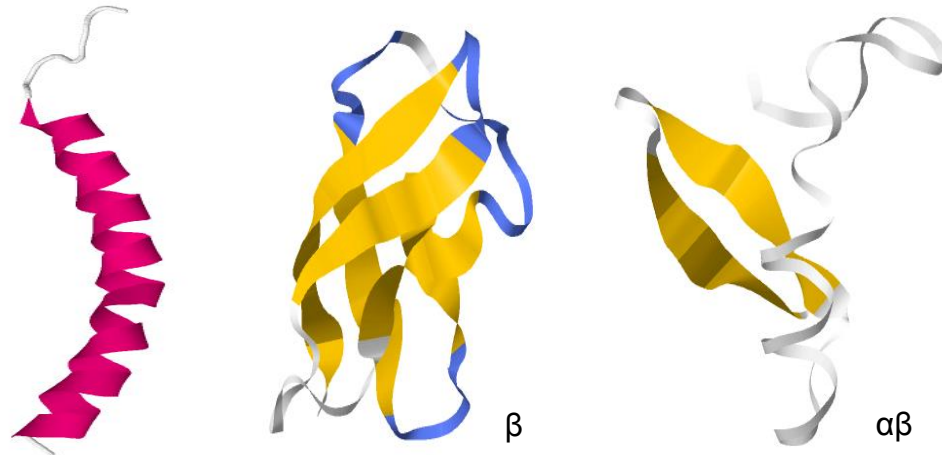
- I. Familia α , consiste en PAMs con estructuras helicoidales.
- II. Familia β , se compone de PAMs laminares.
- III. Familia $\alpha\beta$, comprende PAMs con estructuras helicoidales y laminares.
- IV. Familia no $\alpha\beta$, no contiene estructuras secundarias helicoidales o laminares.

f) De acuerdo con las características estructurales, la composición de residuos de aminoácidos y el número de puentes disulfuro.

- I. Estructura β laminar, con dos, tres o cuatro uniones disulfuro intramoleculares.
- II. α -hélices anfifílicas sin residuos de aminoácidos tipo cisteína.
- III. α -hélice extendida, libres de cisteínas, pero con alto contenido de un aminoácido en particular (prolina, arginina o triptófano).

IV. Globulares irregulares.

Figura 14. Ejemplos de PAMs según su estructura secundaria.



3.3.2. Mecanismos de acción.

Para llevar a cabo su función microbicida, los PAMs utilizan uno de los siguientes mecanismos: a) interferir en la síntesis de enzimas metabólicas o del DNA, como en el caso de algunos PAMs de origen microbiano, cuyo proceso aún no es bien conocido; o b) actuar directamente a nivel de la membrana celular ya sea alterando la permeabilidad o lisándola mediante la formación de canales o poros, como en el caso de los péptidos α -hélice.¹²

Aunque se desconocen muchos detalles sobre los mecanismos de acción de los PAMs se considera que actúan directamente en la membrana celular y que su secuencia de aminoácidos es importante, ya que si se sustituyen aminoácidos que alteren la polaridad del péptido, su actividad disminuye. Aparentemente no requieren receptores específicos, como se ha demostrado al sustituir aminoácidos por sus correspondientes D-enantiómeros sin alterar su actividad. Esto ha sido reforzado al demostrar, por resonancia magnética

nuclear y dicroísmo circular, que el mecanismo de daño se inicia por una interacción electrostática. Este comportamiento molecular y su carácter catiónico hacen que los PAMs presenten una mayor afinidad por los fosfolípidos ácidos de las bacterias Gram- y polisacáridos de las bacterias Gram+, que por los fosfolípidos anfipáticos de las membranas de células de mamíferos. Lo anterior permite explicar la falta de citotoxicidad para las células animales y permite proponer a los PAMs como agentes terapéuticos altamente específicos. ¹³⁻¹⁵

Los mecanismos de acción de los péptidos antimicrobianos son variados y están relacionados con complejas interacciones moleculares, lo que ha llevado a llamarlas “medicamentos sucios”, debido a su diversidad de sus mecanismos de acción, su naturaleza anfifílica y su carga catiónica, en comparación con los antibióticos convencionales, como los beta-lactámicos, con un único mecanismo de acción. ¹³⁻¹⁵

3.3.2.1. Interacciones con la membrana.

La interacción inicial de los PAMs con las bacterias, generalmente, es producida por una carga positiva y su atracción electrostática hacia las superficies aniónicas de las paredes, ya sea por los ácidos teicoicos y lipoteicoicos en los Gram positivos o los lipopolisacáridos de los Gram negativos. Después de esta interacción, los PAMs generan áreas de inestabilidad en la membrana externa, permitiendo la translocación de estos mismos a través de la bicapa externa; una vez localizados en la membrana, pueden sufrir modificaciones en su conformación y producir daños en la membrana o internamente. ¹³⁻¹⁵

- a) Mecanismo de barril. Luego de interactuar con la membrana y alcanzar un nivel crítico entre péptido y lípido, los péptidos se reorientan de forma perpendicular formando una empalizada con sus

cadenas laterales hidrofóbicas que encaran el centro hidrofóbico de la membrana y sus cadenas polares, y enfrentan el centro creando un poro hidrofílico. La formación de este tipo de poros es irregular en tamaño y duración, lo que genera, finalmente, una pérdida del equilibrio osmótico y del potencial de membrana.

- b) Mecanismo de forma anular. Los péptidos se unen a la membrana al alcanzar una concentración límite que hace que los lípidos se doblen formando un canal delimitado por la cabeza de los grupos lipídicos asociados a los péptidos que, a diferencia del anterior, forman un canal mixto del péptido con los lípidos de la membrana.
- c) Mecanismo de alfombra. En este mecanismo, los péptidos no se insertan en la membrana, sino que permanecen asociados con la cara externa y, al alcanzar un punto crítico, forman una especie de alfombra capaz de debilitar la membrana y causar su colapso en una configuración de micelio; eventualmente, se produce la muerte celular por pérdida del citoplasma.
- d) Mecanismo de agregado. En este modelo, similar a la función de los detergentes, el péptido se une a la membrana y, a una concentración suficiente, se reorienta, lo que permite la formación de estructuras parecidas a los micelios que se extienden en la bicapa en un complejo péptido lipídico. Estos agregados aleatorios transmembrana de lípido péptido y agua, forman un canal por el cual se liberan iones, causando la muerte por pérdida del contenido citoplasmático, o pueden desintegrarse espontáneamente, lo que conlleva a la translocación de los péptidos hacia el citoplasma donde puede afectar blancos de acción interna.

