

Trampas extracelulares de ADN de eosinófilos en alergias

Marlon Castrillón Álvarez¹, Julián Camilo Arango Rincón²

RESUMEN

La alergia es una reacción de hipersensibilidad iniciada por mecanismos inmunológicos y mediada por anticuerpos o células; se desencadena en individuos previamente sensibilizados a un alérgeno. En la mayoría de los casos, el anticuerpo responsable de la reacción alérgica es la inmunoglobulina E (IgE). Según la naturaleza y el mecanismo de entrada del alérgeno se producirá la IgE específica; en las alergias se afectan determinados órganos y tejidos con producción de sintomatologías específicas. Uno de los mecanismos que los eosinófilos utilizan durante la fase de respuesta de las alergias son sus trampas extracelulares (EET), que han sido poco estudiadas en cuanto a su inducción, regulación y función. Hasta el momento se conoce la presencia de dichas trampas en procesos inflamatorios intestinales, enfermedades autoinmunes y múltiples procesos infecciosos, pero se han hecho pocas investigaciones sobre su implicación en las enfermedades alérgicas. Este es un artículo de revisión sobre la estructura de las EET, las moléculas involucradas en su formación y la posible función que desempeñan en la patogénesis de las alergias. Además, se revisan los principales aspectos de los procesos celulares y moleculares involucrados en la inmunopatogénesis de las alergias y los aspectos centrales de la estructura, composición y funcionamiento de los eosinófilos.

PALABRAS CLAVE

ADN Mitocondrial; Eosinófilos; Hipersensibilidad Inmediata; Proteínas en los Gránulos del Eosinófilo; Trampas Extracelulares de Eosinófilo; Trampas Extracelulares de ADN

SUMMARY

Eosinophil extracellular DNA traps in allergies

Allergy is a hypersensitivity reaction initiated by specific immunologic mechanisms. It can be mediated by antibodies or cells, developed in individuals previously sensitized by an allergen. In most cases, the antibody responsible for the allergic reaction is immunoglobulin E (IgE). Depending on the nature and mechanism of entry of the allergen, it will bring about the production of specific IgE affecting certain organs and tissues with specific symptoms. Eosinophil extracellular DNA traps or EETs are one of the mechanisms used by eosinophils.

¹ Docente Auxiliar de Cátedra, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

² Docente Vinculado, Escuela de Microbiología. Grupo de Alergología Clínica y Experimental (GACE), Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

Correspondencia: Julián Camilo Arango Rincón; julian.arango@gmail.com

Recibido: mayo 29 de 2013

Aceptado: octubre 21 de 2013

during the response phase of allergy; they have not been well studied in terms of their induction, regulation and function. EETs have been detected in inflammatory intestinal processes, autoimmune diseases and multiple infectious diseases, but few investigations have been made about their involvement in allergic diseases. This is a review about the structure of EETs, the molecules involved in their formation, and their possible role in the pathogenesis of allergies. Furthermore, the main aspects of cellular and molecular processes involved in the immunopathogenesis of allergies, and the central aspects of the structure, composition and functioning of eosinophils are reviewed.

KEY WORDS

Eosinophils; Eosinophil Extracellular DNA Traps (EET); Eosinophil Granule Proteins; Extracellular DNA Traps; Immediate Hypersensitivity; Mitochondrial DNA

INTRODUCCIÓN

Las alergias son las enfermedades relacionadas con el sistema inmune con mayor prevalencia en todo el mundo; incluyen, entre otras, las siguientes: asma, rinitis, anafilaxias, alergias alimentarias, a medicamentos e insectos, eczema, urticaria y angioedema. Según las estadísticas de la Organización Mundial de la Salud (OMS), 600 millones de personas en el mundo sufren de rinitis y cerca de 300 millones padecen asma, lo que demuestra la importancia de estas enfermedades (1).

En Colombia existen pocas investigaciones sobre el impacto y la prevalencia del asma. Dennis y colaboradores mostraron que la prevalencia de esta enfermedad es del 10,4%, lo que significa que hay cerca de 4,5 millones de personas que sufren asma (2). Además, el 50% de los casos aparecen en edades tempranas, usualmente en menores de 18 años. Otros estudios muestran tasas de prevalencia de asma del 20,6% en Cali y del 9,4% en Bogotá (3). En la región Caribe se encontró una prevalencia acumulada del 12% de personas con asma. Igualmente, Dennis y colaboradores hicieron un estudio en seis ciudades entre los años 2009-2010, y observaron que la prevalencia del asma ha ido en aumento en el país y que alcanza el 12,1% (4). Por otra parte, en Medellín, en un estudio reciente de 300 pacientes con sospecha de enfermedades alérgicas (asma, rinitis, dermatitis), se encontró que 79,6% eran

atópicos, la mayoría sensibilizados a dos o tres aeroalérgenos; los ácaros eran la principal fuente sensibilizante, seguidos por epitelio de mascotas e insectos y, en menor proporción, por pólenes, hongos y fibras textiles, entre otros (5).

Además de la epidemiología, hay que tener en cuenta aspectos centrales de la inmunología de las alergias, que son enfermedades relacionadas con el sistema inmune. Uno de los mecanismos propuestos para su desarrollo sugiere que se afecta la tolerancia periférica del organismo, lo que lleva al desarrollo de los diferentes síntomas alérgicos cuando ocurre la exposición a antígenos ambientales o alérgenos (6). La función fisiológica del sistema inmunitario consiste en la defensa contra microorganismos infecciosos, pero una sustancia ajena sin carácter infeccioso también puede desencadenar una respuesta no característica del sistema inmunitario normal (7). Este trastorno del sistema inmune se conoce como hipersensibilidad y consiste en una respuesta incontrolada o excesiva frente a antígenos extraños, ya sean de tipo infeccioso (microorganismos) o ambiental (8).

Las enfermedades asociadas a hipersensibilidad se clasifican según el tipo de reacción inmunitaria que desencadenan y los mecanismos efectores que causan el daño tisular (9).

