



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

LA INFECCIÓN CAUSADA POR SARS-COV-2
PROMUEVE LA FORMACIÓN DE TRAMPAS
EXTRACELULARES DE NEUTRÓFILOS.

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

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

P R E S E N T A:

MICHELLE ANAHÍ RAMÍREZ RAMÍREZ

TUTORA: Dra. EILEEN URIBE QUEROL



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres

Agradezco su esfuerzo y apoyo incondicional que siempre me han brindado, gracias por apoyarme en los momentos más difíciles y seguir alentándome para superar y vencer cualquier obstáculo, por cuidar de mí, por su cariño y por el gran amor que siempre me han brindado, gracias por enseñarme valores, principios y perseverancia, gracias por creer en mí y hacerme saber que todo es posible, es un orgullo y privilegio ser su hija. Los amo.

A mis hermanos

Gracias por todos los momentos juntos, por su comprensión, su compañía, apoyo y motivación a seguir adelante, gracias por ser mi ejemplo y lucha para alcanzar mis metas.

A mi tutora

Dra. Eileen Uribe Querol, gracias por brindarme su apoyo, sus conocimientos, su tiempo y guiarme para poder concluir satisfactoriamente este trabajo.

A la UNAM que me abrió sus puertas y me regalo esta gran oportunidad para adquirir conocimientos y realizarme como profesional.

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| RESUMEN | 5 |
| CAPÍTULO I.- SARS-CoV-2 y la COVID-19 | 7 |
| 1.1 Antecedentes | 7 |
| 1.2 Clasificación y estructura de los coronavirus | 7 |
| 1.3 Replicación viral | 9 |
| 1.4 Definición de la COVID-19 | 11 |
| 1.5 Manifestaciones de la COVID-19 | 11 |
| 1.6 Tiempo de incubación y modo de transmisión | 12 |
| 1.7 Diagnóstico | 14 |
| 1.8 Fases de la Covid-19 | 15 |
| 1.9 Factores de riesgo | 17 |
| 1.10 Tratamiento | 18 |
| 1.11 Medidas preventivas | 19 |
| CAPÍTULO II -. Sistema Inmunológico | 21 |
| 2.1 Definición | 21 |
| 2.2 Respuesta Inmunológica Innata | 21 |
| 2.2.1 Mecanismos y elementos que componen la inmunidad Innata | 22 |
| 2.3 Respuesta Inmunológica Adquirida | 24 |
| 2.3.1 Inmunidad Celular | 25 |
| 2.3.2 Inmunidad Humoral | 26 |
| 2.4 Respuesta Inmunológica contra virus | 28 |
| 2.5 Activación de la respuesta inmune innata antiviral | 29 |
| 2.6 Activación de la respuesta inmunológica adquirida | 30 |
| 2.7 Inmunidad innata y el Cov | 30 |
| 2.8 Respuesta inmunológica contra SARS-CoV-2 | 31 |
| 2.9 Inmunidad adquirida y SARS-CoV-2 | 32 |
| CAPÍTULO III-. Neutrófilos | 34 |
| 3.1 Generalidades | 34 |

| | |
|---|----|
| 3.2 Funciones de los neutrófilos | 36 |
| 3.3 Proceso de reclutamiento de los neutrófilos a sitios de infección o inflamación | 36 |
| 3.4 Mecanismos de destrucción de microorganismos | 38 |
| 3.4.1 Fagocitosis | 38 |
| 3.4.2 Degranulación | 38 |
| 3.4.3 Estallido Respiratorio | 39 |
| 3.4.4 NET | 40 |
| 3.4.4.1 Morfología | 41 |
| 3.4.4.2 Mecanismo de acción de las NET | 42 |
| 3.4.4.3 Mecanismos moleculares en la formación de NET | 42 |
| 3.4.4.4 NETosis | 43 |
| 3.4.4.5 Tipos de NET | 43 |
| 3.5 NETosis asociada a enfermedades | 45 |
| CAPÍTULO IV.- Producción de NET asociada a la COVID-19 | 48 |
| 4.1 NET en la sangre | 49 |
| 4.2 NET y trombosis | 51 |
| 4.3 Inmunotrombosis en COVID-19 | 51 |
| 4.4 IL-1 β / IL-6 | 52 |
| 4.5 Neutrofilia asociada a infecciones por COVID-19 | 53 |
| 4.6 NET y el sistema de complemento | 54 |
| 4.7 NET y SDRA | 54 |
| 4.8 NET capilares y alveolos | 55 |
| 4.9 Opciones terapéuticas para combatir el daño producido por COVID-19 | 56 |
| CONCLUSIÓN | 59 |
| BIBLIOGRAFÍA | 60 |

RESUMEN

El nuevo coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV)-2 fue descubierto por primera vez en Wuhan, China, y se cree que se transmitió de los murciélagos a los humanos, a través de un huésped intermedio aún desconocido. Este coronavirus es un patógeno altamente infeccioso y es genéticamente similar al SARS-CoV y al coronavirus del síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS). Ambos coronavirus son responsables de anteriores enfermedades epidémicas. SARS-CoV-2 al infectar a los humanos causa la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19). La Organización Mundial de la Salud estableció a la COVID-19 como pandemia el 11 de marzo de 2020.

Los coronavirus son virus de RNA monocatenario de sentido positivo, envueltos y no segmentados. Taxonómicamente pertenecen al género *Betacoronavirus* de la familia *Coronaviridae*. La infección celular de los coronavirus se realiza a través de la unión de la proteína espícula (S) de la envoltura viral a un receptor en la célula huésped. La proteína S se expresa en el virus formando una especie de corona, por ello se les denominó "coronavirus". La infección por SARS-CoV-2 puede manifestarse o no, los pacientes infectados suelen presentar fiebre, tos seca, fatiga y disfunción del sistema respiratorio inferior, incluyendo altas tasas de neumonía y síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA).

Los neutrófilos son los leucocitos más abundantes en la circulación y constituyen el 50-70% de todos los glóbulos blancos de la sangre. Los neutrófilos circulan en el torrente sanguíneo durante no más de 72 horas, además son los primeros en responder a la invasión de patógenos y al daño tisular mediando la eliminación de patógenos por fagocitosis, degranulación o formación de trampas extracelulares de neutrófilos (NET). La activación de los neutrófilos es una característica clínica importante en la COVID-19. Las NET

son fibras de DNA e histonas mezcladas con enzimas de los gránulos de los neutrófilos que se liberan al espacio extracelular. La formación de NET es producto de la activación de neutrófilos y su papel en la COVID-19 se comienza a estudiar. En este trabajo se reportan los hallazgos de la formación de NET en la COVID-19. La formación de NET se propuso para la COVID-19 dado que, pacientes con la enfermedad tienen una intensa infiltración de neutrófilos en los capilares pulmones, existe extravasación de neutrófilos a los espacios alveolares y se presenta mucositis neutrofílica. Además, algunos reportes muestran que los neutrófilos circulantes están activados y producen NET. Los pacientes con la COVID-19 muestran cantidades elevadas de neutrófilos en sangre. La cantidad de neutrófilos sirve como un indicador diagnóstico de la gravedad de la enfermedad. En pacientes con la COVID-19 se observa neutrofilia y elevadas concentraciones séricas de citocinas inflamatorias como la interleucina (IL)-1 β y la IL-6. Estas citocinas promueven la formación de NET y están relacionadas, especialmente con la IL-1 β , con muchas enfermedades pulmonares y cardiovasculares. La formación irregular de las NET tiene el potencial propagar la inflamación y causar una trombosis.

CAPÍTULO 1

SARS-CoV-2 y la COVID-19

1.1 ANTECEDENTES

Los coronavirus (CoV) han sido el agente causante de dos epidemias a gran escala en las dos últimas décadas: En 2003, el síndrome respiratorio agudo severo (SARS, por sus siglas en inglés), en la provincia de Guangdong, China y en 2012, el síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS, por sus siglas en inglés), en países de Oriente Medio. (1) En diciembre de 2019, en la ciudad de Wuhan, provincia de Hubei en China, se notificaron una serie de casos de neumonía de etiología no determinada. El virus causante de estos casos de neumonía fue denominado coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo 2 (SARS-CoV-2). La Organización Mundial de la Salud (OMS) denominó a la enfermedad causada por el SARS-CoV-2 como la enfermedad por coronavirus del año 2019 (COVID-19) y la declaró pandemia el 11 de marzo del 2020, debido a su infectividad generalizada y a su alta tasa de contagio. (2) Casos confirmados de la COVID-19 se han identificado en todos los continentes del mundo y se sospecha que el número total de infecciones está subestimado, ya que hay muchos casos de infección leve o asintomáticos que no son cuantificados. (3)

1.2 CLASIFICACIÓN Y ESTRUCTURA DE LOS CORONAVIRUS

Los coronavirus pertenecen a la familia *Coronaviridae*, y subfamilia *Orthocoronavirinae* que se subdivide en cuatro géneros, *Alphacoronavirus* (α CoV), *Betacoronavirus* (β CoV), que tiene un potencial para infectar a los seres humanos, *Gammacoronavirus* (γ CoV) y *Deltacoronavirus* (δ CoV). Estos últimos se conocen sobre todo por infectar a las aves y a los cerdos.(4)

SARS-CoV-2 pertenece a la familia *Coronaviridae*, subfamilia *Orthocoronavirinae*, al género *Betacoronavirus* subgénero *Sarbecovirus*. SARS-CoV-2 pertenece a este género ya que comparte un 79% de identidad de secuencia con SARS-CoV (derivado del murciélago), y un 50% de identidad con MERS-CoV. Por lo tanto, se puede deducir por su identidad del genoma que el huésped inmediato de este virus podría ser un murciélago, que lo transmitió a un huésped intermedio desconocido, que actuó como fuente de transmisión del virus a los humanos.(5)

SARS-CoV-2 se clasifica como coronavirus por su apariencia de “corona” en las microfotografías electrónicas. Sus viriones tienen un diámetro entre 60 – 140 nm, su genoma es de RNA monocatenario de sentido positivo y posee envoltura con picos de proteína. La secuencia de RNA de SARS-CoV-2 consiste en unos 29870 nucleótidos de longitud que corresponden a unos 9744 aminoácidos.(3)

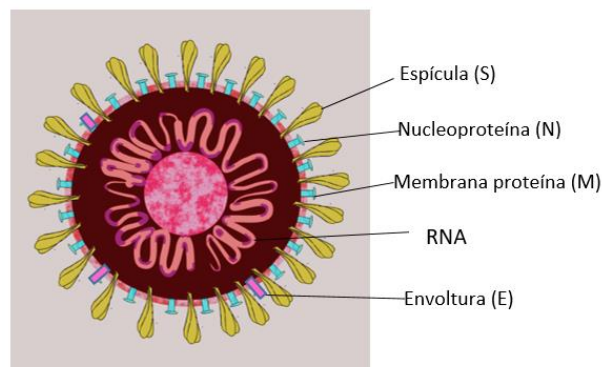


Figura 1. Esquema de la estructura del SARS-CoV-2. En el esquema se muestran los diferentes componentes estructurales del virión. La proteína de espícula (S) está anclada en una membrana lipídica que constituye la envoltura viral. En la envoltura hay otras dos proteínas, la proteína de membrana (M) y la proteína de envoltura (E). En el interior de la envoltura están las nucleoproteínas (N), las cuales están unidas al ácido nucleico viral y organizadas en simetría helicoidal, para proteger el genoma. Esquema modificado de (6).

SARS-CoV-2 contiene cuatro proteínas estructurales: la glicoproteína de superficie de la espícula (S), la proteína de la envoltura (E), la proteína de la membrana (M) y la nucleoproteína (N). En los coronavirus, el gen *s* codifica para la proteína S que es el receptor que permite al virus infectar las células (Figura 1).(6)

1.3 REPLICACIÓN VIRAL

SARS-CoV-2 entra a la célula a través de la unión de la proteína S al receptor de la enzima convertidora de angiotensina tipo 2 (ECA2). Este receptor se localiza en los neumocitos I y II, en los monocitos y macrófagos del pulmón, en las células T y otras células sistémicas en porcentajes mínimos. (2)

Los receptores ECA2 ubicados en la superficie de los neumocitos tipo II desencadenan una cascada de inflamación en las vías respiratorias inferiores, ocasionando un síndrome de dificultad respiratoria aguda. La lesión característica de este síndrome es el daño alveolar difuso, que se ha encontrado en pacientes fallecidos por neumonía grave por la COVID-19. (8)

La fusión del virus con la membrana celular comienza con la proteasa transmembranal de serina tipo II (TMPRSS2, por sus siglas en inglés) que está presente en la superficie de la célula huésped y realizará la proteólisis de la proteína ECA2, para después activar a la proteína S del virus. La activación de las proteínas S conduce a cambios conformacionales y permite que el virus entre en las células. La proteína S es activada por la TMPRSS2 en dos subunidades, S1 y S2. La subunidad S1 contiene la región de unión al receptor RBD (por sus siglas en inglés; Receptor Binding Domain) y la subunidad S2 contiene el péptido para la fusión a la membrana celular (9) (Figura 4).

SARS-CoV-2 tiene una región RBD que se une con alta afinidad al receptor ECA2 de humanos y a otros receptores otras especies, con alta homología al ECA2. Después de su entrada a la célula, mediante la formación de un endosoma, el virus es desenvuelto y el RNA viral es liberado al citoplasma, para iniciarse la traducción en los ribosomas. Además, en los genes *orf 1a* y *orf 1b* se realiza la replicación del genoma viral. Las proteínas estructurales son traducidas a partir del RNA, desde la hebra de polaridad negativa que se forma durante la replicación del genoma viral. Las proteínas estructurales resultantes son ensambladas con el genoma viral, en las membranas celulares internas del retículo endoplásmico y aparato de Golgi, formándose las nuevas partículas virales. Finalmente, las vesículas que contienen los nuevos viriones se fusionan con la membrana celular para liberar los virus al exterior de la célula por exocitosis. (Figura 2) (5)

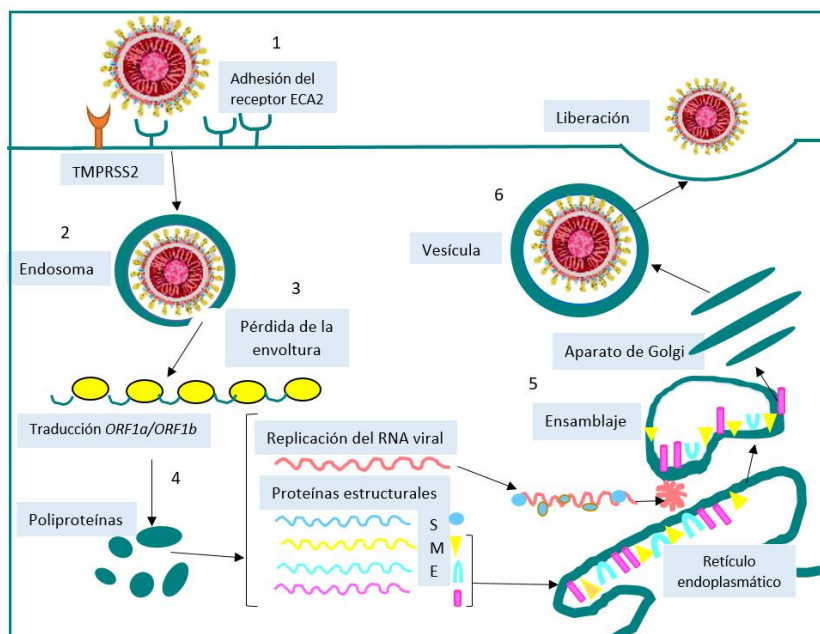


Figura 2. Replicación del SARS-CoV-2. 1) Unión del virus a los receptores. 2) Entrada a la célula, mediante la formación de un endosoma. 3) El virus es desenvuelto y el RNA viral es liberado al citoplasma, para iniciar en los ribosomas la traducción de los genes ORF 1a y ORF1b en sus proteínas, las cuales realizan la replicación del genoma viral. 4) Las proteínas estructurales son traducidas mediante el RNA, que es transcrito desde la hebra de polaridad negativa que se forma durante la replicación del genoma viral. 5) Las proteínas estructurales

son ensambladas con el genoma viral, en las membranas celulares internas del retículo endoplásmico y aparato de Golgi formando nuevas partículas virales. 6) Las vesículas que contienen nuevos viriones se fusionan con la membrana celular para liberar los virus al exterior de la célula, proceso llamado exocitosis. Esquema modificado de (60).