3.3.2.2. Mecanismos relacionados con los ácidos nucleicos, síntesis, translocación y plegamiento de proteínas.

Se han encontrado algunos péptidos antimicrobianos que no tienen función sobre la membrana y son capaces de traspasarla, acumularse internamente y unirse al ADN mediante motivos de unión relacionados con las histonas. En otros péptidos como la indolicina derivada de los neutrófilos bovinos, pueden alterar la permeabilidad de la membrana; también, tienen mecanismos alternativos al unirse al ADN o a algunas enzimas asociadas a este, como la topoisomerasa I y la ARN polimerasa, encontrándose que estos péptidos pueden inhibir el crecimiento bacteriano mediante la interacción con los ácidos nucleicos. ¹⁴

Otros péptidos son capaces de alterar la síntesis proteica, al interrumpir la incorporación de histidinas y alterar las enzimas involucradas en la síntesis proteica. Algunos de los péptidos que han mostrado este tipo de actividad son PR-39, dermaseptin. Pleurocidín y péptido defensina humana 1. Otros péptidos, como el pirrocoricín y el drosocín, actúan sobre el plegamiento de las proteínas mediante la inhibición de chaperonas específicas de las bacterias. ¹⁴

En otros péptidos, como el microcín J25, se han encontrado que, incluso, son capaces de alterar la cadena respiratoria al inhibirse el consumo de oxígeno y estimular la producción de especies reactivas de oxígeno. ¹⁴

3.3.3. Péptidos antimicrobianos humanos.

Como se mencionó anteriormente, hasta Julio de 2015, según la base de datos del Department of Pathology & Microbiology University of Nebraska Medical Center, se han encontrado 2600 péptidos y proteínas antimicrobianas de los cuales 111 son péptidos humanos. Tales péptidos se

han identificado a partir de una variedad de tejidos y superficies epiteliales, incluyendo la piel, los ojos, la boca, el intestino, los pulmones, las vías respiratorias y los sistemas inmunológico, nervioso y urinario. La mayoría de estos péptidos son catiónicos con una secuencia variada de 10 a 60 aminoácidos y un contenido hidrófobo por debajo de 60%. La diversidad de secuencia permite a los PAMs humanos adoptar diversas estructuras secundarias y mecanismos de acción contra los microorganismos (Tabla 3).

14

Tabla 3. Ejemplos de Péptidos Antimicrobianos Humanos.		
NOMBRE	SECUENCIA	FUENTE
Lisozima	KVFERCELARTLKRLGMDGYRGISLANWMCLAK WESGYNTRATNYNAGDRSTDYGFQINSRYWCN DGKTPGAVNACHLSCSALLQDNIADAVACAKRVV RDPQGIRAWVAWRNRCQNRDVRQYVQGCGV	Saliva, lágrimas e intestino.
α-Defensina HNP-1	ACYCRIPACIAGERRYGTCTIYQGRLWAFCC	Neutrófilos y médula ósea.
α-Defensina HNP-2	CYCRIPACIAGERRYGTCTIYQGRLWAFCC	Neutrófilos y médula ósea.
α-Defensina HNP-3	DCYCRIPACIAGERRYGTCTIYQGRLWAFCC	Neutrófilos y médula ósea.
Histatina 1	DSHEKRHHGYRRKFHEKHSHREFPFYGDYGSN YLYDN	Saliva
Histatina 3	DSHAKRHHGYKRKFHEKHSHRGYRSNYLYDN	Saliva
α-Defensina HNP-4	VCSCRLVFCRTELRVGNCLIGGVSFTYCCTRV	Neutrófilos
α-Defensina HD-6	AFTCHCRRSCYSTEYSYGTCTVMGINHRFCCL	Células de Paneth e intestino.
β-Defensina hBD-1	DHYNCVSSGGQCLYSACPIFTKIQTGTCYRGKAKC CK	Riñón, piel y saliva.
Catelicidina LL-37	LLGDFFRKSKEKIGKEFKRIVQRIKDFLRNLPVPRTE S	Piel y neutrófilos.

β-Defensina hBD-2	GIGDPVTCLKSGAICHVPVFCPRRYKQIGTCGLPGT KCKKKP	Saliva, piel y células epiteliales.
β-Defensina hBD-3	GIINTLQKYICRVRGGRCVLSCLPKKEEQIGKCST RGRKCCRRKK	Piel y saliva.
β-Defensina hBD-4	FELDRICGYGTARCRKKCRSQEYRIGRCPNTYAC CLRKWDESLLNRTKP	Neutrófilos.
Dermcidina	SSLLEKGLDGAKKAVGGLGKLGKDAVEDLESVGK GAVHDVKDVLDSV	Piel.

3.3.4. Péptidos antimicrobianos en la cavidad oral.

En la cavidad oral, la gingivitis y la periodontitis son de las entidades patológicas más comunes conocidas para los seres humanos. La cavidad oral es un entorno único donde los tejidos duros sobresalen a través de los tejidos blandos en un ambiente húmedo, que contiene nichos para bacterias comensales y patógenas. ¹¹

La cavidad oral contiene más de 700 especies bacterianas residentes, de las cuales se han encontrado alrededor de 400 especies bacterianas en las bolsas periodontales, pero un pequeño subconjunto de éstas se encuentra específicamente en sujetos individuales. De hecho, solo ocho especies bacterianas constantemente se han asociado con la enfermedad periodontal, incluyendo *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. denticola*, *F. nucleatum*, *E. nodatum*, *P. intermedia* y *P. nigrescens*. Sin embargo, estas bacterias se encuentran tanto en sitios sanos y enfermos, aunque los números son muchos más altos (hasta 10⁵ veces) en los últimos sitios. ²³

El revestimiento epitelial, que alguna vez se pensaba que era una barrera física pasiva, está siendo reconocida por su papel activo en la defensa innata del huésped. Por ejemplo, los PAMs contribuyen a la protección de los

tejidos del huésped de la placa bacteriana en torno a la superficie coronal y radicular de los órganos dentarios.²³

Los PAMs mayormente estudiados en la cavidad oral se dividen principalmente en 3 familias: las defensinas, las catelicidinas y las histatinas; quienes se organizan de acuerdo a su tamaño, su estructura y la organización de sus aminoácidos. Inicialmente su interés surgió en torno a sus propiedades antibacterianas; sin embargo, estudios recientes sugieren que estos PAMs también contribuyen a la defensa del huésped y la homeostasis mediante el reclutamiento de células inmunes en tiempos de la salud y la enfermedad.²⁰