La hipersensibilidad se puede dar por diversos mecanismos; entre las ocasionadas por anticuerpos, es de importancia la mediada por IgE también conocida como hipersensibilidad inmediata o alergia IgE-mediada. Este tipo de respuesta a antígenos ambientales desencadena la diferenciación de linfocitos T_H2 CD4+ y la síntesis de IgE, que se unen a la porción cristalizable (Fc) de los receptores de inmunoglobulinas presentes en las membranas de mastocitos, basófilos y eosinófilos (sensibilización); ante una segunda exposición al antígeno se desata una serie de reacciones inflamatorias o fase de respuesta, en la que actúan las células mencionadas y sus mediadores solubles (histamina, prostaglandinas, leucotrienos, etc.). En conjunto estos componentes desarrollan la fisiopatología específica de cada enfermedad alérgica (7). Otro de los mecanismos utilizados por los eosinófilos durante la fase de respuesta son las llamadas trampas extracelulares de eosinófilos (EET, por la sigla en inglés de *Eosinophil extracellular traps*) (10-12), que han sido poco estudiadas en cuanto a su inducción, regulación

y función. Esta revisión muestra los avances en el estudio de este interesante mecanismo con el propósito de actualizar la información al respecto y discutir sus posibles campos de aplicación y estudio.

ALERGIAS

Cuando se afecta el equilibrio entre la respuesta defensiva y los mecanismos de tolerancia, se presentan implicaciones patológicas importantes. Es el caso de las alergias, en las que la disfunción en la regulación del sistema inmune ocasiona daño tisular mediante los mecanismos efectores normales que dicho sistema utiliza frente a diversos patógenos (7).

Las reacciones alérgicas de hipersensibilidad tipo I están mediadas por IgE y desde el punto de vista fisiopatológico se caracterizan por la reacción frente a antígenos inocuos llamados alérgenos que lleva a procesos inflamatorios y al daño de tejidos (13).

El desarrollo de las respuestas alérgicas mediadas por IgE requiere varios pasos: inicialmente el individuo se

expone al alérgeno, que entra al cuerpo por inhalación (polen, ácaros, esporas de hongos ambientales), inoculación (picadura de insectos y medicamentos), ingestión (alimentos y fármacos) o contacto (lana, seda, cuero, productos industriales) (14).

Luego de la entrada del alérgeno, las células presentadoras de antígeno, en especial las dendríticas, lo internalizan y procesan; luego lo presentan a los linfocitos T ayudadores (CD4) en los órganos linfoides regionales mediante moléculas MHC-II. Estas células pueden proliferar y diferenciarse principalmente en poblaciones de linfocitos Th1 y Th2. En el caso de las alergias se induce un patrón de citocinas Th2, entre las que se encuentran la IL-4, IL-5 e IL-13, que a su vez activan a los linfocitos B, los cuales comienzan la producción de IgE, específica para el alérgeno (15). Dicha inmunoglobulina se une a los receptores de alta afinidad de la IgE o RFcε1 de la superficie de mastocitos, basófilos y algunos eosinófilos dejándolos sensibilizados para su posterior activación (figura 1) (16).

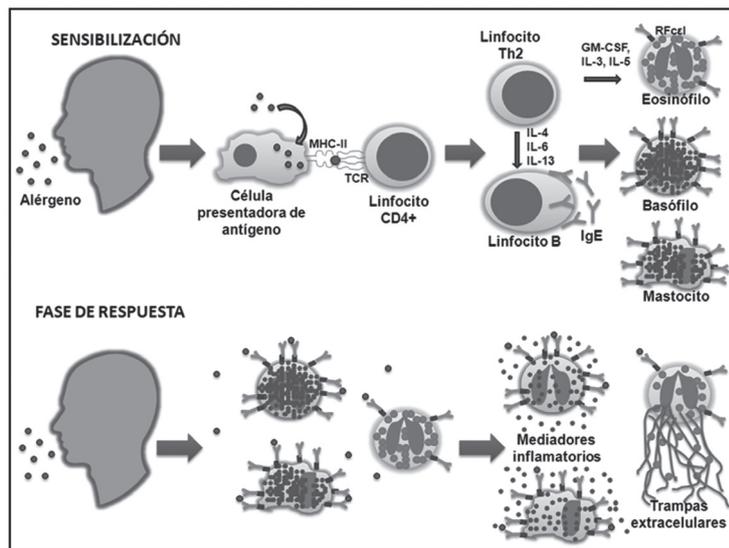


Figura 1. Fases del proceso inflamatorio alérgico. Un individuo atópico entra en contacto con el alérgeno, el cual es captado y procesado por células presentadoras de antígeno. Estas células presentan el alérgeno a linfocitos T CD4+, e inducen un patrón de citocinas Th2 que activan linfocitos B, los cuales secretan IgE que se une a mastocitos, basófilos y en menor proporción a eosinófilos sensibilizándolos. Cuando ocurre una segunda exposición al alérgeno, se da la fase de respuesta, en la que se activan las células y liberan diversos mediadores inflamatorios. Además, se producen trampas extracelulares de eosinófilos

La exposición a un alérgeno en un individuo que previamente ha producido anticuerpos IgE frente a él inducirá la activación de mastocitos y basófilos residentes en el tejido expuesto (fase de respuesta). La unión del alérgeno al anticuerpo IgE en la membrana de las células desencadena la degranulación de estas, liberando mediadores biológicamente activos, entre los que se encuentran la histamina, mediadores lipídicos (prostaglandinas y leucotrienos), citocinas y quimiocinas (17). Todos estos mediadores inflamatorios caracterizan la fase aguda de la reacción alérgica que suele tardar pocos minutos después del contacto con el alérgeno (18).

Los eosinófilos desempeñan un papel relevante en el daño tisular porque tienen el potencial de liberar moléculas proteolíticas agresivas para todo tipo de tejidos. Entre estas se encuentran proteínas básicas asociadas a los gránulos (causan daños a nervios y células epiteliales), mediadores lipídicos (pueden provocar broncoconstricción e hipersecreción en las mucosas) y especies reactivas de oxígeno (generalmente lesionan la membrana de otras células) (19). Además de estos mecanismos efectores, recientemente se ha descrito que estas células pueden liberar estructuras

compuestas de ADN y material de los gránulos, conocidas como *trampas extracelulares de eosinófilos* (EET), que se consideran como otro mecanismo responsable del daño tisular en algunas enfermedades alérgicas (12).