1.4 DEFINICIÓN DE LA COVID-19

La infección por SARS-CoV-2 puede manifestarse o no. Cuando se manifiesta se presenta la COVID-19, que es una enfermedad infecciosa que provoca un síndrome respiratorio agudo grave. La enfermedad se caracteriza por generar una respuesta inflamatoria exacerbada, un daño vascular, microangiopatía, angiogénesis y trombosis generalizada.

Los pacientes con la COVID-19 pueden presentar síntomas leves, pasando por síntomas respiratorios leves. Mientras que los casos graves de infección sufren una insuficiencia respiratoria progresiva debido al daño alveolar, que probablemente conduzca a la muerte. (2)

1.5 MANIFESTACIONES DE LA COVID-19

Entre las manifestaciones clínicas asociadas a la infección por SARS-CoV-2 se han reportado lesiones cardiovasculares como la lesión miocárdica aguda, lesiones neurológicas como la encefalitis y las mialgias, manifestaciones cutáneas con sarpullido y urticaria, también puede observarse lesión renal aguda y manifestaciones gastrointestinales como náusea, vómito y diarrea.(7) (Figura 3)

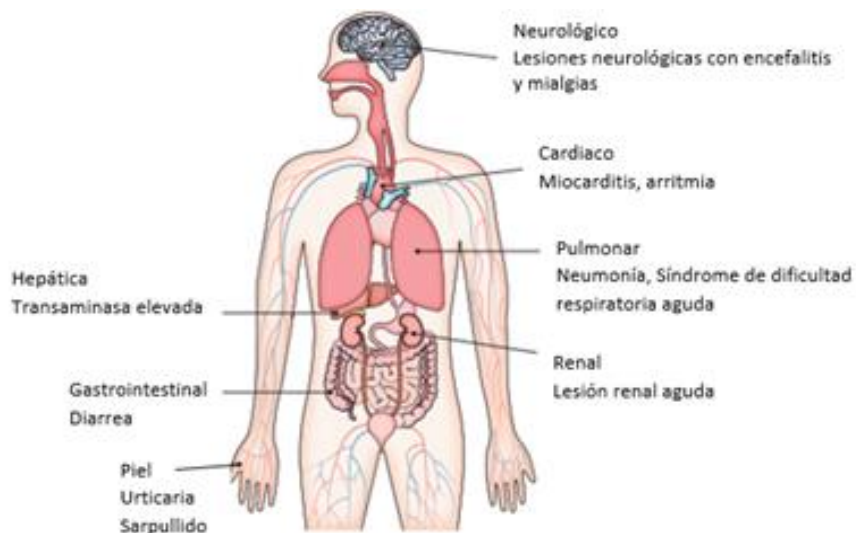


Figura 3. Manifestaciones de la COVID-19 en los sistemas. Cuando la COVID-19 se desarrolla y el paciente alcanza una fase grave, las manifestaciones clínicas se han identificado en sistemas como el respiratorio, cardiovascular, nervioso, renal, gastrointestinal, entre otros. Esquema modificado de (8).

1.6 TIEMPO DE INCUBACIÓN Y MODO DE TRANSMISIÓN

El periodo de incubación en el organismo es variable, generalmente dura de 2 a 7 días, aunque a veces puede ser hasta de 2 semanas. Esto sugiere un periodo de resguardo de 14 días para las personas expuestas y un resguardo para las personas en contacto cercano. (5)

Las vías de transmisión habituales del SARS-CoV-2 incluyen: 1) La exposición directa con la tos, los estornudos, 2) La inhalación de gotas de exudados de nariz, boca y ojos en un rango de aproximadamente 1.8 - 2 metros y 3) La transmisión por contacto a través de las mucosas orales, nasales y oculares. (4)

SARS-CoV-2 puede transmitirse por vía aérea durante la realización de técnicas médicas en las que se produzcan aerosoles (procedimientos que

generen aerosoles) ya que permanecen suspendidos en el aire por tiempos prolongados y viajan distancias largas. Del mismo modo, el virus puede transmitirse de forma directa mediante gotas de saliva y de persona a persona o indirectamente con objetos contaminados y el contagio por vía aérea. (10) Esto es especialmente importante durante los procedimientos dentales, debido a la comunicación cara a cara y a la presencia de contaminación con saliva, sangre y otros fluidos corporales, así como el uso de herramientas afiladas. Por tal motivo, los pacientes asintomáticos con la COVID-19 desempeñan un papel fundamental en el proceso de transmisión, ya que durante su periodo de incubación pueden transmitir eficazmente el SARS-Cov-2. Por lo tanto, se recomienda lavarse las manos suficientemente con agua y jabón y/o con desinfectantes para manos y mantener una distancia de 2 metros con otras personas. (11)

Estudios demuestran que el virus permanece en distintas superficies por diferentes rangos de tiempo:

- Cobre: 4 horas.
- Aluminio: de 2 a 8 horas.
- Acero: de 48 a 72 horas.
- Madera y vidrio: 4 días.
- Papel y plástico: de 3 a 5 días.

Aún no se sabe cuánto tiempo permanece viable el virus en telas y otros materiales usados en la fabricación de ropa. Se ha considerado que puede haber una permanencia de 24 hasta 48 horas en ambientes no cálidos y que fácilmente se seca con la exposición al calor a 30°C. Esto reduce el riesgo de ropa contaminada. (12)

1.7 DIAGNÓSTICO

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

El diagnóstico de la COVID-19 puede realizarse a través de una prueba de detección de material genético. La técnica que se emplea es la de la reacción en cadena de la polimerasa que está basada en la amplificación de fragmentos de DNA, en este caso del virus. En el caso específico de este virus, es necesario primero retrotranscribir primero el RNA vírico a DNA por transcripción inversa (RT, por sus siglas en inglés; reverse transcription) para, a partir del DNA complementario (cDNA) iniciar el proceso de PCR. A este proceso se le denomina RT-PCR.(13)

Procedimiento para la detección del virus por PCR:

1. Toma de muestra del paciente: nasofaríngea o del esputo mediante un hisopo.
2. Extracción y purificación de RNA vírico.
3. Transcripción reversa de la muestra para obtener cDNA.
4. PCR usando sondas fluorescentes.(2)

La prueba es positiva cuando está presente una señal fluorescente por encima de un umbral determinado previamente y negativa en aquellos con una fluorescencia menor. (1)

Pruebas serológicas

En las pruebas serológicas (análisis de sangre) se encuentra la prueba de ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) es un método de evaluación basado en placas para detectar y cuantificar biomoléculas, incluidas proteínas, como hormonas y anticuerpos o péptidos. Existen diferentes ensayos ELISA como el ensayo directo, competitivo y, el más utilizado, el ensayo sándwich o el ensayo de puenteo de antígeno doble (DABA). En el contexto de la

pandemia de COVID-19, la prueba ELISA se ha utilizado ampliamente porque tiene un tiempo de obtención de resultados más corto, en comparación con PCR, donde se detecta la presencia de anticuerpos inmunoglobulina G (IgG) e IgM que sintetizan los pacientes con COVID-19 y se encuentra en el suero de su sangre. (65) Las IgM son las primeras que se generan y se empiezan a detectar en un 90% de los casos en el proceso de infección aguda, suelen aparecer entre los 4 y 7 días tras el comienzo de la infección y siguen aumentando hasta el día 14.

Las IgG son un indicativo de infección primaria o aparecen como respuesta a la fase aguda de una infección secundaria. Las IgG permanecen más tiempo, se detectan un poco más tarde, alrededor de los 10 días, aumentan hasta las 3 semanas y van descendiendo de forma gradual. (8)

PASOS PARA LA PRUEBA ELISA

1. El anticuerpo se inmoviliza en el fondo de una placa.
2. Antígeno (una muestra que contiene virus) unido al anticuerpo.
3. La adición del anticuerpo marcado con la enzima de detección forma un complejo antígeno-anticuerpo.
4. El sustrato de la enzima se añade a la placa para generar una lectura de color. (65)

1.8 FASES DE LA COVID-19

La COVID-19 puede dividirse en cuatro fases, desde la incubación hasta la enfermedad crítica, donde la coagulopatía y la exacerbación de la respuesta inmunitaria desempeñan un papel fundamental en la progresión a la enfermedad grave.

La fase I (o fase de incubación) el tiempo de esta fase se reporta como variable, entre 0 - 14 días, ya que los primeros síntomas clínicos son presentados. Es decir, se presenta infección de las vías respiratorias en el tracto respiratorio superior en forma de rinitis y anosmia. Además de infección del tracto respiratorio inferior que se acompaña de tos seca, fiebre, congestión nasal, dificultades respiratorias, fatiga muscular, dolor de cabeza y dolor torácico. En algunos casos, se presentan síntomas de infección gastrointestinal como la náusea, el vómito y la diarrea. Estos síntomas son poco frecuentes en esta fase inicial de la enfermedad. (2) (Figura 3)

La fase II se caracteriza por la aparición de disnea y neumonía. Los pacientes recurren a la consulta médica y/o a la hospitalización. Los parámetros sanguíneos son anormales y están relacionados con la gravedad de la enfermedad. (Figura 4)

La fase III que se presenta entre el día 9 y el día 12 después del inicio de los síntomas, se caracteriza por un empeoramiento del cuadro clínico, se produce un deterioro repentino de la salud, causado por la embolia pulmonar y el síndrome de tormenta de citocinas. La tormenta consiste en una liberación de grandes cantidades de citocinas pro inflamatorias como el interferón alfa (IFN- α), interferón gamma (IFN- γ), IL-1b, IL-6, IL-12, IL-18, IL-33, factor de necrosis tumoral (TNF-alfa), factor de crecimiento transformador-beta (TGF-beta), etc. y quimiocinas (CCL2, CCL3, CCL5, CXCL8, CXCL9, CXCL10). La tormenta es una respuesta exacerbada del sistema inmunológico, causando daño alveolar difuso, insuficiencia orgánica múltiple y en los casos graves de infección por SARS-CoV-2, la muerte. (Figura 4)

En la fase IV de la enfermedad se observa un estado hiperinflamatorio que determina las consecuencias locales y sistémicas que causan vasculopatía arterial y venosa en el pulmón, con trombosis de los pequeños vasos, esto

puede conducir al síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) y a la muerte. (Figura 4) (9)

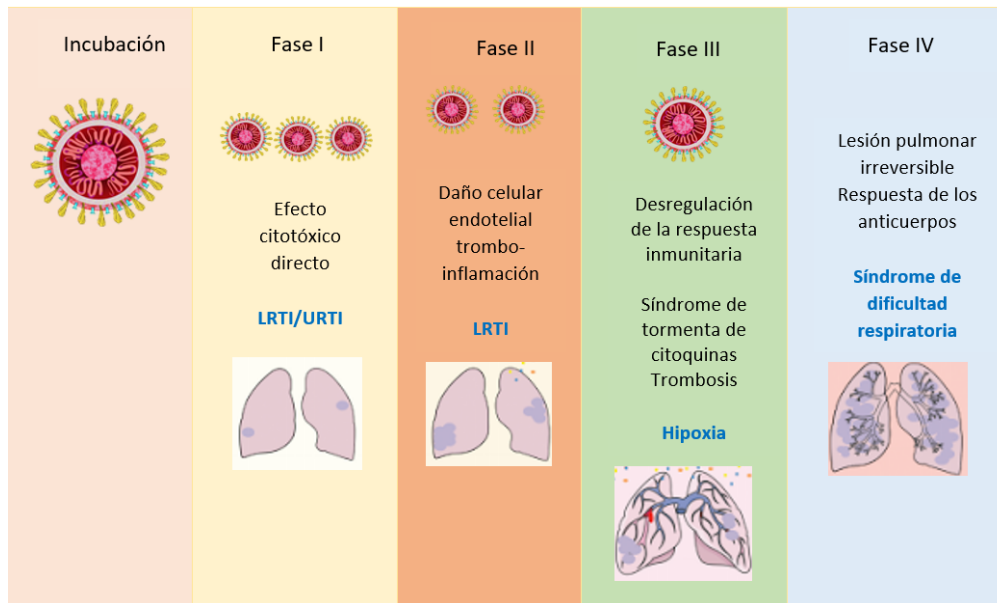


Figura 4. Progresión de la infección por la COVID-19. Fases de la COVID-19 desde la incubación hasta la enfermedad crítica. Imagen modificada de (9).

1.9 FACTORES DE RIESGO

Los factores de riesgo de mortalidad de la COVID-19 son las enfermedades subyacentes o comorbilidades como la obesidad, la diabetes y la hipertensión. Las personas con estas comorbilidades tienen más probabilidades de convertirse en casos graves de infección. También, las mujeres embarazadas y los recién nacidos que han sido infectados con SARS-CoV-2 son propensos a desarrollar neumonía grave.

1.10 TRATAMIENTO

Dado que actualmente no existe un tratamiento específico para la COVID-19, se están utilizando varios agentes en ensayos clínicos y protocolos de uso compasivo basados en la actividad *in vitro* y un manejo clínico limitado.(4)

El principal tratamiento de la COVID-19 es el tratamiento sintomático. Se han utilizado medicamentos antivirales, como oseltamivir, ribavirina, ganciclovir, lopinavir y ritonavir, que se utilizan para intentar reducir la carga viral y prevenir la probabilidad de complicaciones respiratorias. Sin embargo, la eficacia de estos medicamentos antivirales para la COVID-19 debe ser verificada mediante ensayos clínicos controlados aleatoriamente. (14)

El tratamiento de la COVID-19 debe centrarse en el diagnóstico precoz, el aislamiento inmediato, los cuidados generales, soporte respiratorio, tratamiento sintomático, soporte nutricional, intervención psicológica, así como la prevención y el control de la infección.(15)

DIFERENTES VACUNAS CONTRA LA COVID-19

Actualmente se están elaborando vacunas específicas en varias partes del mundo que se utilizan para la formación de anticuerpos contra el virus SARS-CoV-2.

En la actualidad hay vacunas que han demostrado que son altamente eficaces para prevenir la COVID-19. Eso quiere decir que, si una persona vacunada se contagia del virus, tendrá menos probabilidades de desarrollar síntomas o enfermarse gravemente. (63)

TIPOS DE VACUNAS

VECTOR VIRAL: Es un virus diferente y no es dañino que contiene los genes de la proteína S del coronavirus.

RNA/DNA: Es parte del código genético del virus, para que se produzca la proteína S del coronavirus, generando así una respuesta inmunitaria.