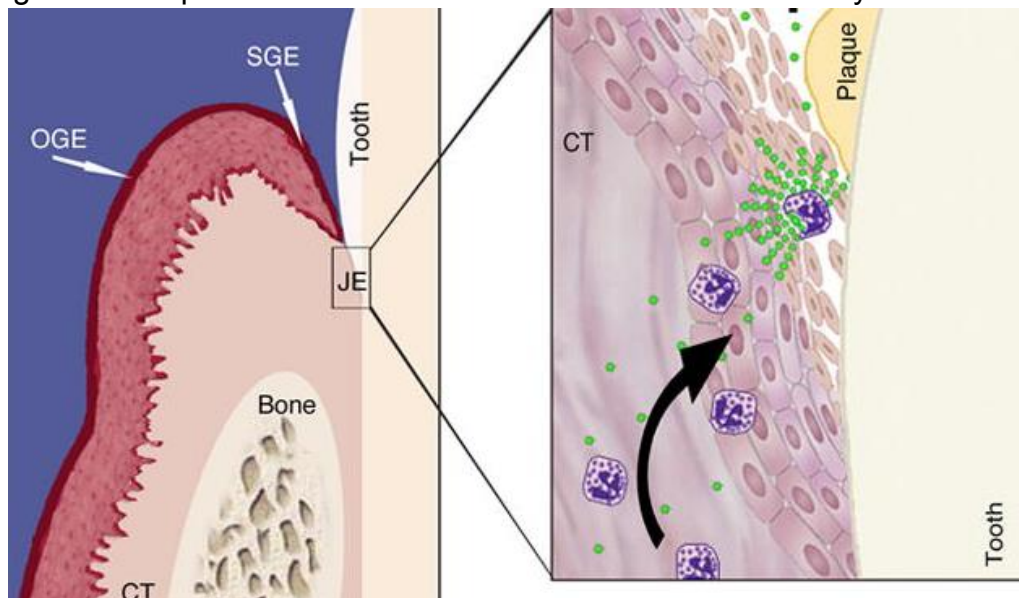
Para estudiar el efecto de los PAMs implica implementar métodos no invasivos para medir la actividad en los fluidos como la saliva y líquido crevicular gingival, que contienen productos de nivel local y sistémico. El líquido crevicular gingival proporciona una representación precisa de las concentraciones de los mediadores inflamatorios en el suero y tejidos adyacentes. Por lo tanto, muchos de los datos relativos a la cavidad oral son estudiados por la colección de PAMs en las secreciones orales. Estos estudios han iluminado actividades que conectan a los PAMs con funciones inmunes en la cavidad oral además de las funciones antimicrobianas.²³

A medida que la atención se ha desplazado de las funciones antimicrobianas a los efectos sobre el sistema inmunológico, las actividades de las defensinas, catelicidinas e histatinas ahora se reportan dentro de diversos tejidos humanos. Por ejemplo, estos PAMs, tienen la capacidad de mejorar la fagocitosis de los macrófagos, sirven como quimioatrayentes para monocitos, macrófagos, linfocitos T y células dendríticas inmaduras. Además, las defensinas tienen la capacidad de suprimir la producción de citoquinas proinflamatorias de ciertos antígenos microbianos. Así mismo, las histatinas y catelicidinas, pueden activar y regular el sistema del complemento, además

de que son capaces de mejorar la respuesta inmune específica de antígeno.
20,23

Las defensinas y las catelicidinas, se encuentran distribuidos por los neutrófilos y queratinocitos en el epitelio gingival, pero son mayormente encontrados en el epitelio de unión, donde los neutrófilos son abundantes en salud y enfermedad; mientras las histatinas se encuentran mayormente en la saliva y la superficie dental impidiendo la colonización bacteriana (Figura 15).²⁰

Figura 15. Representación de la ubicación de las defensinas y catelicidinas



El epitelio oral compuesto por el epitelio oral gingival (OGE), el epitelio del surco oral (OSE), tejido conectivo (CT) y epitelio de unión (JE). En el acercamiento ejemplifica una degranulación de neutrófilos polimorfonucleares (PMN) a la estimulación bacteriana. Las secreciones contienen PAMs que incluyen α -defensinas y catelicidina LL-37, que actúan de forma directa o en las células epiteliales para reclutar más PMN en el área de invasión bacteriana.

Los neutrófilos, que contiene PAMs, se encuentran en el epitelio de unión tanto sanos como enfermos; haciendo de este tejido el depósito principal para la actividad asociada a defensinas y catelicidinas que contribuyen en la homeostasis. El epitelio de unión es altamente poroso, consta de un gran

espacio lleno de líquido intracelular donde las células están interconectadas por desmosomas y uniones de hendidura. Para gestionar el desafío microbiano constante presentado por el biofilm y bacterias planctónicas en la cavidad oral, el periodonto selecciona mediadores, tanto de la inmunidad innata y adaptativa. Así tenemos que, la respuesta inmune innata puede ser inducida por bacterias, tanto comensales como patógenas; no obstante, la respuesta a las bacterias comensales puede contribuir a la condición defensiva del tejido periodontal. La respuesta inmune adaptativa implica el reclutamiento de células tales como linfocitos, células T asesinas y células T auxiliares al sitio de la inflamación. ¹¹

En el epitelio de unión, uno de los componentes claves para la defensa innata del huésped es la migración de neutrófilos. Los neutrófilos son la célula inmune más abundante en el periodonto donde aproximadamente 30 000 transitan por minuto. La migración de neutrófilos se ha relacionado con la expresión coordinada de moléculas de adhesión intercelular que dirigen el movimiento de los neutrófilos a partir del tejido gingival, que es altamente vascular, a la cresta gingival. Una vez que los neutrófilos alcanzan la cresta gingival, forma una barrera entre la biofilm, la placa dental y el tejido del huésped. Dentro del epitelio de unión, la densidad de los neutrófilos crea un gradiente donde hay más neutrófilos hacia las capas superficiales, en las proximidades de la placa sub gingival. En la enfermedad periodontal temprana y crónica, los neutrófilos son los más abundantes. ^{11,24}

3.3.4.1. Familia de las Defensinas.

Las defensinas en los humanos son péptidos catiónicos, relativamente ricos en arginina, con un peso molecular de 3-4.5 kDa. Tienen una estructura β laminar y contienen invariablemente seis residuos de cisteínas, los cuales están unidos entre sí por tres puentes de disulfuro, los cuales son

característicos de estas. El número de aminoácidos que conforman estos péptidos pueden variar de 20 a 45. ^{10,26}

La familia de las defensinas se divide en defensinas α y β ; su clasificación se basa en la posición de los enlaces disulfuro y la distribución de la cisteína. Las defensinas humanas muestran gran homología con las defensinas de otros mamíferos e insectos. Se han encontrado al momento seis α -defensinas y cuatro β -defensinas (Figura 16).^{10,26}

Figura 16. Familia de las defensinas: secuencia de aminoácidos y puentes



In vivo, las defensinas en promedio muestran actividad antimicrobiana a concentraciones de 1-10 $\mu\text{g/mL}$. Sin embargo, a concentraciones de 15-30 $\mu\text{g/mL}$ existe toxicidad tanto para el patógeno, como para las células productoras del péptido. ¹⁰

3.3.4.1.1. α -defensinas.