EOSINÓFILOS

Los eosinófilos son leucocitos implicados en la patogénesis de muchos procesos inflamatorios, incluyendo infecciones, lesiones en tejidos, tumores y enfermedades alérgicas (20-22). Se caracterizan por tener núcleo bilobulado con su cromatina fuertemente condensada y, además, tienen abundantes gránulos en el citoplasma (específicos y primarios). Los gránulos específicos contienen proteínas catiónicas que le confieren las propiedades características y únicas al eosinófilo (23). Los gránulos primarios, por otro lado, son similares a los que se encuentran en otras células de la línea granulocítica (basófilos y neutrófilos) (19) y contienen proteínas comunes para todas las células, descritas en la tabla 1. Asimismo, los eosinófilos contienen cuerpos lipídicos, que son organelas no rodeadas de membrana que contienen metabolitos del ácido araquidónico importantes en las respuestas inflamatorias (24).

Tabla 1. Contenido de los gránulos de células de la línea granulocítica*

Contenido de los gránulos			
Célula	Primarios (azurófilos)	Secundarios (específicos)	Terciarios
Neutrófilo	Mieloperoxidasa (MPO), defensas proteína incrementadora de la permeabilidad bacteriana (BPI) lisozima, elastasa, azurocidina, hidrolasa ácida, proteinasa 3, catepsina G, sialidasa, beta-glucuronidasa	Lactoferrina, lisozima, gelatinasa asociada a lipocalina (NGAL), citocromo B ₅₅₈ , colagenasa, activador del plasminógeno tipo uroquinasa (uPA), cistatina C, cistatina F, haptoglobina, pentraxina 3, prodefensina	Lisozima, gelatinasa, arginasa, beta-2-microglobulina, proteína secretora rica en cisteína (CRISP3)
Eosinófilo	Proteína cristal Charcot Leyden o galectina-10, elastasa, colagenasa, gelatinasa	Proteína básica mayor, proteína catiónica eosinofílica, neurotoxina derivada del eosinófilo, peroxidasa eosinofílica, lisofosfolipasa, fosfatasa ácida, fosfolipasa A2, BPI, N acetilmuramil-alanina amidasa (NAMLAA), catalasa, uroquinasa, antitripsina alfa-1, histaminasa, colagenasa, captasinas	Arilsulfatasa B (gránulos pequeños)
Basófilo	Elastasa, colagenasa, gelatinasa	Histamina, condroil sulfato A, heparina, triptasa alfa, triptasa beta, quimasa, catepsina	
Mastocito	Elastasa, colagenasa, gelatinasa	Histamina, serglicina, condroil sulfato A, heparina, carboxipeptidasa A, triptasa alfa, triptasa beta, triptasa gamma, quimasa, leucotrienos C, D y E, factor quimiotáctico para eosinófilos (ECF), factor quimiotáctico para neutrófilos	

*Se numeran las principales proteínas presentes en los diferentes gránulos de las células de la línea granulocítica. Algunas de estas proteínas hacen parte activa de la fase de respuesta de las alergias

Los eosinófilos son producidos en la médula ósea por células madre pluripotenciales. Dichas células se diferencian hacia progenitores comunes de eosinófilos/basófilos, antes de diferenciarse totalmente al linaje de los eosinófilos, los cuales expresan CD34, receptor de IL-5 y CCR3 (25). Tres citocinas, IL-5, IL-3 y GM-CSF son importantes en la regulación del proceso de proliferación y diferenciación. De estas, la IL-5 es la más específica, la responsable de la diferenciación selectiva y estimula la liberación de eosinófilos desde la médula ósea hacia la circulación periférica (26). Además, la eotaxina-1, una quimiocina, es capaz de activar el receptor CCR3 y causar la liberación de la médula ósea tanto de eosinófilos maduros como de sus precursores (27,28).

Los eosinófilos suelen ubicarse principalmente en la piel y las mucosas (respiratoria y gastrointestinal) donde cumplen un papel importante en el desarrollo de los procesos alérgicos. En condiciones basales, pueden encontrarse además en el timo, las glándulas mamarias y el útero (29). Son atraídos a los focos inflamatorios por la acción de quimiocinas proinflamatorias producidas en respuesta a diversos estímulos. Los factores quimioatrayentes son producidos por células epiteliales y endoteliales, macrófagos, mastocitos, basófilos y los mismos eosinófilos. Entre estos factores se encuentran LB4, PAF, MCP-3, MIP-4, LTD2, C5a e IL-16, aunque ninguno de ellos es selectivo para eosinófilos, a diferencia de la eotaxina (1-3) que es relativamente específica e interactúa con el receptor CCR3 (30). El efecto quimiotáctico de esta quimiocina es potenciado por la IL-5 y regulado por la IL-4 y la IL-13, precisamente las citocinas del patrón Th2 (31). Otra molécula relevante en la quimiotaxis es la quimiocina RANTES (también conocida como CCL5) (32).

La exposición de los eosinófilos circulantes a diversas quimiocinas incrementa su afinidad por las células endoteliales, mediada principalmente por la interacción de la P-selectina presente en los eosinófilos con su ligando PSGL-1, y de la integrina VLA-4 por VCAM-4 expresada en el endotelio tras el estímulo de IL-4, lo que permite la adherencia de la célula al endotelio y su posterior infiltración hacia el tejido inflamado (33).

Una vez que el eosinófilo entra al tejido, puede permanecer por períodos prolongados, dependiendo del microambiente de citocinas, porque algunas de estas, como IL-3, IL-5 y el GM-CSF retardan su apoptosis, lo que aumenta su período de supervivencia en el

tejido (34,35). Por lo tanto el eosinófilo, durante un proceso alérgico, tiene más posibilidades de desplegar un conjunto de mecanismos que promueven la inflamación y el daño tisular (36).