VIRUS DESACTIVADO: Es una versión debilitada o desactivada del virus, el método tradicional de vacunación.

CON BASE EN PROTEINAS: Inyecta solo los componentes de un virus que estimulen mejor una respuesta inmunitaria. (64)

Tabla 1. Tipos de vacunas.

| NOMBRE DE LA VACUNA | TIPO DE VACUNA | DOSIS NECESARIA | EFFECTIVIDAD |
|---------------------|---------------------|-----------------|--------------|
| Johnson/Johnson | Vector viral | 1 dosis | 72% |
| Sinovac | Virus desactivado | 2 dosis | 91.25% |
| Pfizer-BioNTech | ARN/ADN | 2 dosis | 94.6% |
| Moderna | ARN/ADN | 2 dosis | 94.1% |
| AstraZeneca | Vector viral | 2 dosis | 70.4% |
| Novavax | En base a proteínas | 2 dosis | 89.3% |
| Sputnik V | Vector viral | 2 dosis | 91.1% |

1.11 MEDIDAS PREVENTIVAS

La OMS ha declarado que la educación, el aislamiento, la prevención, el control de la transmisión y el tratamiento de las personas infectadas son los pasos fundamentales para controlar las enfermedades contagiosas como la COVID-19. (4)

Es posible minimizar la propagación de la infección mediante las siguientes recomendaciones:

- Hacerles pruebas a aquellos que presenten síntomas para que puedan ponerse en aislamiento en caso de que estén infectados y requieran atención.
- Permanecer en casa (cuarentena domiciliaria) y evitar cualquier contacto directo con cualquier persona sana (posibles pacientes asintomáticos) o infectada.
- Seguir las normas de distanciamiento social, evitando lugares públicos o concurridos y mantener al menos dos metros de distancia entre cada persona.
- Lavarse las manos con frecuencia durante al menos 20 s con agua y jabón o con un desinfectante de manos con un 70% de alcohol, especialmente después de tocar superficies comunes, evitando tocarse ojos, nariz y boca.
- Determinar los casos presuntos lo antes posible, hacer pruebas y poner en aislamiento a todos los casos (es decir, a las personas infectadas) en establecimientos adecuados.
- Utilizar mascarillas de tela en situaciones específicas, por ejemplo, en lugares públicos en los que haya transmisión comunitaria y en donde no sea posible adoptar otras medidas de prevención como el distanciamiento físico. (16)

Las precauciones generales de higiene para el personal médico son el uso de trajes de protección, el uso de mascarillas N95, batas, protección ocular y guantes.

Cabe mencionar que el uso de guantes en público no es una protección adecuada contra la COVID-19, porque los guantes pueden contaminarse fácilmente. Por lo tanto, lavarse las manos con frecuencia es la mejor manera de protegerse contra la infección por el virus SARS-CoV-2. (11)

CAPÍTULO 2

SISTEMA INMUNOLÓGICO

2.1. DEFINICIÓN

El sistema inmunológico es un mecanismo de defensa que proporciona los medios para producir respuestas rápidas, específicas y protectoras. Estas respuestas son llevadas a cabo por una serie de barreras anatómicas, fisiológicas, fagocíticas e inflamatorias, que constituyen la inmunidad innata, así como por células especializadas, memoria inmunitaria y autorreconocimiento, que constituye la inmunidad adquirida. Su objetivo es prevenir que sustancias extrañas ingresen al organismo estableciendo la inmunidad o resistencia contra agentes que generan la enfermedad, como bacterias y virus.

Todos los mecanismos del sistema inmunológico se llevan a cabo en órganos especializados entre los que se encuentran el timo y médula ósea como órganos primarios y el bazo, ganglios linfáticos y tejido linfoide asociado a mucosas, como órganos secundarios.(17)

2.2 RESPUESTA INMUNOLÓGICA INNATA

La inmunidad innata sirve como primera línea de defensa del organismo contra las señales de peligro de forma rápida e inespecífica, evitando un proceso infeccioso, dicho mecanismo inmunitario logra establecer un ambiente para que se desarrolle una respuesta adquirida. El elemento de defensa antiviral más importante de la inmunidad innata es el sistema del interferón (IFN), que como su nombre indica 'interfiere' en el ciclo de los virus. Además, comprende mecanismos de defensa que no requieren una exposición previa a un agente lesivo para alcanzar su objetivo de neutralizarlo.(18)

2.2.1 MECANISMOS Y ELEMENTOS QUE COMPONEN LA INMUNIDAD INNATA

Existen dos tipos de mecanismos externos e internos. Los mecanismos externos comprenden las barreras y los mecanismos internos los factores solubles y las células (Figura 5).

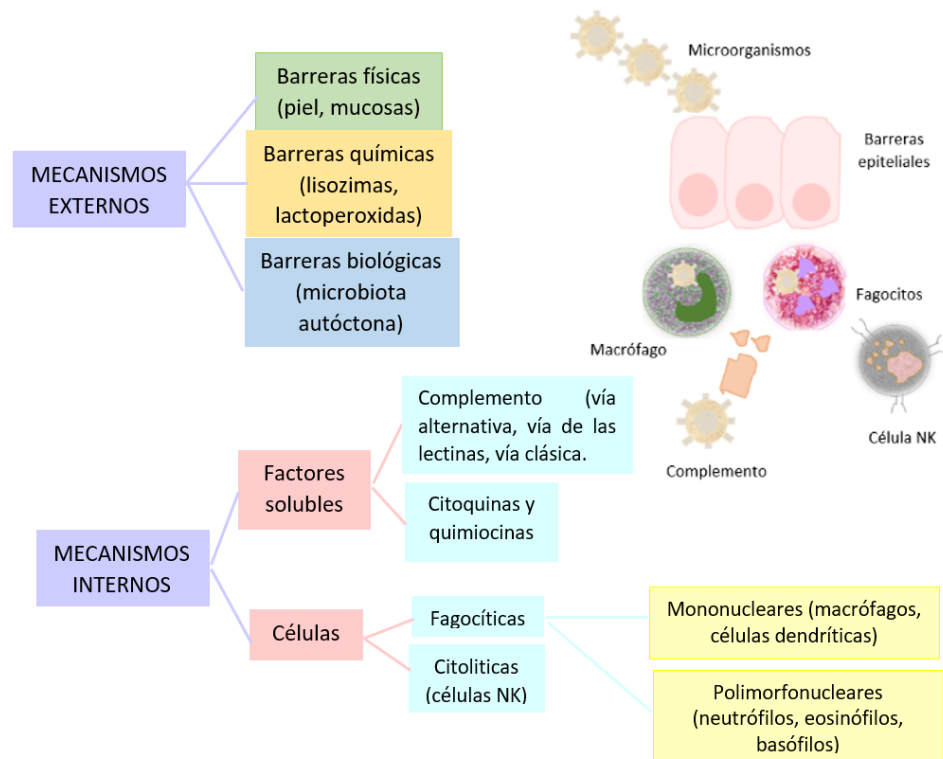


Figura 5. Elementos que componen la inmunidad Innata. Las barreras externas actúan de forma constante como primer nivel de defensa, impidiendo la entrada de los microorganismos hacia el interior del organismo. Si el agente extraño supera estas barreras se produce la activación de los mecanismos internos, tratando de evitar su establecimiento, desarrollo y acción patógena. Esquema modificado de. (9)

1. Barreras físicas, químicas y biológicas: Como piel y mucosas, además de enzimas de secreciones corporales (lisozima, lactoperoxidasa, etc).

2. Factores solubles cuyos principales componentes son:

a) Sistema de complemento, que está integrado por proteínas que interaccionan entre sí de modo regulado dando lugar a una cascada enzimática, la cual estimula las respuestas defensivas del organismo. Para que se produzca la cascada enzimática se puede realizar por tres vías o rutas diferentes:

- La vía clásica: Ésta comienza cuando el anticuerpo se une a la superficie celular y termina con la lisis de la célula.
- La vía alternativa: Interacciona directamente con la superficie del microorganismo.
- La vía de lectinas: Se activa sin la necesidad de la presencia de anticuerpos.

b) Quimiocinas y Citocinas: Son agentes quimiotácticos muy potentes que atraen a las células que participan en el proceso inflamatorio. Además, intervienen como factores de crecimiento de distintas células, como las células hematopoyéticas. (19)

3. Células

a) Fagocitos: Las células fagocíticas tienen la capacidad de desplazarse desde el torrente sanguíneo hacia los tejidos. Una vez en el lugar de la infección, ingieren los microorganismos invasores. Los fagocitos se clasifican en neutrófilos y monocitos.(9)

Neutrófilos: Los neutrófilos son los leucocitos más abundantes en la sangre y representan alrededor del 50-70% de leucocitos circulantes. Actúan como primera línea de defensa contra los patógenos infecciosos.(1)

Macrófagos: Los macrófagos son monocitos que salen de la circulación sanguínea para ingresar al tejido conectivo u otros tejidos, donde se

convierten en macrófagos. Constituyen un vínculo celular entre el proceso inflamatorio y la respuesta del sistema inmunológico.(20)

b) Células asesinas naturales: Las células asesinas naturales (NK), tienen la capacidad de reconocer sustancias extrañas sin recibir información de otras células o mediadores químicos. Estas células reconocen y destruyen células infectadas por virus y otras células anómalas. Las células NK pueden responder de inmediato a la presencia de alguna de estas células, por lo que desempeñan un papel muy importante en el sistema inmunológico. (19)

2.3 RESPUESTA INMUNOLÓGICA ADQUIRIDA

Es un mecanismo de defensa mucho más evolucionado que, junto con los procesos inflamatorios, de cicatrización y de reparación, ayuda a mantener el organismo en un estado saludable. Se caracteriza por el reconocimiento específico de un determinado antígeno entre un amplio espectro de agentes infecciosos y por conferir memoria inmunológica, actúa contra antígenos por medio de anticuerpos y linfocitos activados específicos para ese antígeno. Permite al sistema inmunológico responder a antígenos extraños.(21)

CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES

- Memoria: La exposición del sistema inmunológico a un agente extraño mejora su capacidad para responder de nuevo a este, ante una reexposición. Es por esto que las respuestas inmunitarias adaptativas, son más rápidas y más eficientes.
- Especialización: Genera respuestas óptimas para la defensa frente a un microorganismo.
- Autolimitación: Permite al sistema inmunológico disminuir de intensidad frente a un antígeno, a medida que esta va siendo eliminado.

- Ausencia de autorreactividad: Brinda la capacidad de reconocer lo propio de lo extraño, esta propiedad es compartida con la inmunidad innata.(19)

Existen dos tipos de inmunidad adquirida, la inmunidad celular y la inmunidad humoral. Ambas actúan en conjunto, con el fin de eliminar a los microorganismos.(9)

Linfocitos: Son las células efectoras de las respuestas inmunitarias específicas frente a sustancias reconocidas como extrañas, generando reacciones destinadas a neutralizarlo o destruirlo. Están presentes en todos los casos de inflamación crónica ya que los agentes que la inducen también son reconocidos por el sistema inmunológico como algo contra lo cual debe reaccionar. Los linfocitos desencadenan el proceso inmunitario que tiene lugar junto con la inflamación crónica.(22)

Linfocitos T: Constituyen aproximadamente el 70% de los linfocitos sanguíneos, se desarrollan en la médula ósea, sin embargo, en vez de madurar en el tejido linfoide, los linfocitos T maduran y se desarrollan en el timo, almacenándose en el tejido linfático de todo el organismo. Las células T deben activarse para actuar.(21)

2.3.1 INMUNIDAD CELULAR

Recibe este nombre debido a que sus mediadores son las células T o linfocitos T, ya que son los principales efectores de la inmunidad celular. Estos se encargan básicamente de erradicar a los microorganismos intracelulares. Para que la respuesta celular se lleve a cabo, los linfocitos T inactivos o “naive”

deben madurar a células efectoras (Figura 6). Este paso se produce cuando las células T reconocen a los antígenos. (18)

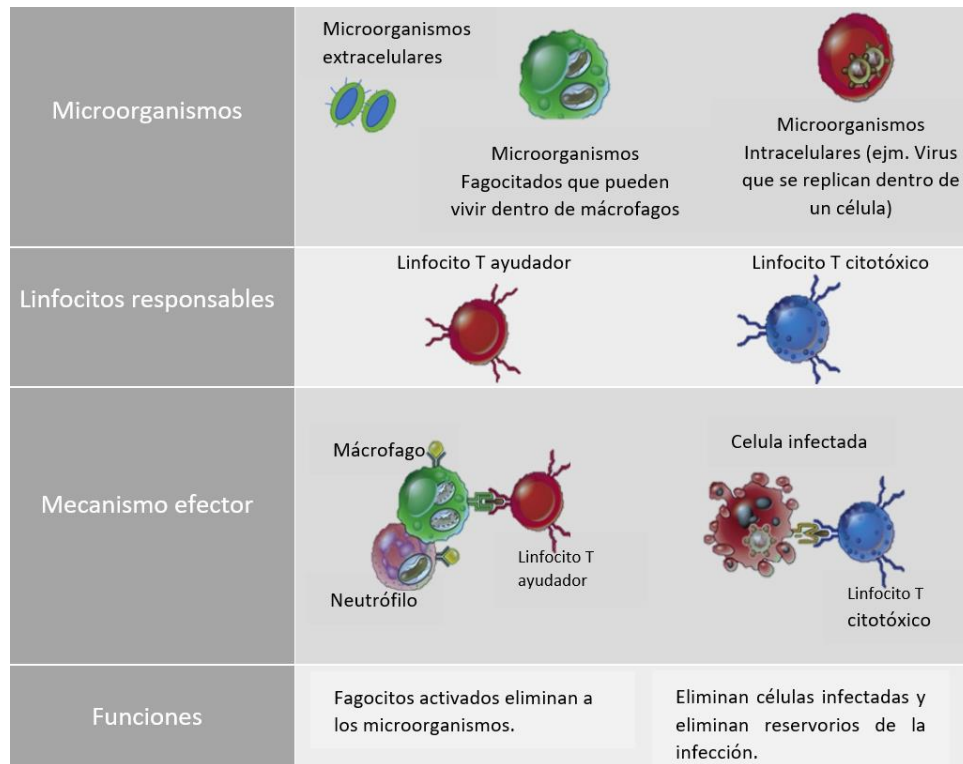


Figura 6. Funcionamiento de la inmunidad celular. Los linfocitos T activan los macrófagos para eliminar los microorganismos fagocitados, o los linfocitos T citotóxicos destruyen directamente las células infectadas. Esquema modificado de (18).

2.3.2 INMUNIDAD HUMORAL

Es generada por los linfocitos B, sus mediadores son los anticuerpos y las proteínas de complemento, sus funciones son mediadas por los anticuerpos. Los anticuerpos o inmunoglobulinas (Ig), son una familia de glicoproteínas producidas por los linfocitos B en dos formas: unidos a membrana y de secreción, estos últimos son los que actúan en la inmunidad humoral (Figura 7).