Están constituidas por una cadena de 29 a 35 residuos de aminoácidos y contienen tres puentes disulfuro en las posiciones 1-6, 2-4 y 3-5. Las primeras α -defensinas fueron aisladas en 1985 a partir de neutrófilos, de ahí la derivación de su nombre péptidos de neutrófilos humanos. Desde entonces se han identificado seis α -defensinas. ¹¹⁻¹³

Los péptidos de neutrófilos humanos 1-4 (HNP-1 al HNP-4) están localizados en los gránulos azurófilos de los neutrófilos, en donde constituyen la principal proteína (60% del total) y contribuyen eficazmente en el mecanismo oxígeno independiente para eliminar a las bacterias fagocitadas; se encuentran en la saliva, secreciones nasales y fluido crevicular gingival. Las otras dos α -defensinas, 5 y 6, se encuentran principalmente en las células de Paneth del intestino delgado y en las células epiteliales del tracto urogenital femenino. ¹³

Más específicamente, con respecto al contenido de aminoácidos y estructura de los péptidos, el HPN-1, contiene 30 residuos de aminoácidos con una carga neta de +3 y tienen un residuo de alanina N-terminal adicional; el HPN-2, tiene 29 residuos de aminoácidos y carga neta +3; el HPN-3, está integrado por 30 residuos de aminoácidos con una carga neta de +2 y un residuo de ácido aspártico N-terminal adicional; el HNP-4, es ligeramente más grande con 34 residuos de aminoácidos y una carga neta de +3 y es más variable en su composición de aminoácidos. ¹¹⁻¹⁴

La placa subgingival, que contiene bacterias y productos bacterianos, es adyacente al epitelio de unión, donde los péptidos de neutrófilos humanos son abundantes. La actividad antimicrobiana de las α -defensinas no es tan potente como las β -defensinas o el LL-37. Sin embargo, no siempre funcionan solas para proporcionar actividad antimicrobiana. Por ejemplo, una sinergia entre las α -defensinas y el LL-37, actúan conjuntamente contra *E.*

Coli y *Staphylococcus aureus*. De igual manera, las α -defensinas 1, que se encuentran en la saliva y líquido crevicular, son capaces de dirigirse a *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y *Porphyromonas gingivalis* para detener la colonización de estos patógenos. La actividad más activa de las α -defensinas es frente a levaduras y hongos como *Candida albicans*.¹¹⁻¹⁴

Los neutrófilos en el epitelio de unión son la principal fuente de la regulación de α -defensinas. El aumento en el número de neutrófilos durante los episodios de enfermedad gingival explica el hallazgo de que los HNP 1-3 amplíe sus niveles en saliva y líquido crevicular gingival hasta 15 veces en los casos de periodontitis agresiva y hasta 60 veces en la periodontitis crónica. Mientras que un aumento de las α -defensinas es una respuesta característica a la periodontitis, no solo es en la enfermedad periodontal que un incremento puede ser visto; se ha reportado que el HNP-1 aumenta en saliva en pacientes con enfermedades orales como el liquen plano, enfermedad de Behcet y estomatitis aftosa recurrente. En caso contrario, en la enfermedad de Morbus Kostman, una neutropenia congénita grave, se ha demostrado una disminución del 30% de los péptidos de neutrófilos humanos.¹¹⁻¹⁴

Hay una escasez de literatura sobre el papel de alfa-defensinas en el tejido gingival, pero ha habido estudios realizados en otros tejidos. Estos estudios han revelado que las alfa-defensinas tienen numerosas actividades fuera de los clásicos efectos antimicrobianos, antivirales y antiparasitarios. Se han demostrado inducir quimiocinas para los neutrófilos, monocitos, macrófagos, mastocitos, células dendríticas y los linfocitos T. Pueden ser directamente quimiotáctica, tienen selectiva inducción de citoquinas, y servir como adyuvantes. Además, las α -defensinas participan en la cicatrización de heridas y son capaces de aumentar la producción de colágeno, así como la

actividad del complemento y de inhibición de inducir la muerte celular. Estas actividades inmunomoduladoras pueden tener un significado especial en el periodonto, donde los péptidos de neutrófilos humanos pueden contribuir a la migración de neutrófilos. ¹⁸⁻²⁶

En el epitelio de unión, donde los neutrófilos son prolíficos, la interleucina 8 permite la migración de neutrófilos. Se sabe que la interleucina 8 mejora el reclutamiento de neutrófilos a los sitios efectores. Se ha demostrado que los péptidos de neutrófilos humanos regulan la expresión de interleucina 8. Los mastocitos, que son los reclutadores prolíficos de neutrófilos, pueden interactuar con alfa-defensinas. Los mastocitos residen en las proximidades de la capa basal del epitelio y los vasos sanguíneos que los neutrófilos atraviesan en su camino hacia el epitelio de unión. Las α -defensinas, inducen mastocitos de granulación y la liberación de histamina. Los productos de los gránulos de los mastocitos, a su vez, activan el anfitrión para causar una mayor afluencia de neutrófilos. Esto puede contribuir a un bucle de retroalimentación positivo para el reclutamiento de neutrófilos, donde las α -defensinas ayudan a establecer la migración de neutrófilos al epitelio de unión. ²⁶

Los péptidos de neutrófilos humanos también pueden promover la migración de neutrófilos en el periodonto mediante la inducción de citoquinas inflamatorias. Se ha demostrado que los péptidos de neutrófilos humanos 1 a 3 conducen a la producción de mediadores inflamatorios: factor de necrosis tumoral- α , proteína quimiotáctica de monocitos 1 y la proteína inflamatoria de macrófagos 2. ¹⁸⁻²⁰

Otro estudio mostró que el HNP-1 fue capaz de promover la maduración de células dendríticas, que son conocidas por enlazar la respuesta inmune innata y adaptativa. En este mismo estudio señaló que los péptidos neutrófilos humanos aumentan las concentraciones de mediadores

inflamatorios locales, que a su vez induce el reclutamiento de más neutrófilos.^{18,23}

3.3.4.1.2. β -defensinas.

Contienen de 36 a 42 residuos de aminoácidos con seis residuos de cisteína conectados entre sí por tres puentes disulfuro en las ubicaciones 1-5, 2-4 y 3-6. Las β -defensinas humanas, además de tener un potente efecto microbicida, también tienen efectos quimiotácticos sobre células dendríticas inmaduras y células T de memoria. Estos datos sugieren que las β -defensinas promueven la inmunidad adaptativa por medio de los receptores tipo Toll.^{17,25}

En la cavidad oronasal, los tejidos que contienen β -defensinas humanas incluyen: encía, lengua, glándulas salivales y mucosas. La producción y almacenamiento de las β -defensinas se produce en las células epiteliales gingivales, así como en las células dendríticas, aunque en un nivel más bajo. En el epitelio, la expresión de las β -defensinas es muy variada; las β -defensinas 1 (HBD-1) se expresan en el tracto genitourinario y respiratorio, este tipo de defensinas son secretadas de manera constitutiva y se ha observado que la expresión de HBD-1 es aumentada cuando las células epiteliales son expuestas a componentes de la pared celular de *Mycobacterium*. Además, se ha reportado que arginina e isoleucina aumentan la expresión de HBD-1 en células cancerígenas de colon humano.²¹⁻²⁶

Las β -defensinas humanas 2 (HBD-2) se encuentran en epitelios, tales como la piel y el tracto respiratorio e intestinal. Estudios han detectado que varias células epiteliales del pulmón son capaces de expresarlas. Se ha observado que existe una expresión basal en las células epiteliales, pero estas aumentan la expresión de HBD-2 al ser estimuladas por PMAP como lo son

los lipopolisacáridos, peptidoglicano y con algunas citocinas proinflamatorias.
21,22