Como se mencionó anteriormente, los gránulos de los eosinófilos contienen ciertas proteínas catiónicas entre las que se destacan la proteína básica mayor (MBP), la proteína catiónica del eosinófilo (ECP), la neurotoxina derivada del eosinófilo (EDN) y la peroxidasa del eosinófilo (EPO) (37). La MBP es sintetizada en dos isoformas (MBP1 y MBP2) durante el desarrollo temprano del eosinófilo y su principal función ocurre frente a infecciones parasitarias, aunque se ha demostrado su citotoxicidad en las vías aéreas, por lo que es parcialmente responsable del daño a tejidos asociado con la infiltración eosinofílica de la mucosa bronquial en procesos asmáticos (38,39). Su toxicidad se debe a que incrementa la permeabilidad de las membranas plasmáticas, lo que altera su carga superficial y desencadena un aumento en la reactividad del músculo liso y la degranulación de mastocitos y basófilos (37).

La ECP es un miembro de una subfamilia de ribonucleasas (RNasa), y al igual que con la MBP se han identificado dos isoformas (ECP1 y ECP2). Entre sus principales funciones se destacan su potencial bactericida y su toxicidad frente a diversos helmintos (40). Al liberarse, la proteína catiónica actúa sobre las células e induce en ellas la formación de poros que alteran la permeabilidad de la membrana de la célula y llevan a la muerte de esta; además, promueve la degranulación de mastocitos, estimula la secreción de moco en la vía aérea y la producción de glucosaminoglicanos por los fibroblastos (41-43). Un segundo miembro de la subfamilia es la EDN, también llamada EPX. Su actividad de ribonucleasa es 100 veces más potente que la de la ECP, aunque es menos básica. Su expresión no se restringe a eosinófilos, pues se la ha detectado también en células mononucleares y en neutrófilos; está implicada principalmente en infecciones respiratorias en las que ejerce actividad antiviral (44).

Por último, la EPO está asociada con actividad bactericida pues cataliza reacciones de oxidación de haluros (bromuros, cloruros y yoduros), pseudohaluros (tiocianato) (45) y óxido nítrico presentes en el plasma, junto con el peróxido de hidrógeno generado durante el estallido respiratorio (46), lo que lleva a la formación de sustancias citotóxicas (ácidos hipohalosos)

y metabolitos reactivos del nitrógeno (peroxinitrato), que oxidan proteínas y promueven el estrés oxidativo y la muerte celular (37).

Los eosinófilos secretan sus gránulos por exocitosis o degranulación (47). En esta última, liberan selectivamente componentes específicos de los gránulos, dependiendo del estímulo, mientras que la exocitosis ocurre por la formación de complejos SNARE (conjunto de receptores del factor soluble de unión a proteínas de fusión sensibles a N-etilmaleimida) o complejos de fusión (48). Además, el eosinófilo puede liberar cierta variedad de citocinas, quimiocinas, mediadores lipídicos, neuromoduladores e intermediarios reactivos del oxígeno, que contribuyen a las lesiones tisulares.

TRAMPAS EXTRACELULARES

Como se mencionó, otro importante mecanismo efector de los eosinófilos consiste en la liberación de trampas extracelulares. Estas no solo son generadas por los eosinófilos, sino también por otros leucocitos, como los neutrófilos (49-51), e incluso por monocitos y mastocitos (52,53); además, se han asociado particularmente con la respuesta frente a patógenos como bacterias, hongos y parásitos, esencialmente en sitios de barrera, donde el organismo está en contacto con el ambiente. En el caso de las trampas extracelulares de neutrófilos (NET) se ha demostrado que pueden iniciar o potenciar enfermedades autoinmunes (54) y contribuir además a la inmunopatología de enfermedades crónicas, como el asma bronquial (12).

Por otra parte, en muchas enfermedades infecciosas se ha demostrado la presencia de EET, entre ellas espiroquetosis, esquistosomiasis, gnatostomiasis y sarna; es de resaltar que durante estos procesos el mecanismo de las EET puede llevar a efectos adversos en los tejidos porque se liberan compuestos citotóxicos y citocinas que hacen perdurar el proceso inflamatorio. Sin embargo, Yousefi y colaboradores, al estudiar las EET en un modelo experimental de sepsis, encontraron que ellas podrían llegar a ser un mecanismo protector porque se produce un rápido efecto microbicida que limita la diseminación de las bacterias patógenas (11).

En la patogénesis de las enfermedades alérgicas, los eosinófilos juegan un papel importante por la liberación

de sustancias que llevan al daño tisular, a la inflamación o a la remodelación. Recientemente se ha demostrado la liberación de EET en pacientes con asma, dermatitis alérgica de contacto y reacciones de hipersensibilidad a medicamentos usando técnicas como la microscopía confocal de barrido láser, la citometría de flujo, la hibridación fluorescente *in situ* y el ensayo TUNEL que permiten visualizar las estructuras tridimensionales de las EET y sus efectos en los tejidos (10).

Asimismo, se han observado las EET bajo condiciones *in vitro* e *in vivo*, utilizando modelos animales (primordialmente ratones) y biopsias de tejidos humanos, y se ha demostrado la colocalización del ADN liberado con proteínas de los gránulos citoplasmáticos de eosinófilos, como la ECP y la MBP, en espacios extracelulares (11). En diversos estudios se ha demostrado que los eosinófilos aislados y purificados a partir de muestras sanguíneas generan EET cuando son preestimulados con IL-5 o IFN- γ y posteriormente activados con lipopolisacáridos (LPS), eotaxina o C5a (11). Asimismo, Morshed y colaboradores describieron que la linfopoyetina estromal tímica (TSLP) producida por las células epiteliales y *Staphylococcus aureus* estimula fuertemente la generación de EET en el contexto de la adherencia de los eosinófilos (figura 2) (55). Otro hallazgo para resaltar en la producción de EET fue el de Schorn y colaboradores que vieron cómo los cristales de urato monosódico (MSU) inducen la producción de las trampas después de un proceso de fagocitosis y muerte celular (56).