Los anticuerpos de utilidad para la defensa del huésped se encuentran en la sangre, ya que son producidos por linfocitos B o células plasmáticas en los ganglios linfáticos. (21)

Linfocitos B: Estas células se desarrollan en la médula ósea y luego maduran en los tejidos linfoides de todo el organismo. El proceso de maduración asegura que la superficie de cada célula B contenga anticuerpos, esto es, moléculas que reaccionan contra uno o más tipos de antígenos. Los linfocitos B reconocen moléculas localizadas en superficies celulares extrañas a nuestro organismo como células tumorales, infectadas por virus, hongos y ciertas bacterias. (22)

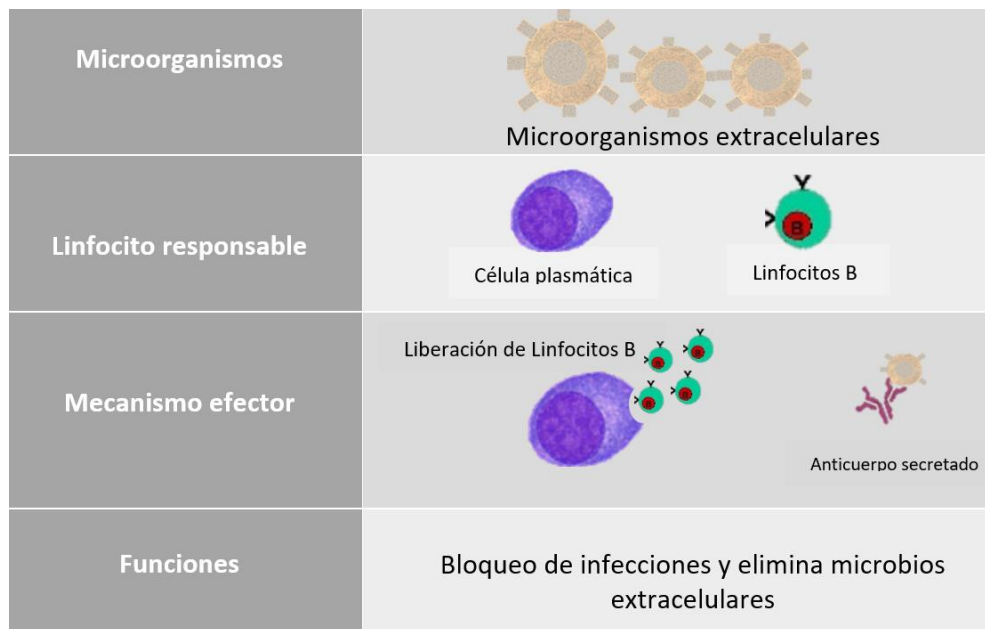


Figura 7. Inmunidad Humoral. Las células plasmáticas secretan anticuerpos que evitan las infecciones y eliminan los microorganismos extracelulares. Esquema modificado de (18).

Anticuerpos: Son moléculas proteicas que se unen específicamente al antígeno. Existen cinco grupos principales de anticuerpos o inmunoglobulinas (Ig) sintetizados por los linfocitos B.

IgG: Es un anticuerpo circulante y actúa contra agentes infecciosos comunes, como virus, bacterias y toxinas.

IgM: Este anticuerpo se identifica en la superficie de las células B y es la inmunoglobulina más grande.

IgE: Es secretada por células plasmáticas de la piel y membranas mucosas, ayuda a proteger el organismo de infecciones parasitarias.

IgA: Se encuentran en secreciones como saliva, lágrimas y secreciones mucosas de las vías respiratorias, gastrointestinales y genitourinarias.

IgD: Se identifica en las superficies de los linfocitos B y es necesaria para la diferenciación apropiada de estas células durante el proceso de maduración.

(9) (Figura 8)

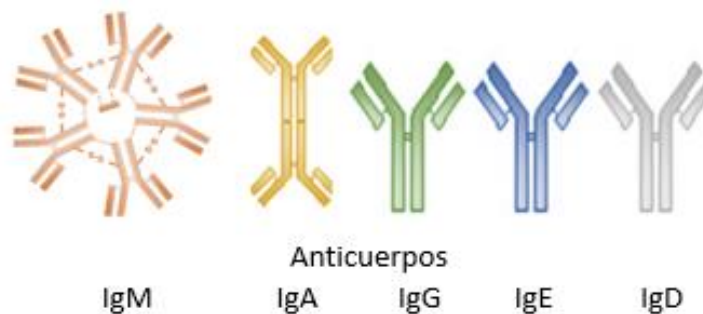


Figura 8. Tipos de anticuerpos. Los linfocitos B reconocen al antígeno y se diferencian en células plasmáticas productoras de anticuerpos que son la IgM, IgA, IgG, IgE a IgD. Esquema modificado de (9).

2.4 RESPUESTA INMUNOLÓGICA CONTRA VIRUS

Los virus han evolucionado durante millones de años y durante este proceso el huésped ha desarrollado una serie de estrategias mediadas por el sistema inmunológico, con la finalidad de defenderse no solo contra virus sino también contra otros agentes patógenos.

VIRUS: Son organismos intracelulares que no tienen metabolismo propio. Esta característica exige al sistema inmunológico a poner en marcha sus

mecanismos especializados para reconocer y eliminar a las partículas virales libres, como a las células infectadas. (23)

La respuesta inmunológica contra los microorganismos, está mediada por mecanismos de inmunidad innata e inmunidad adaptativa. Sin embargo, la respuesta adaptativa está determinada en gran parte por eventos ocurridos durante la respuesta innata. (21)

2.5 ACTIVACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE INNATA ANTIVIRAL

Esta activación involucra la detección de los llamados patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs, por sus siglas en inglés). Son señales de peligro producidas por microorganismos que activan las células inmunitarias innatas por medio de receptores de reconocimiento de patrones (PRRs). (24) Entre los PRRs se encuentran los “toll-like receptors” o TLRs, son receptores con alta homología estructural, que se expresan en la membrana plasmática o en el espacio intracelular, los TLRs tiene la capacidad de reconocer un número discreto de ligandos, presentes en bacterias, hongos, parásitos y virus. (17)

Los TLRs relevantes en la detección de ácidos nucleicos de origen viral son el TLR3 y el TLR7. Estos receptores corresponden a proteínas transmembrana que presentan dos dominios, un dominio exterior que se une a PAMP y un dominio interior que inicia las vías o cascadas de señalización, induciendo diferentes respuestas biológicas. Entre los PAMPs que son reconocidos por los receptores TLRs se incluyen lípidos, lipoproteínas, proteínas y ácidos nucleicos de virus, bacterias, parásitos y hongos. (22)

2.6 ACTIVACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNOLÓGICA ADQUIRIDA

Cuando un microorganismo logra evadir los mecanismos de la respuesta inmune innata se activan los mecanismos de la inmunidad adquirida. Esta se encuentra mediada por linfocitos T y B específicos para el microorganismo, que se activan y proliferan induciendo mecanismos que eliminan el agente infeccioso y generan memoria inmunológica. (24)

La activación da inicio en los nódulos linfáticos, donde las células T naive encuentran su antígeno específico. El antígeno es capturado en el tejido por células dendríticas (DCs) que se activan y se transforman en células presentadoras de antígeno (APC) para después dirigirlo hacia los nódulos linfáticos.(21)

Al llegar al nódulo, las DCs activadas presentan el antígeno a las células T naive que se activarán y diferenciarán a células efectoras. Las células activadas abandonarán el nódulo y migrarán hacia el sitio de inflamación, donde permanecerán en el órgano linfático para así participar en la inmunidad humoral por medio de la activación de linfocitos B.

El tipo de respuesta que se genere estará determinado por el ambiente de citoquinas generadas desde la inmunidad innata y durante la presentación antigénica, esto determinará la expansión de células T de tipo 1 o 2 (células Th1 o Th2). (17)

2.7 INMUNIDAD INNATA Y EL CoV

En el caso de los CoV, se sabe que sus PAMPs están asociados con su RNA, cuando la proteína (S) de los CoV se une al receptor ACE2 de la célula

huésped y se fusiona con membrana celular, se forma un endosoma donde el virus ingresa junto con su RNA. Los PAMPs asociados a este RNA son reconocidos por receptores tipo toll presentes en endosomas como TLR3, TLR7 y TLR8. (21)

Este evento de reconocimiento lleva a la activación de varias vías de señalización y de factores de transcripción, como la proteína activadora (AP-1), factor de regulador del interferón 3 (IRF3) y factor regulador del interferón 7, estos promueven la producción de interferón tipo I (INF-a e INF-b) los que son importantes frente a las respuestas antivirales, ya que, son capaces de suprimir la replicación y diseminación viral en etapas tempranas y, además, inducir una respuesta inmune adquirida efectiva. Por otra parte, el Interferón se libera al exterior y actúa sobre las células vecinas. En estas células el interferón activa genes que confieren resistencia a la infección. Para conseguir replicarse, todos los virus desarrollan mecanismo de escape o resistencia al interferón. En los coronavirus muchos de sus genes accesorios cumplen esta función. (9)

La activación de estos receptores conduce a la estimulación de la respuesta inmune inflamatoria, mediada por citocinas como IL-1, IL-6 y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α , de sus siglas en inglés). Estas moléculas son muy relevantes en la inhibición de la replicación viral, y además contribuyen a la activación de la fagocitosis mediada por macrófagos y a la activación de la actividad citotóxica de los linfocitos NK. (10)

2.8 RESPUESTA INMUNOLÓGICA CONTRA SARS-CoV-2

La respuesta inmunitaria del organismo al SARS-CoV2 está mediada por la producción excesiva de citoquinas "tormenta de citoquinas"(CS) que es típica del síndrome de activación macrofágica (SAM), teniendo como consecuencia,

daño tisular, lesión pulmonar y el síndrome de dificultad respiratorio aguda (SDRA). (25)

La CS implica que los niveles de citocinas liberadas sean perjudiciales para las células huésped, ya que los casos graves de pacientes infectados por SARS-CoV-2 pueden progresar a un SDRA. (26)

Los pacientes con COVID-19 presentan un aumento de los niveles de citocinas y quimiocinas inflamatorias, como IL-1, IL-6, IL-8, la interleucina-6 (IL-6), es un mediador clave en la respuesta inflamatoria aguda y la CS, donde el aumento de los niveles de citoquinas, especialmente la IL-6, tiene una asociación directa con un empeoramiento del estado del paciente y a la muerte. La IL-6 y el interferón (IFN) se encuentran entre las citoquinas en pacientes con CS ya que se desencadena mediante la liberación de IFN y por células T, además el IFN induce a la activación de otras células inmunes como los macrófagos.(16) Durante la infección, los neutrófilos, leucocitos y la razón neutrófilos-linfocitos (NLR) se han observado en casos graves de COVID-19 en comparación con los casos leves. Así mismo los linfocitos y las células T desempeñan un papel importante en el equilibrio de la respuesta inmunitaria ya que indican que el SARS-CoV-2 es responsable de una desregulación inmunitaria con la inducción de citoquinas y quimiocinas.(25)

Una vez que el virus accede al interior de la célula, el sistema inmunológico del huésped reconoce al virus, provocando la respuesta inmunitaria innata o adquirida.(6)

2.9 INMUNIDAD ADQUIRIDA Y SARS-CoV-2

La respuesta adaptativa incluye una respuesta Th1 y la inducción de citotoxicidad mediada por LTc y NK, así como una adecuada producción de

anticuerpos IgM inicialmente, que activan el complemento por la vía clásica, opsonizando células infectadas y producen complejos inmunitarios IgM-SARS-CoV-2 y más adelante IgG de memoria, que evitará la viremia y generará protección de largo plazo. También es importante la producción de IgA en mucosas que evite la adherencia del SARSCoV-2 a su receptor, en caso de volver a tener contacto con el virus en el futuro. (10)

A pesar de que se ha visto una adecuada inducción de anticuerpos tipo IgG e IgA en los pacientes recuperados de COVID-19, en la actualidad se desconoce cuál será la duración y la eficacia de la protección a largo plazo.

CAPÍTULO 3

NEUTRÓFILOS

3.1 GENERALIDADES

Los neutrófilos o leucocitos polimorfonucleares (PMN) son los leucocitos más abundantes en la sangre y representan alrededor del 50-70% de leucocitos circulantes. Se encuentran en la médula ósea, sangre y tejidos, actúan como primera línea de defensa contra los patógenos infecciosos (Figura 9). (27) Son un tipo de leucocito que participa en la respuesta inmunológica innata. Además, son capaces de liberar grandes cantidades de citocinas y quimiocinas, siendo piezas clave de los procesos de inflamación. (28)

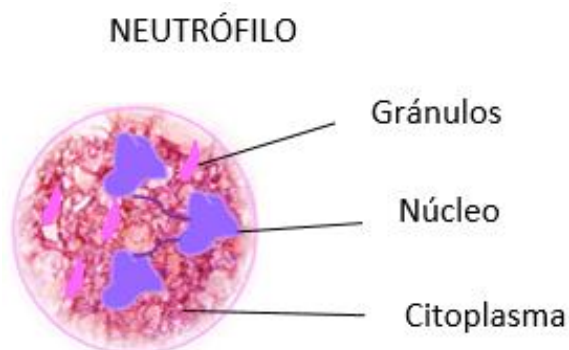


Figura 9. Estructura del neutrófilo. Célula compuesta por un núcleo lobulado (3-4 lóbulos), tiene un citoplasma acidófilo color rosa claro con gránulos primarios o secundarios. Esquema modificado de (33).

Los neutrófilos se encuentran en la circulación sanguínea durante períodos relativamente cortos ya que su vida media es de 8-12 horas en la circulación, aumentando varias veces esta vida media al entrar en tejidos infectados o inflamados, pero cuando se produce un daño o una infección, migran al sitio de la inflamación dirigidos por señales químicas como la interleucina 8 (IL-8), en un proceso llamado quimiotaxis de (29).

Quimiotaxis: Se produce cuando los fagocitos circulantes, a través de receptores de membrana, establecen contacto con factores quimioattractantes (endotoxinas bacterianas, quimiocinas, citocinas, C5a, LTB4, histamina, fibrina, etcétera), provenientes de zonas lesionadas. Al activarse las células permite su desplazamiento hacia los tejidos dañados.(30)

Morfológicamente presentan un tamaño de 10 a 20 micrómetros. Se caracterizan por tener un citoplasma granular y un núcleo. En la circulación se encuentran dos formas de neutrófilos: los neutrófilos jóvenes que muestran un núcleo con forma de banda y no presenta ningún tipo de lóbulo, y otro donde los neutrófilos han alcanzado la madurez, y el núcleo presenta de 2-5 lóbulos, estos lóbulos se encuentran enlazados por hebras delicadas de naturaleza nuclear.(29)

El citoplasma contiene un gran número de gránulos que se pueden dividir en cuatro tipos:

1. Gránulos primarios o azurófilos: Son de gran tamaño y mayor densidad, contienen enzimas digestivas e hidrolíticas en sus lisosomas que contienen hidrolasas ácidas, mieloperoxidasa, el agente antibacteriano lisozima, proteína bactericida y catiónicas.
2. Gránulos secundarios o específicos: Son los más numerosos en los neutrófilos maduros ya que contienen lisozima, colagenasa, fosfatasa alcalina, lactoferrina, proteínas enlazantes B12 y agentes farmacológicos que ayudan al neutrófilo a llevar a cabo sus funciones antimicrobianas.
3. Gránulos terciarios o de gelatinasa: Contienen gelatinasa y catepsina, además de glucoproteínas.
4. Vesículas Secretoras: Formado por endocitosis, contiene algunas proteínas plasmáticas.(31)

3.2 FUNCIONES DE LOS NEUTRÓFILOS

1. Detección y eliminación de agentes patógenos.

Los neutrófilos son una de las primeras células que acuden al sitio de la infección, donde llevan a cabo la digestión y destrucción de los patógenos mediante un proceso llamado fagocitosis y la liberación de las sustancias contenidas en sus gránulos. Además, los neutrófilos tienen la capacidad de liberar trampas extracelulares de neutrófilos (NET), que son mallas de DNA sobre las que se encuentran diferentes proteínas que provienen del interior de los gránulos. Estas redes promueven la inmovilización y la muerte de los microorganismos nocivos. (28)

2. Regulación de la respuesta inflamatoria.

Los neutrófilos son mediadores de la inflamación ya que liberan diferentes sustancias que contribuyen a la reacción inflamatoria y al reclutamiento de otras células del sistema inmunológico al sitio de la infección.