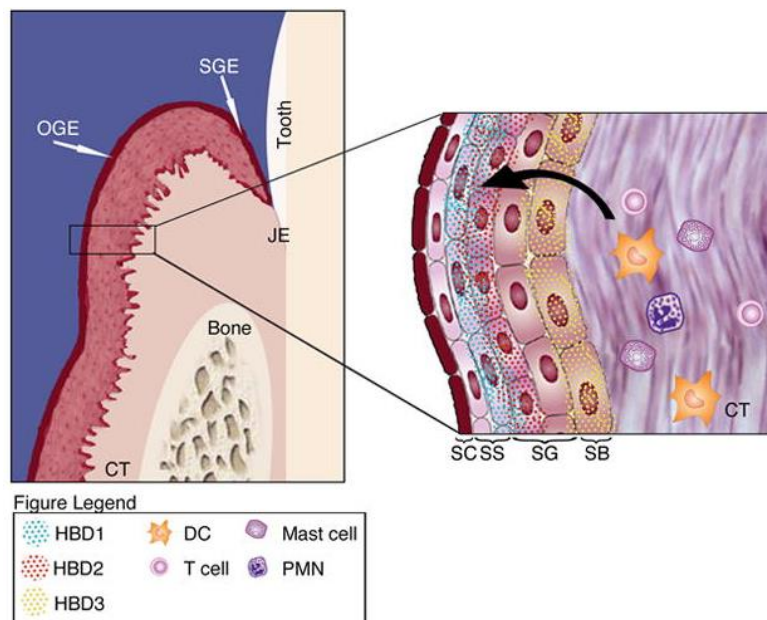
Las HBD-3, son más grandes (5kDa) que las HDB-2, también son inducibles por estímulos inflamatorios. Las HBD-4, se han encontrado principalmente en células epiteliales, queratinocitos y tracto respiratorio, se ha observado que son muy efectivas contra hongos y bacterias, son inducibles por PAMPs y citocinas.^{21,22}

Las β -defensinas se producen en los tejidos epiteliales oronales; sin embargo, no se limitan al área de generación, sino que son capaces de migrar a las secreciones del tejido oral, tales como la saliva, fluido crevicular gingival y las secreciones nasales.^{21,24}

En contraste con los péptidos α -defensinas, cuya ubicación está vinculada a neutrófilos, las β -defensinas se encuentran en diferentes células epiteliales en momentos diferentes, vinculados a la salud relativa y a la enfermedad del tejido. Por ejemplo, en el tejido gingival, las β -defensina 1 y β -defensina 2 humanas se expresan principalmente en el estrato granular y espinoso del tejido gingival. La expresión se asocia con diferenciación de células epiteliales. Por ejemplo, las β -defensinas 1, se encuentra en el estrato espinoso con una fuerte expresión directamente adyacente a la biopelícula sobre la superficie del diente y el epitelio del surco inflamado; mientras que las β -defensinas 2 se encuentran en la parte superior del estrato granular que curiosamente, no se expresa en situaciones de salud en otros tejidos del huésped, se expresa en la salud de la cavidad oral. Este bajo nivel de β -defensina 2, podría ser debido a la estimulación por bacterias comensales.²¹

La β -defensina 3 se expresa en diferentes lugares dependiendo del estado de salud o enfermedad. En el tejido oral sano, los queratinocitos, que se forman en la capa basal y migran a través del epitelio donde forman corneocitos. Estas células diferenciadas producen niveles elevados de β -defensina 3. En salud, la β -defensina 3 se expresa principalmente en la capa basal, mientras que, en enfermedad, la expresión se encontrará que se ha extendido hacia la capa espinosa en las células de Langerhans y de Merkel. La expresión en células basales de la β -defensina 3 humana puede servir como un enlace entre la inmunidad innata y adaptativa en el epitelio gingival y tejido conectivo, e incluso puede ser un componente de la inmunidad adaptativa en el periodonto (Figura 17).^{21,26}

Figura 17. Expresión de las β -defensinas en los estratos del epitelio oral.



El epitelio oral está compuesto por el epitelio oral gingival (OGE), epitelio del surco (OSE), tejido conectivo (CT) y epitelio de unión (JE). El primer plano de la OGE muestra las secciones estratificadas de las células queratinizadas de que se compone: estrato córneo (SC), estrato espinoso (SS), estrato granuloso (SG) y estrato basal (SB). Las β -defensinas Humanas (HBD) se expresan en el OSE dentro de las capas estratificadas específicas. La expresión de HBD conduce a la infiltración de neutrófilos polimorfonucleares (PMN), células T, células de Langerhans dendríticas (DC) y mastocitos en el epitelio.

3.3.4.2. Familia de las Catelicidinas.

La única catelicidina encontrada en seres humanos es la proteína antibacteriana catiónica humana de 18 kDa (hCAP18) o también llamada LL-37 (longitud de 37 aminoácidos con dos residuos de leucina en el inicio) que se encuentra principalmente en los gránulos de los neutrófilos y es secretada por células epiteliales, monocitos, linfocitos T y queratinocitos cuando estas se encuentran en presencia de PAMPs. El gen que codifica LL-37 se localiza en el cromosoma 3 en la ubicación 3p21.3 llamado gen péptido antimicrobiano catelicidina. Estructuralmente es un péptido espiral en solución acuosa, pero asume una conformación α -helicoidal cuando se expone a las membranas lipídicas. ^{16,18}

Se ha observado, que el LL-37, tiene un efecto antimicrobiano alto y que al igual que las defensinas, actúa sobre la membrana de los microorganismos formando poros que llevan a la lisis. Además, pueden actuar directamente sobre el ADN, al unirse a los grupos fosfato del ADN por uniones electrostáticas para después insertarse en la cadena de nucleótidos impidiendo la replicación. ¹⁵ También se observó que este péptido antimicrobiano es inductor de las α -defensinas en neutrófilos. Otra de sus propiedades, es la quimiotaxis que ejerce sobre células como neutrófilos, monocitos, células T y eosinófilos. ¹⁶

Se expresa en las células epiteliales que revisten los tractos respiratorio, gastrointestinal y genitourinario, así como en la cavidad oral, aunque su principal fuente en la cavidad oral es a partir de neutrófilos y en menor medida a partir de células epiteliales. Así mismo, se ha reportado que aumenta en tejidos inflamados. ¹⁷

El péptido LL-37 ha mostrado una fuerte actividad antimicrobiana contra *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *S. aureus* y *Neisseria*

gonorrhoeae. De igual manera, ha mostrado actividad antimicrobiana específica contra las bacterias orales como *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *Streptococcus gordonii*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* y *Streptococcus sanguinis*, con una mayor actividad contra *A. actinomycetemcomitans*.²¹⁻²²

La regulación de la expresión del LL-37 por bacterias es otro factor a considerar cuando se observa su capacidad para participar en la defensa del huésped. Típicamente, la estimulación bacteriana de la degranulación de neutrófilos provoca la liberación de LL-37 en los tejidos. Sin embargo, la baja producción de LL-37 puede ser inducida por subproductos de bacterias tales como *N. gonorrhoeae*, *E. coli*, y *Vibrio cholerae* en los tejidos fuera de la cavidad oral.²¹⁻²²