Sin embargo, otros autores afirman que en la formación de EET los eosinófilos permanecen viables al no evidenciarse claramente un proceso de apoptosis u otro tipo de muerte celular. Además, se comprobó mediante imaginología de células vivas, que el ADN liberado no es de tipo nuclear, sino mitocondrial, y que el fenómeno se da en menos de un segundo (11). Estos hallazgos contradicen lo observado por Schorn y muestran que la liberación de ADN mitocondrial y proteínas catiónicas es un proceso activo llevado a cabo por eosinófilos viables, en contraste con lo ocurrido en neutrófilos en los que el ADN de las NET es de tipo nuclear (tabla 2). Este hecho sugiere que al permanecer los eosinófilos vivos se podría perpetuar el proceso inflamatorio, lo que para el caso de las alergias podría llevar a su cronicidad; sin embargo, para demostrar esta hipótesis son necesarios estudios *in vivo* (en modelos animales).

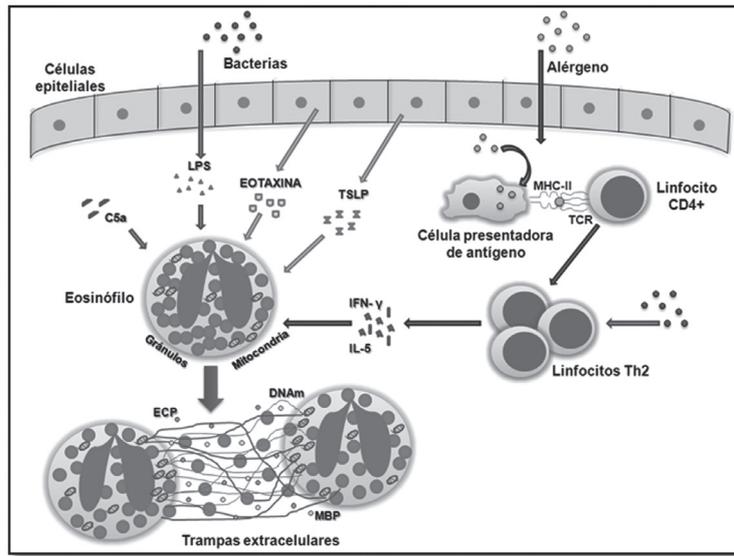


Figura 2. Mecanismo de formación de las trampas extracelulares de eosinófilos. Los eosinófilos son estimulados por la IL-5 o el IFN-γ y posteriormente activados con lipopolisacáridos (LPS), eotaxina, C5a, linfopoyetina estromal tímica (TSLP) y *Staphylococcus aureus* para generar EET. Los cristales de urato monosódico (MSU) también inducen la producción de trampas extracelulares. En estas trampas se observa ADN mitocondrial liberado junto con proteínas de los gránulos citoplasmáticos, como la ECP y la MBP, en los espacios extracelulares

Tabla 2. Comparación entre NET y EET*

	EET	NET
Activadores	IL-5, IFN-γ, LPS, eotaxina, C5a, linfopoyetina estromal tímica (TSLP), <i>Staphylococcus aureus</i> , cristales de urato monosódico (MSU)	IL-8, lipopolisacáridos (LPS), acetato de forbol miristato (PMA), IFN-γ, C5a, GM-CSF, lipofosfoglicano (LPG), complejo proteína M1-fibrinógeno, calcio, peróxido de hidrógeno, glucosa oxidasa (GOx), estatinas, TNF-α, leucocidina de Pantón Valentine (LPV), factor activador de plaquetas (PAF), óxido nítrico (ON)
Componentes	Estructura de ADN mitocondrial, proteínas de gránulos, como ECP y MBP	Estructura de ADN nuclear o mitocondrial, proteínas de gránulos primarios, específicos y terciarios, histonas, proteínas citoplasmáticas
Microorganismos y enfermedades	Espiroquetosis, esquistosomiasis, gnatostomiasis, sarna, asma bronquial, dermatitis atópica, dermatitis de contacto, reacciones alérgicas a drogas, penfigoide ampolloso	<i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Cryptococcus gattii</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Eimeria bovis</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Helicobacter pylori</i> , VIH, <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Leishmania amazonensis</i> , <i>L. donovani</i> , <i>L. major</i> , <i>L. chagasi</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Shigella flexneri</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> . Asma, psoriasis, lupus eritematoso sistémico

*Se comparan las trampas extracelulares de eosinófilos y neutrófilos en aspectos como su activación, contenido y enfermedades en las que han sido descritas.

Un evento clave en la señalización intracelular durante la formación de las EET parece ser la activación del sistema NADPH oxidasa; en efecto: la inhibición farmacológica o bien defectos genéticos en este sistema asociados con fallas en la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) suprimen totalmente la capacidad de los eosinófilos para formar EET. Aún no se entienden los otros mecanismos requeridos para la liberación de ADN mitocondrial y por ende la formación de EET (11).

Al igual que las NET, las EET tienen la habilidad de destruir microorganismos patógenos y estas pueden ser degradadas por la acción de algunas nucleasas (11). Sin embargo, se ha visto que la fuente de ADN y el mecanismo de liberación de ambas células son diferentes. La mayoría de los investigadores afirman que el ADN liberado por las NET proviene del núcleo de la célula y requiere la muerte celular (netosis) (57). Sin embargo, Yousefi y colaboradores, mediante estudios en un modelo *in vitro*, demostraron que las NET pueden ser generadas por neutrófilos viables, liberando ADN mitocondrial de forma similar a lo hallado en eosinófilos. Estos resultados concuerdan con los de Pilszczek y colaboradores que observaron la presencia de ADN nuclear y mitocondrial en las NET (58,59). Estas diferencias informadas en los mecanismos de liberación de ADN pueden presentarse, por ejemplo, debido a que muchos investigadores estimulan los neutrófilos con activadores potentes como acetato de forbol miristato (PMA), que induce rápidamente la necrosis o la formación de NET (60,61).