3. Interacción con diferentes células del sistema inmunológico.

Durante una infección o cuando se produce daño en un tejido, los neutrófilos se comunican e interactúan con diferentes células del sistema inmunológico como macrófagos, células Natural Killer, linfocitos T y linfocitos B (tanto de la respuesta inmune innata como adaptativa). (32)

3.3 PROCESO DE RECLUTAMIENTO DE LOS NEUTRÓFILOS A SITIOS DE INFECCIÓN O INFLAMACIÓN

1. Marginación: Contacto de los neutrófilos con las paredes endoteliales.

2. Adhesión al endotelio: Interacción entre glucoproteínas superficiales de los neutrófilos y su correspondiente receptor en células endoteliales (selectina E).(33)

3. Diapédesis: Es la filtración o el paso de los leucocitos en la sangre al sitio donde se pueda estar presentando la infección, aquí comienza la activación endotelial donde se activan proteínas contráctiles (actina y miosina) y la célula fagocítica emite pseudópodos que se introducen entre las uniones de las células endoteliales. Posteriormente irán atravesando el endotelio y la membrana basal hasta llegar al espacio extravascular. Para que esto suceda es necesario que la célula sea atraída hacia el foco de infección. Este fenómeno se denomina quimiotaxis y es llevado a cabo por medio de diferentes moléculas como: interleucina 8 (IL-8), factor de complemento (C5a) y factores de activación plaquetaria. Posteriormente irán atravesando el endotelio y la membrana basal hasta llegar al espacio extravascular. (30)

4. Fagocitosis y muerte celular: Al llegar los neutrófilos al lugar de la lesión, éstos reconocen moléculas específicas en la superficie del invasor para después destruirlo.(27) (Figura 10)

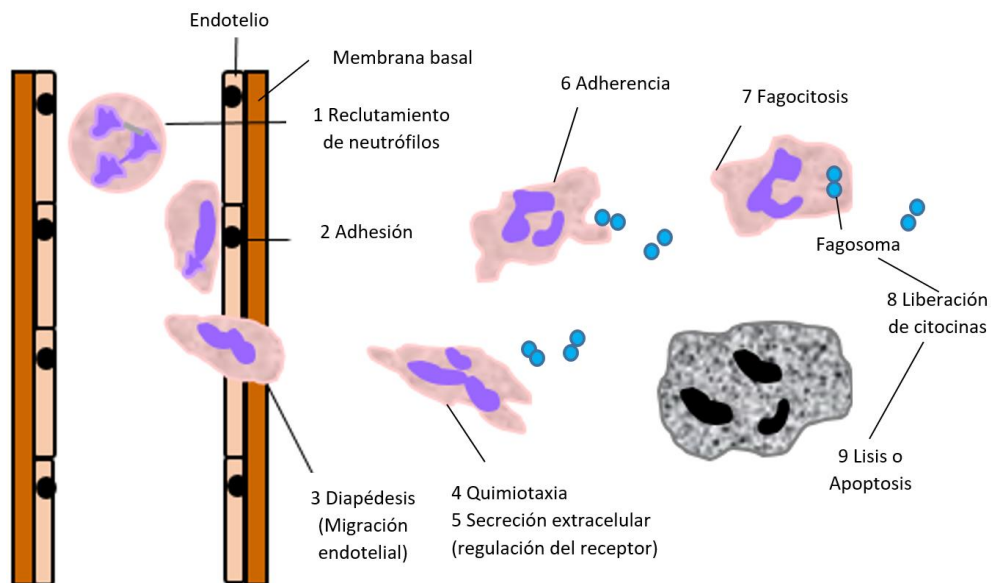


Figura 10. Proceso de diapédesis y fagocitosis. 1. Reclutamiento de neutrófilos. 2. Adhesión al endotelio. 3. Diapédesis, entrada de la célula al sitio de la infección. 4. Quimiotaxis. 5. Secreción extracelular 6. Adherencia, los microorganismos buscan introducirse al neutrófilo. 7. Fagocitosis, reconocimiento del microorganismo. 8. Liberación de citocinas. 9. Aptosis, destrucción del microorganismo. Esquema modificado de (28).

3.4 MECANISMOS DE DESTRUCCIÓN DE MICROORGANISMOS

3.4.1 FAGOCITOSIS

La fagocitosis es un proceso de endocitosis en el que las células fagocíticas, como los macrófagos y los neutrófilos, eliminan los microorganismos. Las células fagocíticas reconocen a los microorganismos invasores a través de la interacción de los receptores de superficie de los neutrófilos con los receptores opsónicos presentes en la superficie de los microorganismos. (66) La fagocitosis desencadena el proceso de explosión oxidativa en los neutrófilos, que es un proceso de generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) para eliminar a los microorganismos (Figura 11).(32)

Para que la fagocitosis ocurra se necesita un encuentro directo entre el PMNs y el agente microbiano. Dentro de los mecanismos de la fagocitosis se destacan: activación por el reconocimiento de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs), por medio de receptores tipo Toll (toll like receptors, TLRs) y por opsonización, el cual consiste en el recubrimiento del microorganismo con inmunoglobulinas como IgG o con componentes del sistema del complemento como C3b/C4b, los cuales son reconocidos mediante receptores específicos promoviendo la fagocitosis.(24)

3.4.2 DEGRANULACIÓN

Es un proceso que se inicia cuando el receptor de la membrana fagosomal se activa y señala a los gránulos su movilización y liberación de especies reactivas de oxígeno encontradas en su sitio de infección. Los estímulos que inducen degranulación son los factores quimiotácticos, quimiocinas y citoquinas. (30)

La degranulación de gránulos específicos en la superficie del neutrófilo y la extrusión de ácidos nucleicos para formar trampas extracelulares de

neutrófilos (NET, por sus siglas en inglés) crean un medio antimicrobiano en el sitio de la inflamación que contribuye a la muerte de los patógenos extracelulares.(12)

3.4.3 ESTALLIDO RESPIRATORIO

El proceso del estallido respiratorio está basado en el alto consumo de oxígeno para la producción de especies reactivas de oxígeno. Esta reacción es producida por la enzima NADPH oxidasa que es formada por un complejo flavocitocromo b558 (p22phox y gp91phox) ubicado en la membrana plasmática, un complejo citoplasmático (p40phox, p47phox y p67phox) y la GTPasa RAC que se une a la membrana plasmática donde experimentan un proceso de ensamblaje que conforma el sistema enzimático activo. (31)

Este sistema enzimático está constituido por varias proteínas distribuidas entre el citoplasma y la membrana plasmática. Durante la activación leucocitaria, los componentes ubicados en el citosol tienen que emigrar a la membrana plasmática, que es donde se verifica el ensamblaje del complejo funcional que conforma el sistema enzimático activo.

La activación de la NADPH oxidasa conduce a la generación masiva de especies reactivas de oxígeno (ROS), que participan en la destrucción de patógenos tanto en el interior de los fagosomas como en el exterior de las células.(34)

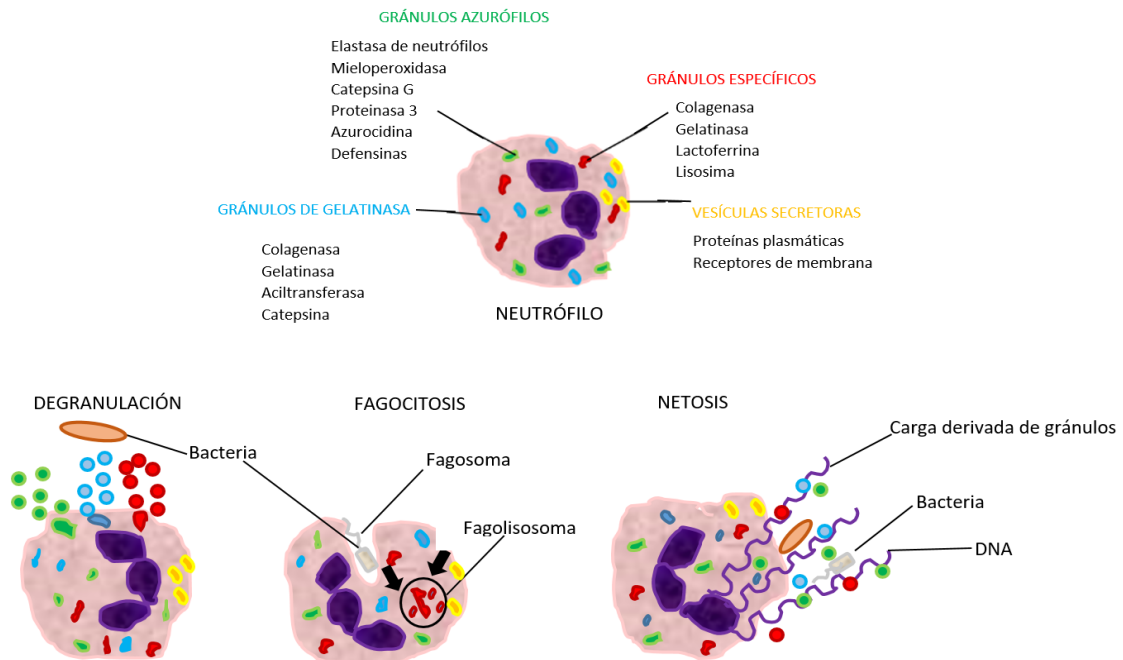


Figura 11. Funciones efectoras de los neutrófilos. los neutrófilos adoptan diversos mecanismos para destruir los patógenos, como fagocitosis, la degranulación y la NETosis. En la fagocitosis, el patógeno es ingerido en vacuolas fagocíticas llamadas fagosomas que se convierten en fagolisosomas al madurar. Más adelante, en el fagolisosoma, el patógeno es destruido por la acción de enzimas degradantes. En la degranulación, los neutrófilos liberan su carga tóxica, almacenada en los subconjuntos de granulos. Durante la NETosis, las fibras de DNA equipadas con carga de los granulos se liberan en forma de trampas extracelulares de neutrófilos (NET) para atrapar y matar a los grandes microbios que no pueden ser ingeridos. Esquema modificado de (30).

3.4.4 NET

Las Trampas Extracelulares de Neutrófilos (NET, por sus siglas en inglés) son estructuras en forma de redes constituidas por cadenas de DNA e histonas, proteínas de granulos de neutrófilos y enzimas oxidantes que se liberan al espacio extracelular durante una infección. Las redes de DNA pueden inmovilizar a los microorganismos, por las interacciones electrostáticas entre las superficies cargadas negativamente del esqueleto del DNA.(35)

Su función principal de las NET es concentrar y potencializar el ataque antimicrobiano en el sitio de la infección, para evitar la diseminación de moléculas tóxicas que pueden provocar daño al tejido circundante.(36)

Las NET juegan un papel importante en la protección como parte de la inmunidad innata, este mecanismo de defensa de los neutrófilos se ha observado en diferentes especies de animales y humano, también se han identificado en tejidos como circulación sanguínea, riñones, pulmones, piel entre otros.(37)

La NETosis está condicionada por la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) por la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidasa (NADPH oxidasa). (35)

3.4.4.1 MORFOLOGÍA

La microscopía electrónica de barrido de alta resolución se ha observado que las NET son estructuras filamentosas en forma de redes, que están formadas por filamentos con un diámetro de 15 a 17 nm y dominios globulares que van desde 25 nm y agregados mayores a 50 nm. (38)

La principal enzima que participa en la formación de NET es la elastasa de neutrófilos (NE), que entra en el núcleo y degrada las proteínas nucleares e inicia la desintegración nuclear. También participan otras enzimas y péptidos antimicrobianos como como la peptidil arginina, deiminasa tipo 4 (PAD4), derivados de los gránulos y tienen la capacidad de degradar los factores de virulencia, inhibir el crecimiento celular, permeabilizar las membranas y finalmente producir la muerte microbiana.(39) Las histonas son potentes antimicrobianos que promueven la lisis bacteriana y facilitan la descondensación y liberación del DNA cromosómico formando un nucleosoma

con la cromatina, que genera poros en la membrana del neutrófilo, facilitando así la ruptura de la membrana celular y la expulsión del DNA. (35)

3.4.4.2 MECANISMO DE ACCIÓN DE LAS NET

Su mecanismo es su efecto microbicida, sin embargo, su acción también puede regular la respuesta inmune, ya sea exacerbándola o limitándola. Las NET no son exclusivas de los neutrófilos, también se han reportado en diferentes tipos de células como mastocitos, eosinófilos y macrófagos.

Las NET como un mecanismo novedoso de defensa por parte de los neutrófilos, surgieron numerosas investigaciones sobre dicho mecanismo, aunque en un inicio estas estuvieron enfocadas sobre el efecto benéfico de las NET en contra de patógenos, sus efectos perjudiciales en enfermedades con respuestas inflamatorias exacerbadas no tardaron en ser reconocidas.(38)

3.4.4.3 MECANISMOS MOLECULARES EN LA FORMACION DE NET

Las NET es un mecanismo novedoso de defensa de los neutrófilos, investigaciones realizadas en un inicio estuvieron enfocadas sobre el efecto benéfico de las NET en contra de patógenos, pero sus efectos perjudiciales en enfermedades con respuestas inflamatorias exacerbadas fueron reconocidos.(40)

La producción de NET involucra un mecanismo de muerte celular en el que interviene la actividad de la NADH oxidasa, este proceso de muerte celular es reconocido principalmente como NETosis en los neutrófilos es diferente a la apoptosis y necrosis.(41)

Anteriormente predominaban la apoptosis y necrosis como un proceso de muerte celular, con el descubrimiento de las NET, la NETosis fue introducida como un mecanismo de muerte de defensa en contra de los patógenos.(40)

3.4.4.4 NETOSIS

La NETosis puede ser inducida por anticuerpos y complejos inmunes, citoquinas y quimiocinas (IL-8, TNF) y otros estímulos fisiológicos. El proceso de activación y liberación de NET se conoce generalmente como NETosis. La NETosis está mediada a través de una cascada de transducción que activa el ensamblaje del complejo NADPH oxidasa y la formación de ROS. Utilizando anticuerpos neutralizantes contra TLR-4, la producción de DNA extracelular se inhibe profundamente.(42)

La formación de NET es desencadenada por los receptores de la inmunidad innata que activan la Nox2 y/o las mitocondrias que posteriormente activan la MPO, la elastasa de neutrófilos y una proteína-arginina deiminasa tipo 4 (PAD4) dependiente del calcio.(36)

3.4.4.5 TIPOS DE NET

Neutrófilos han permitido identificar dos mecanismos capaces de generar las NET, la NETosis vital y la NETosis suicida o lítica, ambos mecanismos inician con la activación de la NADH oxidasa a través de la activación de la proteína cinasa C (PKC) y la liberación de calcio, PKC activada fosforila gp91phox, esta fosforilación induce el ensamble en la membrana citoplasmática de las subunidades que conforman de la NADH oxidasa, la enzima completa inicia la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS).(38)