Curiosamente, la actividad antimicrobiana de LL-37 exhibe una doble función ya que mata a las bacterias y neutraliza el lipopolisacárido de bacterias gram-negativas. Como común con todos los agentes antimicrobianos, el LL-37 muestra potencia variable contra diferentes especies bacterianas. Esto sugiere que LL-37 es selectiva en sus actividades antimicrobianas; tanto puede inducir la muerte, como no ser eficaz contra todos los tipos de bacterias. En otro estudio el LL-37 fue capaz de proteger al huésped de la sepsis mediante la inhibición de los productos inmunoestimulados inducidos por productos bacterianos tales como lipopolisacárido o ácido lipoteicoico.²¹⁻

22

El LL-37 puede unirse a la proteína receptor de unión a lipopolisacárido para bloquear y señalar el lipopolisacárido induciendo citoquinas inflamatorias; demostrando que el LL-37 tienen actividad específica contra la estructura del lipopolisacárido, aunque se necesita más trabajo para comprender los mecanismos implicados. En conjunto, estos estudios muestran que LL-37

puede ejercer efectos inmunomoduladores en el epitelio oral. Esta actividad puede tener amplias implicaciones en la enfermedad periodontal. ²⁰⁻²⁵

A pesar de una diferencia en la estructura molecular, las actividades reguladoras de LL-37 son similares en el patrón a los descritos para las defensinas. Ambos se encuentran en los neutrófilos y se sabe que migran a las áreas de la enfermedad para ayudar a la defensa innata del huésped y se parecen por tener muchas actividades redundantes. Por ejemplo, ambos muestran aumento de su nivel en el fluido crevicular gingival y la saliva en pacientes con enfermedad periodontal agresiva o crónica. ²⁰⁻²¹

Si bien, ambos péptidos tienen actividades antimicrobianas y de inducción de citocinas y quimiocinas para reclutar células; exámenes de especificidad demuestran que sus mecanismos de acción son diferentes. Por ejemplo, el LL-37 tiene mayor afinidad para *S. gordonii*, *P. intermedia* y *F. nucleatum*, mientras que las defensinas tienen mayor afinidad por *S. mutans* y *P. aeruginosa*. ²¹

En pacientes con enfermedades que conducen a la baja producción de LL-37 a menudo resultan afectados por problemas periodontales; acción que implica una función muy importante para LL-37 ya que parece ser única y diferente de la función de los péptidos de neutrófilos humanos. Morbus Kostmann es una enfermedad que es causada por una neutropenia congénita severa. Los pacientes con esta enfermedad son a menudo afectados con padecimientos periodontales y se ha encontrado una disminución del 30% al 50% de LL-37 mientras que las alfa-defensinas muestran una deficiencia menor en la saliva, plasma y neutrófilos. ²¹

La deficiencia en LL-37 también se encuentran en el síndrome de Papillon-Lefèvre y el síndrome de Haim-Munk, donde el precursor es catelicidina no pueden someterse a la escisión de la pro-región conservada de catelicidina,

que provoca la activación. La deficiencia encontrada en LL-37 podría ser importante en la comprensión del papel de LL-37 en la enfermedad periodontal. Por ejemplo, ya que se sabe que LL-37 es activo frente a *A. actinomycetemcomitans*, que es común en la enfermedad periodontal progresiva, es lógico suponer que cuando LL-37 es deficiente y se observa un aumento en la enfermedad periodontal, la enfermedad podría ser correlacionada con la pérdida de la función proporcionada por LL-37. ²¹

Las catelicidinas tienen funciones en común con las α -defensinas que permiten la modulación tanto de la inmunidad innata como de la adaptativa. Mientras LL-37 puede inhibir la expresión de citoquinas cuando se combina con productos bacterianos, también puede inducir la expresión de citoquinas asociadas con la inflamación y la quimiotaxis. La interleucina-1 β , una citoquina inflamatoria potente implicada en muchas funciones celulares tales como la proliferación, la diferenciación y la respuesta inmune innata demuestra que modulan la expresión de citoquinas en las células epiteliales orales. ²⁴

El LL-37 actúa sinérgicamente con la interleucina-1 β para inducir la producción de interleucina 6, interleucina 10 y las proteínas quimiotácticas de monocitos 1 y quimiotácticas de monocitos 3, en células mononucleares de sangre periférica humana. La enfermedad periodontal puede provenir de múltiples etiologías y es fácil imaginar que la interleucina-1 β y el LL-37 podrían trabajar juntas para orquestar una respuesta inmunitaria elaborada en función del tipo de injuria. Otra citocina de importancia en el periodonto es interleucina 8 que funciona como un quimioatrayente para los neutrófilos. ²⁴

La catelicidina LL-37 induce la producción de interleucina 8 a partir de células mieloides y epiteliales, que se expresa en el fluido crevicular gingival y en los tejidos gingivales donde probablemente contribuye a la infiltración de neutrófilos en el epitelio de unión. Además de la inducción de otras células

para producir quimiocinas, el LL-37 también puede actuar directamente como un quimioatrayente por señalización a través de los neutrófilos, monocitos, células T y mastocitos. El LL-37 también es expresado por células endoteliales, donde induce la proliferación y la formación de los vasos sanguíneos, contribuyendo a la respuesta de cicatrización. En resumen, LL-37 puede funcionar para prevenir la sepsis, inducir citoquinas, reclutar células y directamente inducir la angiogénesis proporcionando un amplio repertorio de herramientas para la respuesta global inmune innato.²⁴

Es importante hacer hincapié en el papel de la migración de neutrófilos. La catelicidina LL-37 y los péptidos de neutrófilos humanos desempeñan un papel fundamental en relación con el reclutamiento de neutrófilos; sin embargo, se requiere la presencia de neutrófilos activados para la liberación de estas moléculas. Los pacientes con neutropenia grave, como en la enfermedad de Morbus Kosmann, desarrollan enfermedad periodontal espontánea, destacando la importancia de los neutrófilos en la enfermedad. Esto apoya la idea de que un componente importante de la salud periodontal es el transporte de los neutrófilos del tejido conectivo vascularizado a la cresta gingival. Está bien documentado que la migración de neutrófilos a través del periodonto es un requisito para un periodonto saludable en los seres humanos. La presencia de neutrófilos en el tejido periodontal es la principal función reguladora para el control del número de bacterias comensales que residen en el diente y su superficie de la raíz, y es de particular importancia para el epitelio de unión donde los neutrófilos son la principal fuente de péptidos antimicrobianos principalmente defensinas y catelicidinas.²⁴

3.3.4.3. Familia de las Histatinas.

Es una familia de al menos 12 péptidos catiónicos ricos en histidina que varían en tamaño de 7 a 38 aminoácidos, adoptan una estructura espiral en

un ambiente hidrófilo y forman α -hélices en ambiente hidrofóbicos. Las histatinas son secretadas por las glándulas parótida, sublingual y submandibulares. Los más abundantes son las histatinas 1, 3 y 5, que contienen 38, 32 y 24 residuos de aminoácidos respectivamente. Dada su relativa abundancia en secreciones sublinguales y de la parótida, estos péptidos han demostrado ser multifuncionales debido a su fuerte actividad antifúngica (contra *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* y *Aspergillus fumigatus*) y antimicrobiana contra muchas especies de la microbiota oral; además, representa uno de los componentes principales del sistema de defensa involucrado en el mantenimiento de la salud oral. ¹⁸