Como se indicó anteriormente, se ha descrito la participación de las EET en enfermedades alérgicas, que se asocian a menudo con eosinofilia en sangre y tejidos, y cursan con presencia de IL-5, TSLP, eotaxina y C5a lo que genera un ambiente propicio para la formación de EET, que podría perpetuar el proceso inflamatorio en estos pacientes. Igualmente, se demostró que los eosinófilos y neutrófilos que infiltran las vías aéreas producen trampas extracelulares de ADN en pacientes asmáticos y en biopsias bronquiales, donde el número de EET compuestas de ADN y MPB se correlacionó con el de eosinófilos que infiltraron el tejido, pero no con los niveles de IL-5, eotaxina e INF- γ en los lavados broncoalveolares (LBA). Estos resultados se pueden deber a la destrucción rápida que pueden sufrir las EET en los tejidos por acción de las nucleasas

o bien al hecho de que los niveles de estas citocinas en los LBA no representan los niveles en los tejidos de los pacientes asmáticos (12). Además del asma, se han hallado las estructuras compuestas por ADN y ECP en biopsias de pacientes con enfermedades alérgicas de la piel. Aunque el número total de eosinófilos productores de EET en los tejidos de pacientes con estas enfermedades era bastante pequeño, se detectaron agregados de EET alrededor de grupos de eosinófilos, por ejemplo, en la dermatitis alérgica de contacto el 30% de los eosinófilos generaron EET (10).

En las enfermedades alérgicas de la piel, en comparación con el asma, se presentó una menor cantidad de EET (12). Sin embargo, este hallazgo puede estar sesgado debido a que el trabajo en pacientes asmáticos se hizo bajo un protocolo estricto orientado a la búsqueda específica de dichas estructuras (12), mientras que la investigación que buscó EET en las enfermedades alérgicas de la piel no tenía como objetivo principal el diagnóstico de estas estructuras y las evaluó en biopsias antiguas y bajo un protocolo no tan sensible para la detección de ADN extracelular, por lo cual esta comparación no es del todo válida, y es necesario un trabajo más riguroso que permita demostrar que la producción de EET en la piel es realmente menor que en otros tejidos y cómo influye en la fisiopatología de la dermatitis alérgica (10).

Aunque se ha demostrado la presencia de eosinófilos en diversos procesos alérgicos, no está clara la razón por la cual estos liberan y forman EET; además, parece ser en menor concentración que la encontrada en enfermedades infecciosas. Podría postularse que las trampas extracelulares se pueden producir como herramientas contra agentes infecciosos potencialmente invasores de las vías respiratorias o relacionados con enfermedades de la piel. Por otra parte, es posible que las trampas de ADN contribuyan al daño en las células epiteliales característico de los procesos asmáticos, o inclusive al daño tisular en la piel. La evidencia de que las EET pueden causar daño en los tejidos se obtuvo a partir de la observación de pacientes con penfigoide ampolloso, una enfermedad autoinmune de la piel con formación de ampollas subepidérmicas, en la que las células basales de la unión dermo-epidérmica mostraron signos de apoptosis y se encontraron rodeadas de eosinófilos productores de EET, lo cual sugiere que estas estructuras contribuyen a la formación de ampollas (62).

Finalmente, no se debe excluir la hipótesis de que las trampas de ADN, por el contrario, pueden limitar el daño en los tejidos, por ejemplo, mediante la prevención del contacto directo de las proteínas citotóxicas con las células del tejido donde se lleva a cabo el proceso alérgico. Esta hipótesis se apoya en el hecho de que en los pacientes con dermatitis alérgica de contacto y reacciones de hipersensibilidad a medicamentos no se observó relación entre la formación de EET y las células apoptóticas en la dermis (10).

CONCLUSIÓN

El estudio de las trampas extracelulares de ADN en relación con procesos alérgicos puede llevar a la obtención de tratamientos farmacológicos que disminuyan las lesiones en tejidos de pacientes con enfermedades alérgicas. Inicialmente, se ha descrito que la ECP contenida en los gránulos de los eosinófilos, y presente en las EET, podría contribuir significativamente al mecanismo patológico en lesiones tisulares y en respuestas adaptativas asociadas a mecanismos alérgicos, como en el caso del asma. Por consiguiente, un tratamiento enfocado contra dicha proteína y la estructura de las EET diezmaría las lesiones tisulares en estos pacientes. Además, resultados de diversos estudios indican que los eosinófilos juegan un papel importante como células efectoras en la patogenia de enfermedades alérgicas, por ejemplo, en las exacerbaciones asmáticas graves, y han demostrado que disminuyendo el número de dichas células se reducen de igual forma las lesiones (63).

En contraste, se ha descrito que las EET podrían regular la inflamación y ser estructuras protectoras en los tejidos de pacientes alérgicos, evitando que las proteínas catiónicas causen lesiones localizadas. Por esta razón, tratamientos enfocados a inducir la formación de trampas extracelulares podrían reducir la inflamación en los tejidos afectados durante procesos alérgicos y por lo tanto disminuir el número de lesiones.

Con base en estos hallazgos, el papel de las EET en los procesos alérgicos sigue siendo incierto, por lo que los estudios posteriores deberían incluir ensayos con terapias antieosinófilos para establecer su rol patogénico. Por esta razón, estudios sobre el mecanismo de formación de las trampas extracelulares de ADN y su fisiopatología permitirán dilucidar la razón por