La cascada de señalización de Raf/MEK/ERK es necesaria para la producción de ROS y la generación de NET, los ROS favorecen la ruptura de la membrana nuclear y la combinación del material genético con los componentes citoplasmáticos, sin embargo, esto no sería tan claro en la NETosis vital.(43) Los ROS también inhiben la función de las caspasas, además se ha identificado la producción de proteínas antiapoptóticas como Mcl-1, a través de la vía Raf/MEK/ERK, estos hallazgos evidencian que la inhibición de la apoptosis es fundamental para desencadenar la NETosis.(41)

Las diferencias entre la NETosis suicida y vital radica en el estímulo desencadenante, el tiempo y la forma para liberar el DNA. En la NETosis suicida la elastasa y mieloperoxidasa son transportadas al núcleo donde inician la descondensación de la cromatina junto con la PAD4, subsecuentemente la ruptura de la membrana nuclear y la asociación del DNA con los componentes citoplasmáticos, culminan con la liberación de las redes de DNA y la lisis celular. (Figura 12)

En la NETosis suicida la elastasa y mieloperoxidasa son transportadas al núcleo donde inician la descondensación de la cromatina junto con la PAD4, posteriormente la ruptura de la membrana nuclear y la asociación del DNA con los componentes citoplasmáticos, culminan con la liberación de las redes de DNA y la lisis celular, por la ruptura de la membrana citoplasmática, este proceso puede tardar de 3 a 4 horas.(43)

La NETosis vital es desencadenada por la estimulación de TLR 2 y C3aR, la activación de estos receptores desencadena la descondensación del DNA, pero no la ruptura de la membrana nuclear, la expulsión de DNA es por medio de vesículas que son transportadas a través del citoplasma hasta que son fusionadas a la membrana citoplasmática, mantienen la integridad de su

membrana citoplasmática, así como su capacidad fagocítica y microbicida, un proceso rápido de 6 a 60 minutos.(38) (Figura 12)

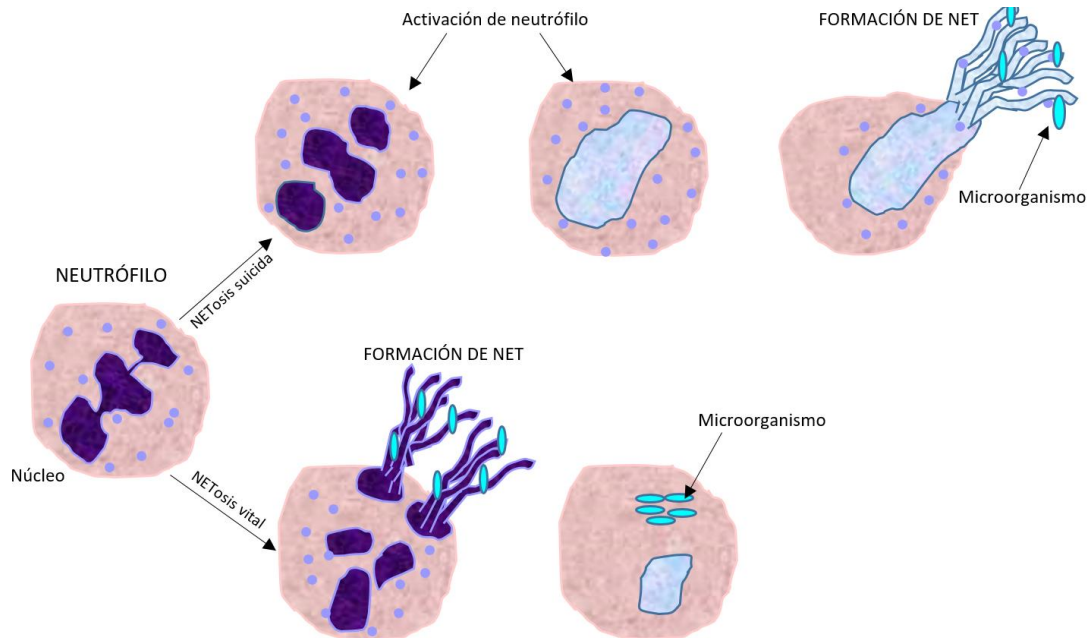


Figura12. Tipos de NET (Netosis vital y suicida). Las diferencias entre la NETosis suicida y vital radica en el estímulo desencadenante, el tiempo y la forma para liberar el DNA. Esquema modificado de (43).

3.5 NETOSIS ASOCIADA A ENFERMEDADES

Estudios recientes han relacionado a las NET a enfermedades no infecciosas incluyendo lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide, diabetes, aterosclerosis, vasculitis, trombosis, cáncer, cicatrización de heridas y traumatismos, además se ha observado altos niveles de DNA libre en suero de personas sometidas a ejercicio intenso. Las NET pueden dañar el tejido del huésped, contribuir en la formación de autoinmunidad y resultados disfuncionales como la metástasis, trombosis y coagulación inapropiada.

Se han relacionado a las NET con enfermedades no infecciosas incluyendo lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide, diabetes, aterosclerosis,

vasculitis, trombosis, cáncer, cicatrización de heridas y traumatismos. Las NET pueden dañar el tejido del huésped, y contribuir en la formación de autoinmunidad y resultados disfuncionales como la metástasis, trombosis y coagulación inapropiada (Figura 13).(44)

La NETosis puede ocasionar la muerte o no del neutrófilo, se ha demostrado que los NET se pueden liberar a través de microvesículas de envoltura nuclear, sin comprometer al neutrófilo, así estas células pueden permanecer vivas y realizar otras funciones en defensa del huésped, incluyendo quimiotaxis, fagocitosis. La NETosis puede ocasionar la muerte o no del neutrófilo, se ha demostrado que los NET se pueden liberar a través de microvesículas de envoltura nuclear, sin comprometer al neutrófilo, así estas células pueden permanecer vivas y realizar otras funciones en defensa del huésped, incluyendo quimiotaxis, fagocitosis y muerte bacteriana, además este mecanismo puede evitar la extrusión de bacterias previamente fagocitadas y tener más control sobre la infección.(41)

La formación excesiva de NET puede desencadenar una cascada de reacciones inflamatorias que promueve la metástasis de las células cancerosas, destruye los tejidos circundantes, facilita microtrombosis, y da lugar a daños permanentes en los órganos sistemas pulmonar, cardiovascular y renal.

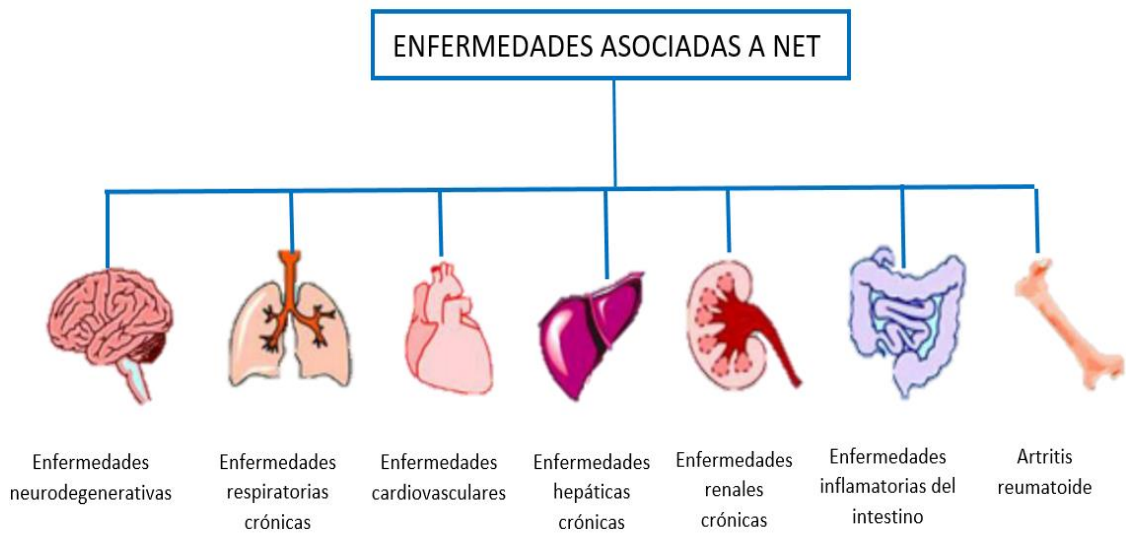


Figura 13. Los neutrófilos en la salud y sus enfermedades. Los neutrófilos actúan como primera línea de defensa, los neutrófilos se asocian a múltiples enfermedades que afectan a órganos vitales como el cerebro, los pulmones, el corazón, el hígado, el riñón el intestino y los huesos. Esquema modificado de (30).

CAPÍTULO 4

PRODUCCIÓN DE NET ASOCIADA A LA COVID-19

Las NET se describieron por primera vez en 2004 como una forma de defensa inmunitaria inicial liberada por los neutrófilos, ahora se reconoce que las NET tienen propiedades para iniciar enfermedades autoinmunes y vasculares. Durante la última década, se han revelado un papel patógeno para las (NET) derivadas de neutrófilos en varios estados tromboinflamatorios, incluida la sepsis, trombosis e insuficiencia respiratoria.(35)

La participación de las NET en la COVID-19 se propuso por primera vez de la intensa infiltración de neutrófilos en los pulmones de los pacientes con COVID-19 a los que se les realizó una autopsia. Los resultados revelan infiltración de neutrófilos en capilares pulmonares, su extravasación a los espacios alveolares y mucositis neutrofílica, además del aumento de los niveles de trampas extracelulares de neutrófilos circulantes (NET), que son indicativos de la activación de neutrófilos.(44)

En la asociación de NET en patologías por COVID-19 se han encontrado productos potencialmente derivados de la degradación de NET, como DNA libre de célula y mieloperoxidasa enlazada a DNA en el suero sanguíneo de pacientes hospitalizados por COVID-19. Ambos productos fueron también asociados con un alto nivel de neutrófilos en la sangre.(45) Los NET han sido recientemente asociados con condiciones como SDRA en enfermos de influenza, y formación de coágulos sanguíneos en desordenes trombóticos. Actualmente, los neutrófilos están investigándose por propagar la reacción inflamatoria severa y trombosis en casos de COVID-19. Científicos han descubierto que el nivel de aumento del porcentaje de neutrófilos en la sangre está correlacionado con la severidad de COVID-19.(46) (Figura 14)

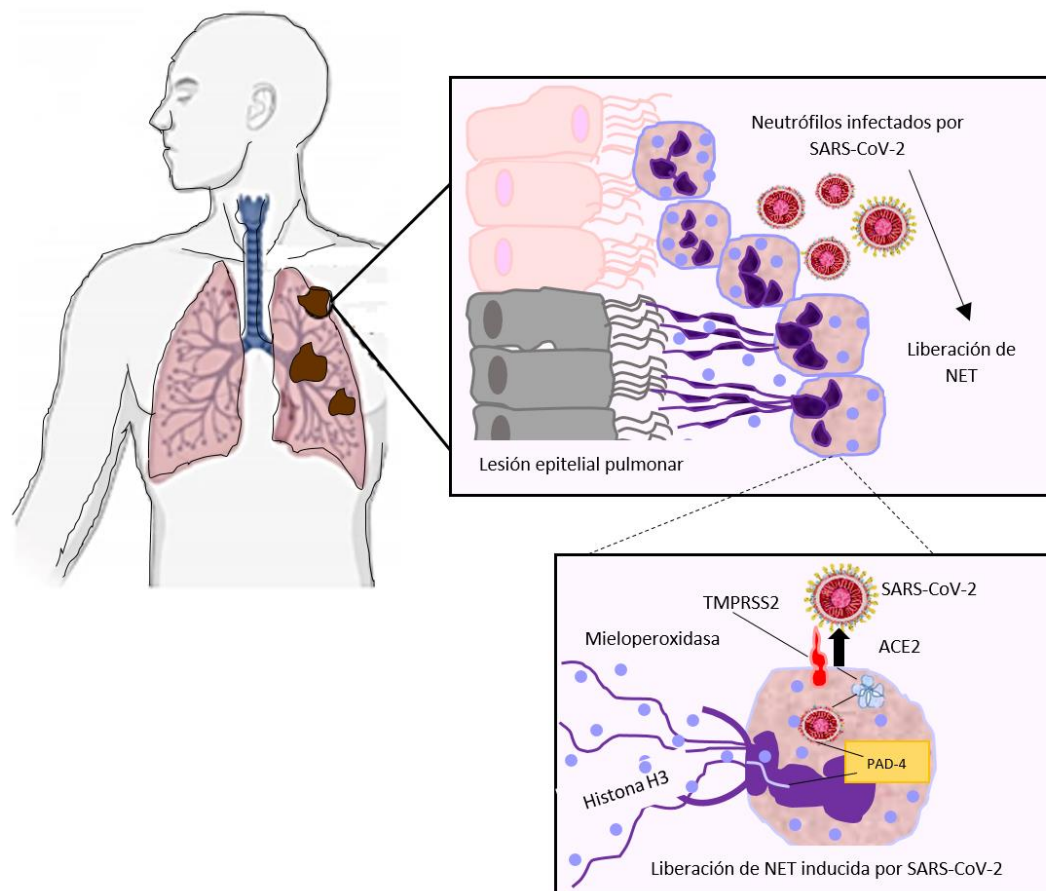


Figura14. Infección del SARS- CoV-2. Se observa el daño que provoca el SARS- CoV-2 en los pulmones, y la alta infiltración de neutrófilos en capilares pulmonares, lo cual provoca la liberación de NET inducida por SARS- CoV-2. Esquema modificado de (46).