Por ejemplo, las dentaduras removibles rehabilitan la masticación, la fonación y la estética en los pacientes desdentados; sin embargo, una consecuencia de la utilización continua de prótesis dentales totales es la adhesión de microorganismos, la formación de biopelículas y la presencia de candidiasis; no obstante, la histatina 5 evita la colonización por *C. albicans* debido a que es absorbida en la hidroxiapatita y le confiere una estructura proteínica a la película adquirida de las superficies dentales; de igual forma, se ha demostrado que la histatina 5 aumenta sus niveles en la saliva en pacientes con alta incidencia de caries dental, neutralizando los efectos adversos. ¹⁹

Las histatinas 1 y 3, también están incorporadas en la película adquirida en las superficies dentales y desempeñan un papel importante en la colonización bacteriana debido a que inhiben competitivamente la absorción de glicoproteínas de alto peso moléculas por lo que no permiten la adhesión de bacterias cariogénicas (*S. mutans*). También se han identificado histatinas (1,2 y 3) como factor muy importante en la cicatrización. ²⁰

4. CONCLUSIONES.

Los péptidos antimicrobianos tienen un papel muy importante e interesante en la cavidad oral no solo por su actividad antimicrobiana de amplio espectro, sino por todos los mecanismos adyacentes que permiten el control de las infecciones orales, incluyendo bacterianas y fúngicas.

No solo intervienen como primera línea de defensa del sistema inmune innato, sino que desencadenan la activación de la inmunidad adaptativa, que permite la identificación y limitación del daño. Su estrecha presencia en los tejidos de la cavidad oral permite una respuesta rápida y específica contra bacterias propias de la enfermedad periodontal y de la caries, permitiendo la homeostasis a pesar de la constante interacción con patógenos bacterianos, virales y fúngicos.

Inicialmente los péptidos antimicrobianos fueron reconocidos solo por su actividad antimicrobiana de amplio espectro; sin embargo, los recientes estudios han abierto un amplio panorama en investigación, no solo en el conocimiento de sus estructuras, mecanismos de acción y fisiología en el ser humano sino en diferentes ramas de las ciencias médicas. Por ejemplo, inmunológicamente los PAMs no solo participan en la respuesta inmune, sino que son de vital importancia en la señalización, regulación y modulación de la misma; además de poseer funciones biológicas como la angiogénesis y cicatrización de heridas, por lo que su interés se fundamenta en sus características multifuncionales.

Se ha determinado que la secuencia de aminoácidos y estructura de los PAM's juegan un papel importante en determinar la función; por ejemplo, péptidos con composición basada en aminoácidos catiónicos interactúan mediante atracción electrostática con elementos lipídicos y proteicos membranales de los patógenos. Por lo tanto, las propiedades

multifuncionales de los PAM's se pueden potencializar o modificar mediante la manipulación de grupos funcionales de los aminoácidos, de tal manera que se pueden mejorar sus funciones inmunológicas y farmacológicas; sin embargo, se deben tener en cuenta los posibles efectos citotóxicos en el huésped o en el humano.

A nivel farmacológico, la investigación de los PAMs puede permitir soluciones más rentables en la producción de medicamentos con una formulación que permita maximizar su actividad y minimizar los problemas potenciales de toxicidad; y de esta forma poder contrarrestar la resistencia microbiana a los antibióticos actuales y contribuir significativamente en la ofensiva contra infecciones emergentes.

A pesar de la gran cantidad de conocimiento adquirido en la descripción de sus fuentes de obtención, características estructurales y mecanismos de acción, aún existen muchas áreas que permanecen controversiales. Haciéndose notar en la falta de fármacos desarrollados a base de PAMs aprobados por la Food and Drug Administration para su uso en humanos. En los últimos años se han destinado muchos esfuerzos en el estudio de su biodisponibilidad, mecanismos de acción y propiedades benéficas de estas pequeñas moléculas ya que proveen ventajas muy importantes comparadas a la complejidad de las estructuras proteicas, aunado al ahorro económico y práctico de su producción, surgiendo como una novedosa alternativa terapéutica, dando lugar a un amplio campo de estudio.

5. BIBLIOGRAFÍA.

1. Vega G B., Inmunología básica y su correlación clínica. 1ª. Edición. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana, 2015. Pp. 2.
2. MacPherson G., Gordon A., Jonathan M. Inmunología: conceptos y evidencias. 1ª. Edición. México: Editorial McGraw-Hill, 2012. Pp. 1-5.
3. Abbas A K., Lichtman A H., Pillai S. Inmunología celular y molecular. 8ª. Edición. España: Elsevier, 2015. Pp. 1-265.
4. Owen J., Punt J., Stranford S., Inmunología. 7a. Edición. México: Editorial McGraw-Hill, 2014. Pp. 170-200.
5. Fainboim L., Geffner J., Introducción a la Inmunología Humana. 6ª. Edición. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana, 2011. Pp. 3-10.
6. Eley B M., Soory M., Manson J D., Periodoncia. 6ª. Edición. Barcelona, España: Editorial Elsevier, 2012. Pp. 1-10.
7. Lindhe J., Lang N P., Berglundt T., Giannobile W V., Sanz M., Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. 4ª. Edición. Barcelona, España: Editorial Médica Panamericana, 2009. Pp. 25-50.
8. Hancock REW, Diamond G. The role of cationic antimicrobial peptides in innate host defences. Trends Microbiol. 200; 8:402-410.
9. Yang D, Biragyn A, Hoover D M, Lubkowski J, Oppenheim JJ. Multiple roles of antimicrobial defensins, cathelicidins, and eosinophil-derived neurotoxin in host defense. Annu Rev Immunol. 2004; 22:181-215.
10. Hale JDF, Hancock REW. Alternative mechanisms of action of cationic antimicrobial peptides on bacteria. Exprt Rev Anti Infect Ther. 2007; 5:951-959.
11. Gorr S U. Antimicrobial peptides in periodontal innate defense. Front. Oral Biol. 2012; 15:84-98.
12. Greer A., Zenobia C., Darveau R P., Defensins and LL-37: a review of function in the gingival epithelium. J Periodontol. 2000; 63(1):67-79.