la cual se forman estas estructuras extracelulares y originar tratamientos que mejoren la calidad de vida del paciente alérgico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Warner JO, Kaliner MA, Crisci CD, Del Giacco S, Frew AJ, Liu GH, et al. Allergy practice worldwide: a report by the World Allergy Organization Specialty and Training Council. *Int Arch Allergy Immunol.* 2006 Jan;139(2):166–74.
2. Dennis R, Caraballo L, García E, Caballero A, Aristizabal G, Córdoba H, et al. Asthma and other allergic conditions in Colombia: a study in 6 cities. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2004 Dec;93(6):568–74.
3. García E, Aristizabal G, Vasquez C, Rodríguez-Martínez CE, Sarmiento OL, Satizabal CL. Prevalence of and factors associated with current asthma symptoms in school children aged 6-7 and 13-14 yr old in Bogotá, Colombia. *Pediatr Allergy Immunol.* 2008 Jun;19(4):307–14.
4. Dennis RJ, Caraballo L, García E, Rojas MX, Rondon MA, Pérez A, et al. Prevalence of asthma and other allergic conditions in Colombia 2009-2010: a cross-sectional study. *BMC Pulm Med.* 2012 Jan;12:17.
5. Sanchez-Caraballo J, Diez-Zuluaga S, Cardona-Villa R. Sensibilización a aeroalérgenos en pacientes alérgicos de Medellín, Colombia. *Rev Alergia Mex.* 2012;59(3):139-47.
6. Johansson SGO, Bieber T, Dahl R, Friedmann PS, Lanier BQ, Lockey RF, et al. Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization, October 2003. *J Allergy Clin Immunol.* 2004 May;113(5):832–6.
7. Abbas A, Lichtman A, Pillai S. *Cellular and Molecular Immunology*. 7th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2011. p. 560.
8. Fireman P. *Atlas of Allergies And Clinical Immunology*. 3th ed. United States of America: Elsevier Mosby; 2005. p. 406
9. Fernández J, Campos A. *Alergia elemental*. 1 ed. Madrid: Universidad Miguel Hernández; 2003. p.168.
10. Simon D, Hoesli S, Roth N, Staedler S, Yousefi S, Simon H-U. Eosinophil extracellular DNA traps in skin diseases. *J Allergy Clin Immunol.* 2011 Jan;127(1):194–9.

11. Yousefi S, Gold JA, Andina N, Lee JJ, Kelly AM, Kozłowski E, et al. Catapult-like release of mitochondrial DNA by eosinophils contributes to antibacterial defense. *Nat Med*. 2008 Sep;14(9):949–53.
12. Dworski R, Simon H-U, Hoskins A, Yousefi S. Eosinophil and neutrophil extracellular DNA traps in human allergic asthmatic airways. *J Allergy Clin Immunol*. 2011 May;127(5):1260–6.
13. Peláez A, Dávila J. *Tratado de alergología*. Madrid: Ergon; 2007.
14. Darsow U, Laifaoui J, Kerschenlohr K, Wollenberg A, Przybilla B, Wüthrich B, et al. The prevalence of positive reactions in the atopy patch test with aeroallergens and food allergens in subjects with atopic eczema: a European multicenter study. *Allergy*. 2004 Dec;59(12):1318–25.
15. Adkinson F, Bochner BS, Busse WW, Holgate ST, Lemanske RF. *Middleton's Allergy Principles & Practice*. 7th ed. St Louis: Elsevier Mosby; 2009.
16. Saini SS, Richardson JJ, Wofsy C, Lavens-Phillips S, Bochner BS, Macglashan DW. Expression and modulation of FcεRIα and FcεRIβ in human blood basophils. *J Allergy Clin Immunol*. 2001 May;107(5):832–41.
17. Carroll NG, Mutavdzic S, James AL. Distribution and degranulation of airway mast cells in normal and asthmatic subjects. *Eur Respir J*. 2002 May;19(5):879–85.
18. Bafadhel M, McCormick M, Saha S, McKenna S, Shelley M, Hargadon B, et al. Profiling of sputum inflammatory mediators in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Respiration*. 2012 Jan;83(1):36–44.
19. Egesten A, Calafat J, Janssen H, Knof EF, Malm J, Persson T. Granules of human eosinophilic leukocytes and their mobilization. *Clin Exp Allergy*. 2001 Aug;31(8):1173–88.
20. Walsh GM. Advances in the immunobiology of eosinophils and their role in disease. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 1999 Oct;36(5):453–96.
21. Blanchard C, Rothenberg ME. Biology of the eosinophil. *Adv Immunol*. 2009 Jan;101:81–121.
22. Hogan SP, Rosenberg HF, Moqbel R, Phipps S, Foster PS, Lacy P, et al. Eosinophils: biological properties and role in health and disease. *Clin Exp Allergy*. 2008 May;38(5):709–50.
23. Muniz VS, Weller PF, Neves JS. Eosinophil crystalloid granules: structure, function, and beyond. *J Leukoc Biol*. 2012 Aug;92(2):281–8.
24. Wan H-C, Melo RCN, Jin Z, Dvorak AM, Weller PF. Roles and origins of leukocyte lipid bodies: proteomic and ultrastructural studies. *FASEB J*. 2007 Jan;21(1):167–78.
25. Boyce JA, Friend D, Matsumoto R, Austen KF, Owen WF. Differentiation in vitro of hybrid eosinophil/basophil granulocytes: autocrine function of an eosinophil developmental intermediate. *J Exp Med*. 1995 Jul;182(1):49–57.
26. Sitkauskienė B, Johansson A-K, Sergejeva S, Lundin S, Sjöstrand M, Lötvall J. Regulation of bone marrow and airway CD34+ eosinophils by interleukin-5. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2004 Mar;30(3):367–78.
27. Palframan RT, Collins PD, Williams TJ, Rankin SM. Eotaxin induces a rapid release of eosinophils and their progenitors from the bone marrow. *Blood*. 1998 Apr 1;91(7):2240–8.
28. Pope SM, Zimmermann N, Stringer KF, Karow ML, Rothenberg ME. The eotaxin chemokines and CCR5 are fundamental regulators of allergen-induced pulmonary eosinophilia. *J Immunol*. 2005 Oct 15;175(8):5341–50.
29. Fainboim L, Geffner J. *Introducción a la Inmunología Humana*. 6th ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2011.
30. Rosenberg HF, Phipps S, Foster PS. Eosinophil trafficking in allergy and asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2007 Jun;119(6):1303–10; quiz 1311–2.
31. Pope SM, Brandt EB, Mishra A, Hogan SP, Zimmermann N, Matthaei KI, et al. IL-13 induces eosinophil recruitment into the lung by an IL-5- and eotaxin-dependent mechanism. *J Allergy Clin Immunol*. 2001 Oct;108(4):594–601.
32. Lintomen L, Franchi G, Nowill A, Condino-Neto A, de Nucci G, Zanescio A, et al. Human eosinophil adhesion and degranulation stimulated with eotaxin and RANTES in vitro: lack of interaction with nitric oxide. *BMC Pulm Med*. 2008 Jan;8:13.
33. Jia GQ, Gonzalo JA, Hidalgo A, Wagner D, Cybulsky M, Gutierrez-Ramos JC. Selective eosinophil transendothelial migration triggered by eotaxin via modulation of Mac-1/ICAM-1 and VLA-4/VCAM-1 interactions. *Int Immunol*. 1999 Jan;11(1):1–10.