4.1 NET EN LA SANGRE

La presencia de NET en la sangre en altos niveles puede llevar a daño pulmonar, así como en el corazón o riñones debido a pequeños bloqueos de los vasos sanguíneos provocados por NET intravasculares, ya que la carga excesiva de neutrófilos y la consecuente liberación de NET en casos graves de infección por la COVID-19 también puede producir daños severos al pulmón. Además, las plaquetas pueden inducir a los neutrófilos a producir NET que protegen de la infección viral. (45)

En la sangre, también se muestra que los pacientes de la COVID-19 tienen un patrón de activación de plaquetas y neutrófilos, que se altera con la gravedad de la enfermedad, estudios han informado que un nivel elevado de NET en pacientes con la COVID-19, y un aumento de NET en plasma se correlaciona con la gravedad de la COVID-19.(47)

Se han realizado pruebas de niveles séricos en pacientes infectados con SARS-CoV2 donde muestran niveles elevados de NET, como el DNA libre de células, DNA-mieloperoxidasa (MPO-DNA) e histona H3 citrulinada.(42)

El MPO-DNA y la histona H3 citrulinada se considera un marcador específico de las NET, lo que sugiere que las NET pueden impulsar la liberación de citoquinas, la insuficiencia respiratoria y la lesión microvascular en COVID-19. La exacerbación de la formación de NET juega un papel clave en la patogénesis de la COVID-19 ya que la necroinflamación relacionada con las trampas extracelulares de neutrófilos (NET), desempeña un papel en el desarrollo de la tormenta de citoquinas, la sepsis y el fallo multiorgánico durante la COVID-19.(45)

La interacción de los neutrófilos y las plaquetas potencia una respuesta inmunitaria innata. La formación de NET implica el secuestro de las plaquetas en la microcirculación pulmonar en un proceso dependiente de los neutrófilos. Las plaquetas promueven la inflamación y las lesiones mediante interacciones críticas con los neutrófilos.(47)

La elevada unión de las plaquetas a las NET está mediada por las interacciones con las histonas extracelulares. Así, la acumulación de plaquetas en las NET prolonga la agregación y activación plaquetaria, promoviendo la coagulación en la microcirculación pulmonar, lo que puede llevar a consecuencias isquémicas.(48)

4.2 NET Y TROMBOSIS

En la patogénesis de la COVID-19 la infección pulmonar puede acelerar los eventos tromboembólicos locales, donde la actividad de los neutrófilos puede contribuir con un componente esencial. La formación excesiva de NET puede desencadenar una cascada de reacciones inflamatorias que pueden destruir los tejidos circundantes, facilitar la microtrombosis y provocar daño de órganos terminales en pulmones, corazón, riñones y otros.(49)

Las NET tienen el potencial de iniciar y propagar la inflamación, los niveles elevados de NET aceleran la trombosis en arterias y venas. En pacientes de la COVID-19 con trombosis, se encuentran niveles altos de NET circulantes, donde se observa lesión microvascular, coagulopatía, trombosis y los anticuerpos antifosfolípidos los cuales impulsan la patología de la COVID-19 grave. Numerosos trabajos han implicado la formación de NET en condiciones asociadas con la trombosis venosa/arterial. El papel de las NET en la trombosis implica la interacción con el endotelio y las plaquetas, así como la captura de pequeños coágulos de sangre.(50)

4.3 INMUNOTROMBOSIS EN LA COVID-19

El proceso inflamatorio es un factor desencadenante de complicaciones trombóticas, la presencia de NET en pacientes con la COVID-19 son responsables de la inmunotrombosis. El virus SARS-CoV-2 provoca una potente inmunotrombosis, que es una reacción protectora del organismo contra patógenos, facilitando su captura en un coágulo de fibrina, las NET apoyan la coagulación sanguínea mediada por el sistema inmunológico, la formación de fibrina y la coagulación microvascular mediante varios mecanismos que incluyen el reclutamiento y la activación de plaquetas.(51) Además, los trombos de los vasos sanguíneos pequeños pueden crear compartimentos de los vasos sanguíneos en los que los agentes patógenos

pueden ser destruidos eficazmente. Más del 25% de los pacientes con la COVID-19 grave pueden sufrir una complicación trombótica caracterizada por la acumulación de fibrina intravascular, leucocitos, plaquetas y eritrocitos. La trombosis en enfermedades críticas como el SDRA se produce en la convergencia de la inflamación. El SARS-CoV2 se asocia a una tormenta de citoquinas hiperinflamatorias de respuesta temprana (TNF α , IL-6, IL-1 β) esta respuesta hiperinflamatoria conduce a un daño alveolar difuso que evoluciona a disfunción pulmonar y a la muerte.(46)

4.4 IL-1 β / IL-6

La COVID-19 grave se caracteriza por la neutrofilia, así como por las elevaciones de IL-1 β , e IL-6. Las NET están relacionados con ambas citosinas, especialmente IL-1 β en enfermedades cardiovasculares y pulmonares. La IL-1 β se activa en la COVID-19 grave, ya que la producción acelerada de NET e IL-1 β podría acelerar la descompensación respiratoria, la formación de microtrombos y las respuestas inmunitarias aberrantes.(35) La producción de NET e IL-1 β se activa durante la replicación del SARS-CoV-2, exacerbando así el daño tisular. La IL-6/IL-1 β podrían ser estrategias indirectas eficaces para atacar a los neutrófilos y NET en la COVID-19 grave, estas han surgido como un objetivo prometedor para el tratamiento de la COVID-19 ya que puede reducir la enfermedad.(49) El IL-1 β y NET puede conducir a un daño excesivo de los alvéolos y el endotelio pulmonar observado en pacientes con progresión severa de la COVID-19.(52)

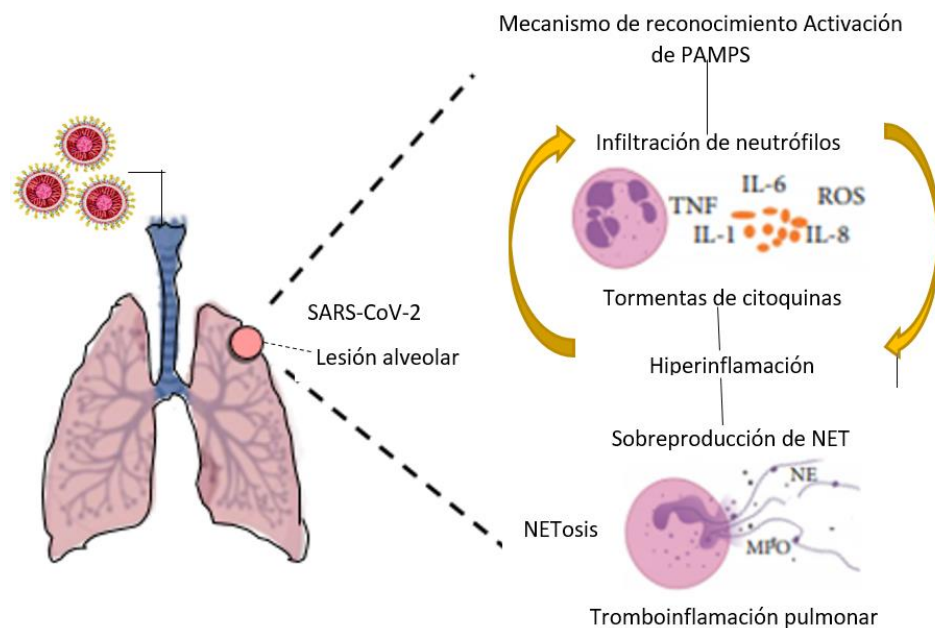


Figura.15 Mecanismo de activación de PAMPS. Esquema modificado de (49).

4.5 NEUTROFILIA SE ASOCIA A INFECCIONES POR LA COVID-19

La neutrofilia predice malos resultados en pacientes con la COVID-19, que se encuentran en unidades de cuidados intensivos, los pacientes en estado crítico desarrollan una mayor neutrofilia que puede elevar la afluencia pulmonar de neutrófilos y estimular la excesiva liberación de NET, que puede exacerbar el daño alveolar-capilar y conducir a la manifestación patológica del SDRA.(53) La neutrofilia y el exceso de NET pueden contribuir a la liberación de citoquinas y a la insuficiencia respiratoria, como factor que contribuye a la inflamación patológica de la neumonía. El exceso de neutrófilos conduce a una lesión tisular oxidativa, la fagocitosis y la formación de redes de neutrófilos, lo que se conoce como NETosis.(54)

4.6 NET Y EL SISTEMA DE COMPLEMENTO

La relación entre las NET y la trombosis puede estar relacionada con la activación del sistema del complemento. La activación del complemento se ha implicado como motor de la respuesta inflamatoria desadaptativa en la COVID-19. El complemento puede potenciar la activación y el reclutamiento de neutrófilos y monocitos en los pulmones infectados, y varios efectores del complemento, actuando en conjunto con las plaquetas, pueden alimentar la tromboinflamación, la trombosis microvascular y la disfunción endotelial (microangiopatía trombótica).(55)

Se observó que la interacción del complemento y los neutrófilos en la inmutrombosis puede mediar los eventos tempranos que conducen a la coagulopatía en la COVID-19. Se realizaron pruebas de que la activación del complemento potencia la relación plaqueta/NET/factor tisular/trombina durante la infección por SARS-CoV-2.(56)

4.7 NET en SDRA

El SDRA es un tipo de insuficiencia respiratoria caracterizada por una inflamación local y sistémica generalizada. Se caracteriza por una respuesta inmune que produce citocinas y quimiocinas proinflamatorias, así como el aumento de la infiltración y acumulación de neutrófilos en los alvéolos y la ruptura de la barrera alveolar epitelial-capilar que separa los alvéolos de los capilares.(53)

En la COVID-19 grave, la inflamación pulmonar conduce a un daño alveolar difuso y síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA). Los niveles

elevados de NET se producen en los pulmones de los pacientes con la COVID-19, lo que conduce a la hiperinflamación y a la insuficiencia respiratoria, que es la causa principal de la complicación respiratoria que pone en peligro la vida en la fase grave de la COVID-19. Las NET provocan la destrucción y fuga de los capilares e inducen la muerte de las células endoteliales y trombosis, así como la destrucción y muerte del epitelio pulmonar.(36)

Además, una mayor neutrofilia puede elevar la afluencia pulmonar de neutrófilos y estimular la excesiva liberación de NET, que puede exacerbar el daño alveolar-capilar y conducir a la manifestación patológica del SDRA. (51) El análisis histopatológico de cuatro casos mortales de la COVID-19 reveló una amplia área pulmonar infiltrada por NET, microtrombos arteriolares y áreas inflamatorias ricas en neutrófilos en el intersticio pulmonar, los alvéolos o los bronquiolos.

La elastasa de neutrófilos (NE) contribuye a la invasión del SARSCoV-2 en las células del huésped, además acelera la entrada del virus e induce hipertensión, trombosis y también puede dañar directamente el tejido pulmonar, participando así en la patogénesis del SDRA asociado a la COVID-19.(57)

La oclusión vascular causada por NET no sólo se ha descrito en el tejido pulmonar sino también en el riñón y el hígado, lo que sugiere que los efectos trombóticos de las NET pueden estar relacionados con los efectos sistémicos y perjudiciales de la COVID-19.(58)

4.8 NET CAPILARES- ALVEOLOS

En la COVID-19 grave, los neutrófilos emigran de los capilares y vénulas a través del intersticio pulmonar y a los alvéolos pulmonares durante el curso de

la enfermedad. En capilares alveolares de los pacientes con la COVID-19, los neutrófilos y las plaquetas quedan atrapados en mallas de fibrina.(42)

Tanto la infección viral de las células como la respuesta del huésped a la infección dañan la barrera epitelial-endotelial que separa los alvéolos de los capilares, esta lesión compromete la capacidad del pulmón para intercambiar oxígeno y dióxido de carbono. La quietud del pulmón, los alvéolos llenos de líquido y el aumento de los niveles de dióxido de carbono conducen a la hipoxemia y a la dificultad respiratoria.(48)

4.9 OPCIONES TERAPÉUTICAS PARA COMBATIR EL DAÑO PRODUCIDO POR LA COVID-19

Los actuales tratamientos de emergencia para pacientes con graves complicaciones de la COVID-19 suelen requerir el uso de dispositivos de ventilación pulmonar. Se han realizado ensayos clínicos actuales para terapias de la COVID-19 que atacan neutrófilos que incluyen la evaluación del uso de DNasa (Dornase Alfa), una enzima degradante de DNA para destruir las NET.(59)

La inflamación provoca neutrofilia e infiltración de neutrófilos en los pulmones, donde estas células producen NET compuestas por DNA cromosómico grande y pegajoso que refuerza la viscosidad y la acumulación de moco en las vías respiratorias. El moco espeso que se elimina de forma deficiente puede conducir a la obstrucción de las vías respiratorias, bronquiectasias, lesiones pulmonares, hipoxia e insuficiencia respiratoria. La DNasa facilita la limpieza de las vías respiratorias al romper el refuerzo de moco por parte de las NET. La DNasa es administrado por inhalación mediante nebulizaciones, puede administrarse fácilmente a los pacientes ventilados mecánicamente, tratando eficazmente el efecto de las NET en las vías respiratorias y, por tanto, promueve la recuperación del SDRA relacionado con la COVID-19. (Figura 16)

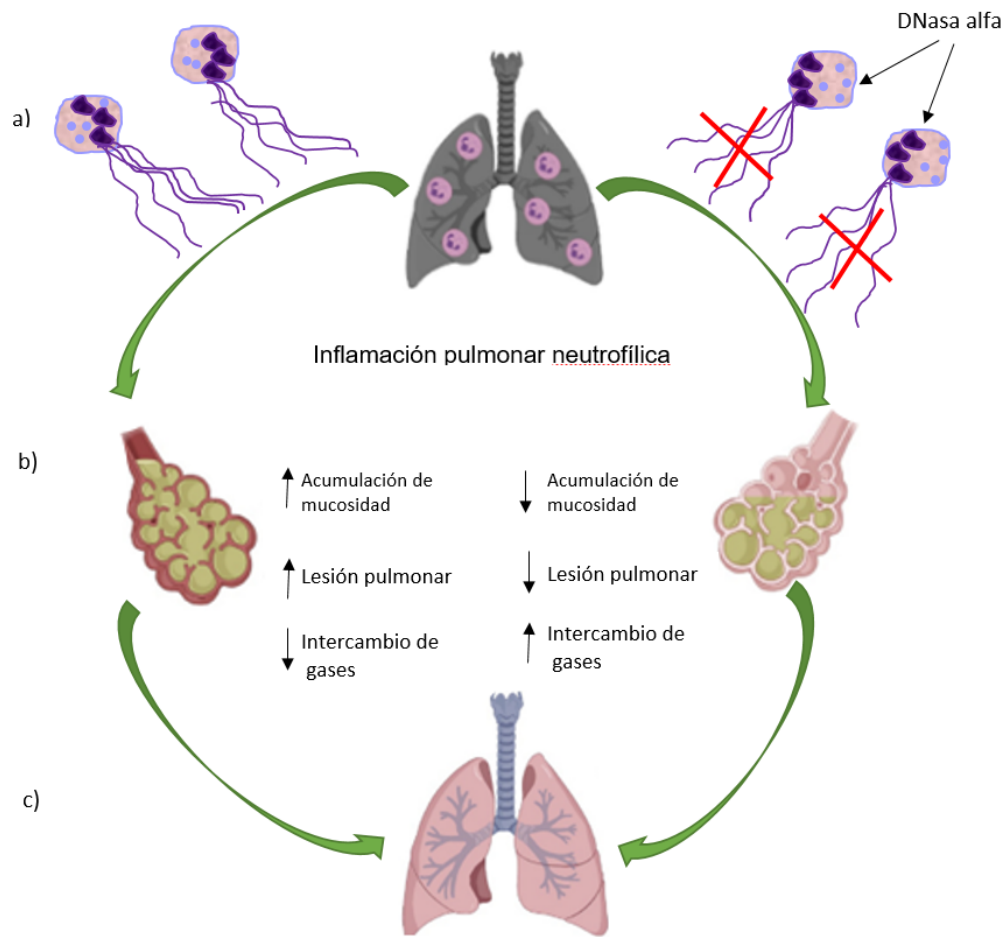


Figura 16. Representación de las trampas extracelulares de neutrófilos sensibles a la DNasa (NET) de los neutrófilos puede reforzar la acumulación de moco, la rigidez y la oclusión de las vías respiratorias en la COVID-19. (a) La infección viral causa inflamación y dificultad respiratoria. Los neutrófilos que se infiltran en el pulmón producen NET que son susceptibles de degradación por la DNasa alfa. (b) Vista de cerca de los alvéolos. Sin el tratamiento con DNasa alfa, las NET refuerzan la acumulación y rigidez del moco que puede aumentar la lesión pulmonar y reducir la oxigenación. El tratamiento con DNasa alfa reduce la formación del moco mediado por las NET, haciéndolo menos rígido (amarillo más claro) y facilitando la eliminación del moco, reduciendo así la lesión pulmonar y aumentando el intercambio de gases. (c) La velocidad de recuperación de la COVID-19 grave se produce de forma natural, podría aumentar por el tratamiento con DNasa alfa. Esquema modificado de (61).