13. Castrillón L E., Palma A., Padilla C., Péptidos antimicrobianos: antibióticos naturales de la piel. *Dermatología Rev Mex.* 2007; 51:57-67.
14. Wang Z., Wang G., APD: The Antimicrobial Peptide Database. aps.unmc.edu/AP/main.php
15. Wang G. Improved methods for classification, prediction, and design of antimicrobial peptides. *Methods Mol Biol.* 2015; 1268:43-66.
16. Rivas-Santiago B. Antimicrobial Peptides in the innate immunity of infectious diseases. *Salud Publica Mex.* 2006; 48:62-71.
17. Zhen Y. Cathelicidin LL-37 induces the generation of reactive oxygen species and release of human alpha-defensins from neutrophils. *Br J Dermatol.* 2007; 157:1124-1131.
18. De Y. LL-37, the neutrophil granule and epithelial cell derived cathelicidin, utilizes formyl peptide receptor like 1 as a receptor to chemoattract human peripheral blood neutrophils, monocytes and T cells. *J Exp Med.* 2000; 192:1069-1074.
19. Oppenheim F.G., Xu T., McMillan F.F., Levitz S.M., Diamond R.D., Offner G.D., Troxler R.F. Histatins, a novel family of histidine rich proteins in human parotid secretion. Isolation, characterization, primary structure, and fungistatic effect on *Candida albicans*. *J. Biol. Chem.* 1998; 263:7472-7477.
20. Gornowicz A., Tokajuk G., Bielawska A., Maciorkowska E., Jablonski R., Wójcicka A., Bielawski K. The assessment of sIgA, histatin 5, and lactoperoxidase levels in saliva of adolescents with dental caries. *Med Sci Monit.* 2014; 20:1095-1100.
21. Fábíán T K., Hermann P., Beck A., Fejérdy P., Fábíán G. Salivary defense proteins: their network and role in innate and acquired oral immunity. *Int J Mol Sci.* 2012; 13:4295-4320.
22. Mulero J., Zafrilla P., Martínez-Cachá A., Leal M., Abellán J., Péptidos bioactivos. *Clin Invest Arterioscl.* 2011; 23(5):219-227.

23. Thennarasu S., Lee DK., Tan A., Prasad KU., Ramamoorthy A. Antimicrobial activity and membrane selective interactions of a synthetic lipopeptide MSI-843. *Biochim Biophys Acta*. 2005; 1711:49-58.
24. Diamond G., Russell JP., Bevins CL. Inducible expression of an antibiotic peptide gene in lipopolysaccharide challenged tracheal epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci*. 1996; 93:5156-5160.
25. Hancock REW. Cationic antimicrobial peptides: towards clinical applications. *Expert Opin Invest Dis*. 2000; 9:1723-1729.
26. Oppenheim JJ., Yang D. Alarmis: chemotactic activators of immune responses. *Curr Opin Immunol*. 2005; 17:359-365.
27. Dale BA. Periodontal epithelium: a newly recognized role in health and disease. *Periodontol 2000* 2002; 30: 70-78.
28. Bosshardt DD., Lang N. The Junctional Epithelium: from Health to Disease. *J Dent Res* 2005; 84: 9-20.
29. Nanci A., Bosshardt DD. Structure of periodontal tissues in health and disease. *Periodontol 2000* 2006; 40: 11-28.
30. Choi EY., Santoso S., Chavakis T. Mechanisms of neutrophil transendothelial migration. *Front Biosci* 2009 1; 14: 1596-1605.
31. Kornman KS, Page RC, Tonetti MS. The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontol 2000* 1997; 14: 33-53.
32. Delima AJ, Van Dyke TE. Origin and function of the cellular components in gingival crevice fluid. *Periodontol 2000* 2003; 31: 55-76.
33. Goodson JM. Gingival crevice fluid flow. *Periodontol 2003*; 31:43-54.
34. Shimono M, Ishikawa T, Enokiya Y, Muramatsu T, Matsuzaka K, Inoue T et al. Biological characteristics of the junctional epithelium. *J Electron Microsc* 2003; 52:627-639.
35. Pöllänen MT, Salonen JI, Uitto VJ. Structure and function of the tooth-epithelial interface in health and disease. *Periodontol 2003*; 31:12-31.

6. ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1. Interacción general entre las inmunidades innata y adaptativa. Tomada de Abbas A K., Lichtman A H., Pillai S. Inmunología celular y molecular. 8ª. Edición. España: Elsevier, 2015.

Figura 2. Perspectiva general de la inmunidad innata. Tomada de Abbas A K., Lichtman A H., Pillai S. Inmunología celular y molecular. 8ª. Edición. España: Elsevier, 2015.

Figura 3. Especialización de la inmunidad innata. Tomada de Abbas A K., Lichtman A H., Pillai S. Inmunología celular y molecular. 8ª. Edición. España: Elsevier, 2015.

Figura 4. Representación esquemática y corte histológico de la encía. Tomada de Lindhe J., Lang N P., Berglundt T., Giannobile W V., Sanz M., Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. 4ª. Edición. Barcelona, España: Editorial Médica Panamericana, 2009.

Figura 5. Estratos celulares del epitelio bucal. Tomada de Lindhe J., Lang N P., Berglundt T., Giannobile W V., Sanz M., Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. 4ª. Edición. Barcelona, España: Editorial Médica Panamericana, 2009.

Figura 6. Tipos celulares presentes en la epidermis y dermis. Tomada de MacPherson G., Gordon A., Jonathan M. Inmunología: conceptos y evidencias. 1ª. Edición. México: Editorial McGraw-Hill, 2012.

Figura 7. Propiedades de las células dendríticas maduras e inmaduras. Tomada de MacPherson G., Gordon A., Jonathan M. Inmunología: conceptos y evidencias. 1ª. Edición. México: Editorial McGraw-Hill, 2012.

Figura 8. Localización celular de los RRP. MacPherson G., Gordon A., Jonathan M. Inmunología: conceptos y evidencias. 1ª. Edición. México: Editorial McGraw-Hill, 2012.

Figura 9. Funcionamiento de las moléculas de adhesión. Tomada de MacPherson G., Gordon A., Jonathan M. Inmunología: conceptos y evidencias. 1ª. Edición. México: Editorial McGraw-Hill, 2012.

Figura 10. Fases de la respuesta inmunitaria adaptativa. Tomada de Abbas A K., Lichtman A H., Pillai S. Inmunología celular y molecular. 8ª. Edición. España: Elsevier, 2015.

Figura 11. Tipos de inmunidad adaptativa. Tomada de Abbas A K., Lichtman A H., Pillai S. Inmunología celular y molecular. 8ª. Edición. España: Elsevier, 2015.

Figura 12. Inmunidad Activa y Pasiva. Tomada de Abbas A K., Lichtman A H., Pillai S. Inmunología celular y molecular. 8ª. Edición. España: Elsevier, 2015.

Figura 13. Inmunidades innata y adaptativa. Tomada de Abbas A K., Lichtman A H., Pillai S. Inmunología celular y molecular. 8ª. Edición. España: Elsevier, 2015.

Figura 14. Ejemplos de PAMs según su estructura secundaria. Tomada de Wang G. Improved methods for classification, prediction, and design of antimicrobial peptides. *Methods Mol Biol.* 2015; 1268:43-66.

Figura 15. Representación de la ubicación de las defensinas y catelicidinas en el epitelio oral. Tomada de Wang G. Improved methods for classification, prediction, and design of antimicrobial peptides. *Methods Mol Biol.* 2015; 1268:43-66.

Figura 16. Familia de las defensinas: secuencia de aminoácidos y puentes disulfuro. Tomada de Wang Z., Wang G., APD: The Antimicrobial Peptide Database. aps.unmc.edu/AP/main.php

Figura 17. Expresión de las β -defensinas en los estratos del epitelio oral. Tomada de De Y. LL-37, the neutrophil granule and epithelial cell derived cathelicidin, utilizes formyl peptide receptor like 1 as a receptor to chemoattract human peripheral blood neutrophils, monocytes and T cells. *J Exp Med.* 2000; 192:1069-1074.