Se ha propuesto que las DNasa pueden ayudar a disolver las secreciones mucosas de la COVID-19, mejorando la ventilación y reduciendo el riesgo de infecciones secundarias.(50) Además de administrar la DNasa alfa a través de nebulizadores, en muchos centros médicos, éstos se evitan en la COVID-19 debido al riesgo de formar aerosoles con SARS-CoV-2 y poner en peligro al personal sanitario.(60)

CONCLUSIONES

La pandemia de la COVID-19 está afectando la vida de la mayoría de las personas en todo el mundo, ya que es una enfermedad causada por un coronavirus altamente transmisible. Es de suma importancia comprender la fisiopatología de la enfermedad y su relación con el sistema inmunológico ya que desempeña un papel crucial en establecer la gravedad de la enfermedad.

La participación de las NET en la COVID-19 parte de la intensa infiltración de neutrófilos en los pulmones de los pacientes con la COVID-19, así como su extravasación a los espacios alveolares, mucositis neutrofílica. El aumento de NET es un indicativo de la activación de neutrófilos. Por lo tanto, las NET podrían ser un objetivo prometedor para prevenir la progresión de la lesión pulmonar y ayudar a evitar la destrucción tisular.

Para prevenir la progresión de la enfermedad, el sistema inmunológico debe ser inhibido y modulado junto con intervenciones terapéuticas que se dirigen al virus, la rápida identificación de las personas con riesgo de contraer la COVID-19 y el tratamiento de los pacientes son fundamentales para frenar la propagación del virus; además de la atención clínica de los pacientes con sospecha de la COVID-19. Estos pacientes deben aislarse de inmediato y tener las medidas adecuadas de prevención para el contagio. Actualmente, la mayor parte de los esfuerzos se han centrado en el desarrollo de la vacuna y representa una estrategia a largo plazo para prevenir los brotes de la COVID-19 en el futuro. Las vacunas contra la COVID-19 pueden ser un poco diferentes entre sí, pero están aprobadas para proteger.

BIBLIOGRAFÍA

1. Uddin M, Mustafa F, Rizvi T, Loney T, Suwaidi H, Marzouqi A, et al. SARS-Cov-2/COVID-19: Viral Genomics, Epidemiology, Vaccines, And Therapeutic Interventions. *Review Viruses*. 2020(5):526.
2. Lauxmann M, Santucci N, Gómez A. The Sars-Cov-2 Coronavirus AND THE Covid-19 Outbreak. *Review Int Braz J Urol*. 2020(1):6-18.
3. Tu Y, Chien C, Yarmishyn A, Lin Y, Luo Y, Lai W, et al. A Review Of SARS-Cov-2 And The Ongoing Clinical Trials. *Review Int J Mol Sci*. 2020(7).
4. Wu D, Wu T, Liu Q, Yang Z. The SARS-Cov-2 Outbreak: What We Know. *Review Int J Infect Dis*. 2020:44-8.
5. Shah V, Firmal P, Alam A, Ganguly D, Chattopadhyay S. Overview Of Immune Response During SARS-Cov-2 Infection: Lessons From The Past. *Review Front Immunol*. 2020.
6. Astuti I, Ysrafil. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-Cov-2): An Overview Of Viral Structure And Host Response. *Review Diabetes Metab Syndr*. 2020(4):407-12.
7. Stasi C, Fallani S, Voller F, Silvestri C. Treatment For COVID-19: An Overview. *Review Eur J Pharmacol*. 2020.
8. Asselah T, Durantel D, Pasmant E, Lau G, Schinazi R. COVID-19: Discovery, Diagnostics And Drug Development. *Review J Hepatol*. 2021(1):168-84.
9. Melenotte C, Silvin A, Goubet A, Lahmar M, Dubuisson A, Zumla A, et al. Immune Responses During COVID-19 Infection. *Review Oncoimmunology*. 2020(1):1807836.
10. Paces J, Strizova Z, Smrz D, Cerny J. Covid-19 And The Immune System. *Review Physiol Res*. 2020(3):379-88.
11. Lotfi M, Hamblin M, Rezaei N. COVID-19: Transmission, Prevention, And Potential Therapeutic Opportunities. *Review Clin Chim Acta*. 2020:254-66.

12. Udugama B, Kadhiresan P, Kozlowski H, Malekjahani A, Osborne M, Li V, et al. Diagnosing COVID-19: The Disease And Tools For Detection. *Review ACS Nano*. 2020(4):3822-35.
13. Pascarella G, Strumia A, Pilliego C, Bruno F, Buono R, Costa F, et al. COVID-19 Diagnosis And Management: A Comprehensive Review. *Review J Intern Med*. 2020(2):192-206.
14. He F, Deng Y, Li W. Coronavirus DISEASE 2019: What WE KNOW? *Review J Med Virol*. 2020(7):719-25.
15. Liu J, Liu S. The Management Of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Review J Med Virol*. 2020(9):1484-90.
16. Yazdanpanah F, Hamblin M, Rezaei N. The Immune System And COVID-19: Friend Or Foe? *Review Life Sci*. 2020.
17. J D, Cruz A, Ramirez P, Valencia Y, Carrillo C, Ayala E. SARS-Cov-2 Y Sistema Inmune: Una Batalla De Titanes. *Horiz Med*. 2020;20(1209).
18. Rosales F. Inmunopatología de la infección por virus SARS-CoV-2. *Acta Pediatr Mex*. 2020(1):S42-S50.
19. Collado V, Porras R, Simón M, Lucía E. El Sistema Inmune Innato I sus Mecanismos. 2018;2(1):1-16.
20. Pasrija R, Naime M. The Deregulated Immune Reaction And Cytokines Release Storm (CRS) In COVID-19 Disease. *Int Immunopharmacol*. 2021(90).
21. Soto G. Bases Genéticas Y Moleculares Del COVID-19 (SARS-Cov-2). Mecanismos De Patogénesis Y De Respuesta Inmune. *Int J Odontostomat*. 2020(3):331-7.
22. Sun L, Wang X, Saredy J, Yuan Z, Yang X, Wang H. Innate-Adaptive Immunity Interplay And Redox Regulation In Immune Response. *Review Redox Biol*. 2020.
23. Bai X, Hippensteel J, Leavitt A, Maloney PJ, Beckham D, Garcia C, et al. Hypothesis: Alpha-1-Antitrypsin Is A Promising Treatment Option For Covid-19. *Med Hypotheses*. 2021.

24. García L. Immune Response, Inflammation, and the Clinical Spectrum of COVID-19. *Front Immunol.* 2020(11):1441.
25. Tufan A, Güler A, Cerinic M. COVID-19, Immune System Response, Hyperinflammation And Repurposing Antirheumatic Drugs. *Review Turk J Med Sci.* 2020(SI-1):620-32.
26. Shah S, Danda D, Kavadiachanda C, Das S, Adarsh MB, Negi SV. Autoimmune And Rheumatic Musculoskeletal Diseases As A Consequence Of Sars-Cov-2 Infection And Its Treatment. *Review Rheumatol Int.* 2020(10):1539-54.
27. Marffy U, Carthy A. Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptors (Lilrs) On Human Neutrophils: Modulators Of Infection And Immunity. *Review Front Immunol.* 2020(13):11:857.
28. Petrelli B, Guillén F, Vignoletti F. El Neutrófilo Y Su Importancia En La Enfermedad Periodontal. 2005;17(1):11-6.
29. Fingerhut L, Dolz G, Buhr N. What Is The Evolutionary Fingerprint In Neutrophil Granulocytes? *Review Int J Mol Sci.* 2020(12):4523.
30. Rawat K, Syeda S, Shrivastava A. Neutrophil-Derived Granule Cargoes: Paving The Way For Tumor Growth And Progression. *Review Cancer Metastasis Rev.* 2021(1):221-44.
31. Rincón J, Díaz L, Quintero J. Sistema NADPH oxidasa: nuevos retos y perspectivas. 2010(4):362-72.
32. Sanz J, Lahoz G, Reina S, Martín P. Introducción Al Sistema Inmune. Componentes Celulares Del Sistema Inmune Innato. 2017;12(24):1369-78.
33. Yam J, Marín L, Torres L. Trampas Extracelulares De Neutrófilos (NET), Consecuencia De Un Suicidio Celular. 2012;148:68-75.
34. Angosto M. Estallido Respiratorio De Los Fagocitos. *Anal Real Acad.* 2005;71(2):365-86.
35. Zuo Y, Zuo M, Yalavarthi S, Gockman K, Madison AJ, Shi H, et al. Neutrophil Extracellular Traps And Thrombosis In Covid-19. *medRxiv.* 2020:e138999.

36. Barnes BJ, Adrover JM, Stoltzfus AB, Borczuk A, Lartigue JC, Crawford JM, et al. Targeting Potential Drivers Of Covid-19: Neutrophil Extracellular Traps. *J Exp Med*. 2020:e20200652.
37. Soy M, Keser G, Atagündüz P, Tabak F, Atagündüz I, Kayhan S. Cytokine Storm In Covid-19: Pathogenesis And Overview Of Anti-Inflammatory Agents Used In Treatment. *Review Clin Rheumatol*. 2020(7):2085-94.
38. Vorobjeva VN, Chernyak VB. Netosis: Molecular Mechanisms, Role In Physiology And Pathology. *Review Biochemistry*. 2020(10):1178-90.
39. Nathan C. Neutrophils And Covid-19: Nots, Nets, And Knots. *Comment J Exp Med*. 2020(9):e20201439.
40. Yang CS, Tsai FY, Pan LY, Hwang LT. Understanding The Role Of Neutrophils In Acute Respiratory Distress Syndrome. *Review Biomed J*. 2020(20):30149-9.
41. Klopff J, Brostjan C, Eilenberg W, Neumayer C. Neutrophil Extracellular Traps And Their Implications In Cardiovascular And Inflammatory Disease. *Review Int J Mol Sci*. 2021(2):E559.
42. Schönrich G, Raftery JM, Samstag Y. Devilishly Radical Network In Covid-19: Oxidative Stress, Neutrophil Extracellular Traps (Nets), And T Cell Suppression. *Review Adv Biol Regul*. 2020(77).
43. Cicco S, Cicco G, Racanelli V, Vacca A. Neutrophil Extracellular Traps (Nets) And Damage-Associated Molecular Patterns (Damps): Two Potential Targets For Covid-19 Treatment. *Review Mediators Inflamm*. 2020.
44. Yang J, Wu Z, Long Q, Huang J, Hong T, Liu W, et al. Insights Into Immunothrombosis: The Interplay Among Neutrophil Extracellular Trap, Von Willebrand Factor, And Adamts13. *Review Front Immunol*. 2020.
45. Staats ANL, Pfeiffer H, Knopf J, Lindemann A, Fürst J, Kremer EA, et al. Iga2 Antibodies Against Sars-Cov-2 Correlate With Net Formation And Fatal Outcome In Severely Diseased Covid-19 Patients. *Cells*. 2020(12):2676.

46. Borges L, Pithon-Curi CT, Curi R, Hatanaka E. Covid-19 And Neutrophils: The Relationship Between Hyperinflammation And Neutrophil Extracellular Traps. *Review Mediators Inflamm.* 2020.
47. R S, Gürtler L, Schramm W. Thromboinflammation In Covid-19: Can A 2 -Macroglobulin Help To Control The Fire? *J Thromb Haemost.* 2020.
48. Chiang CC, Korinek M, Cheng JW, Hwang LT. Targeting Neutrophils To Treat Acute Respiratory Distress Syndrome In Coronavirus Disease. *Review Front Pharmacol.* 2020.
49. Lee YY, Park HH, Park W, Kim H, Jang GJ, Hong SK, et al. Long-Acting Nanoparticulate Dnase-1 For Effective Suppression Of Sars-Cov-2-Mediated Neutrophil Activities And Cytokine Storm. *Clinical Trial Biomaterials.* 2021.
50. Thierry RA, Roch B. Neutrophil Extracellular Traps And By-Products Play A Key Role In Covid-19: Pathogenesis, Risk Factors, And Therapy. *Review J Clin Med.* 2020(9).
51. Pujhari S, Paul S, Ahluwalia J, Rasgon LJ. Clotting Disorder In Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2. *Rev Med Virol.* 2020:e2177.
52. Tomar B, Anders HJ, Desai J, Mulay SR. Neutrophils And Neutrophil Extracellular Traps Drive Necroinflammation In Covid-19. *Cells.* 2020(6):1383.
53. Wang J, Li Q, Yin Y, Zhang Y, Cao Y, Lin Y, et al. Excessive Neutrophils And Neutrophil Extracellular Traps In Covid-19. *Front Immunol.* 2020.
54. Skendros P, Mitsios A, Chrysanthopoulou A, Mastellos D, Metallidis S, Rafailidis P, et al. Complement And Tissue Factor-Enriched Neutrophil Extracellular Traps Are Key Drivers In Covid-19 Immunothrombosis. 2020(11):6151-7.
55. Mastellos CD, Fonseca ALB, Fonseca PN, Martins M, Mastaglio S, Ruggeri A, et al. Complement C3 Vs C5 Inhibition In Severe Covid-19: Early Clinical Findings Reveal Differential Biological Efficacy. *Clin Immunol.* 2020.
56. Mackman N, Antoniak S, Wolberg SA, Kasthuri R, Key SN. Coagulation Abnormalities And Thrombosis In Patients Infected With Sars-Cov-2 And Other Pandemic Viruses. *Review Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2020(9):2033-44.

57. Gupta S, Sahni V. The Intriguing Commonality Of Netosis Between Covid-19 & Periodontal Disease. *Med Hypotheses*. 2020.
58. Park HJ, Lee KH. Re-Analysis Of Single Cell Transcriptome Reveals That The Nr3c1-Cxcl8-Neutrophil Axis Determines The Severity Of Covid-19. *Front Immunol*. 2020.
59. Okur HK, Yalcin K, Tastan C, Demir S, Yurtsever B, Karakus SG, et al. Preliminary Report Of In Vitro And In Vivo Effectiveness Of Dornase Alfa On Sars-Cov-2 Infection. *Case Reports New Microbes New Infect*. 2020.
60. Castrillón D, Javier F, Montoya T. SARS-Cov-2/COVID-19: El Virus, La Enfermedad Y La Pandemia. 2020;24(3):183-205.
61. Earhart PA, Holliday MZ, Hofmann VH, Schrum GA. Consideration Of Dornase Alfa For The Treatment Of Severe Covid-19 Acute Respiratory Distress Syndrome. *New Microbes New Infect*. 2020.
62. Oliveira B, Oliveira L, Sabino E, Okay T. SARS-CoV-2 And The COVID-19 Disease: A Mini Review On Diagnostic Methods. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2020;62:44.
63. Izda V, Jeffries M, Sawalha A. COVID-19: A Review Of Therapeutic Strategies And Vaccine Candidates. *Clin Immunol*. 2020(108634):222.
64. Forni G, Mantovani A. COVID-19 Vaccines: Where We Stand And Challenges Ahead. *Journal List*. 2021;28(2):626–39.
65. Machado B, Hodel K, Barbosa V, Soares M, Badaró R. The Main Molecular And Serological Methods For Diagnosing COVID-19: An Overview Based On The Literature. 2020(1):40.
66. Querol E, Rosales C. Phagocytosis: Our Current Understanding Of A Universal Biological Process. 2020;11(1066).