34. Morita M, Lamkhioued B, Soussi Gounni A, Aldebert D, Delaporte E, Capron A, et al. Induction by interferons of human eosinophil apoptosis and regulation by interleukin-3, granulocyte/macrophage-colony stimulating factor and interleukin-5. *Eur Cytokine Netw.* 1996 Dec;7(4):725–32.
35. Shinagawa K, Trifilieff A, Anderson GP. Involvement of CCR3-reactive chemokines in eosinophil survival. *Int Arch Allergy Immunol.* 2003 Feb;130(2):150–7.
36. Simon H-U. Molecules involved in the regulation of eosinophil apoptosis. *Chem Immunol Allergy.* 2006 Jan;91:49–58.
37. Kay A, Kaplan A, Bousquet J, Holt P editors. *Allergy and Allergic Diseases.* United Kingdom: Blackwell; 2008. p. 2184.
38. Pégorier S, Wagner LA, Gleich GJ, Pretolani M. Eosinophil-derived cationic proteins activate the synthesis of remodeling factors by airway epithelial cells. *J Immunol.* 2006 Oct 1;177(7):4861–9.
39. Furuta GT, Nieuwenhuis EES, Karhausen J, Gleich G, Blumberg RS, Lee JJ, et al. Eosinophils alter colonic epithelial barrier function: role for major basic protein. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2005 Nov;289(5):G890–7.
40. Singh A, Batra JK. Role of unique basic residues in cytotoxic, antibacterial and antiparasitic activities of human eosinophil cationic protein. *Biol Chem.* 2011 Apr;392(4):337–46.
41. Hohlfeld JM, Schmiedl A, Erpenbeck VJ, Venge P, Krug N. Eosinophil cationic protein alters pulmonary surfactant structure and function in asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2004 Mar;113(3):496–502.
42. Sugihara R, Kumamoto T, Ito T, Ueyama H, Toyoshima I, Tsuda T. Human muscle protein degradation in vitro by eosinophil cationic protein (ECP). *Muscle Nerve.* 2001 Dec;24(12):1627–34.
43. Zagai U, Lundahl J, Klominek J, Venge P, Sköld CM. Eosinophil cationic protein stimulates migration of human lung fibroblasts in vitro. *Scand J Immunol.* 2009 Apr;69(4):381–6.
44. Rosenberg HF, Domachowske JB. Eosinophils, eosinophil ribonucleases, and their role in host defense against respiratory virus pathogens. *J Leukoc Biol.* 2001 Nov;70(5):691–8.
45. Thomas EL, Bozeman PM, Jefferson MM, King CC. Oxidation of bromide by the human leukocyte enzymes myeloperoxidase and eosinophil peroxidase. Formation of bromamines. *J Biol Chem.* 1995 Feb 17;270(7):2906–13.
46. Lacy P, Abdel-Latif D, Steward M, Musat-Marcu S, Man SFP, Moqbel R. Divergence of mechanisms regulating respiratory burst in blood and sputum eosinophils and neutrophils from atopic subjects. *J Immunol.* 2003 Mar 1;170(5):2670–9.
47. Logan MR, Odemuyiwa SO, Moqbel R. Understanding exocytosis in immune and inflammatory cells: the molecular basis of mediator secretion. *J Allergy Clin Immunol.* 2003 May;111(5):923–32; quiz 933.
48. Logan MR, Lacy P, Bablitz B, Moqbel R. Expression of eosinophil target SNAREs as potential cognate receptors for vesicle-associated membrane protein-2 in exocytosis. *J Allergy Clin Immunol.* 2002 Feb;109(2):299–306.
49. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science.* 2004 Mar 5;303(5663):1532–5.
50. Arango JC, Gámez LY, López JA. Sistema NADPH oxidasa: nuevos retos y perspectivas. *Iatreia.* 2010;23(4):362-37.
51. Trejos AM, Perez L, Velez G, Reyes C, Rocha Y, Arango JC, et al. Estrategias de detección de trampas extracelulares de neutrofilos NETs. *Iatreia.* 2013;26(3sup): 34
52. von Köckritz-Blickwede M, Goldmann O, Thulin P, Heinemann K, Norrby-Teglund A, Rohde M, et al. Phagocytosis-independent antimicrobial activity of mast cells by means of extracellular trap formation. *Blood.* 2008 Mar 15;111(6):3070–80.
53. Webster SJ, Daigneault M, Bewley MA, Preston JA, Marriott HM, Walmsley SR, et al. Distinct cell death programs in monocytes regulate innate responses following challenge with common causes of invasive bacterial disease. *J Immunol.* 2010 Sep 1;185(5):2968–79.
54. Lande R, Ganguly D, Facchinetti V, Frasca L, Conrad C, Gregorio J, et al. Neutrophils activate plasmacytoid dendritic cells by releasing self-DNA-peptide complexes in systemic lupus erythematosus. *Sci Transl Med.* 2011 Mar 9;3(73):73ra19.

55. Morshed M, Yousefi S, Stöckle C, Simon H-U, Simon D. Thymic stromal lymphopoietin stimulates the formation of eosinophil extracellular traps. *Allergy*. 2012 Sep;67(9):1127–37.
56. Schorn C, Janko C, Latzko M, Chaurio R, Schett G, Herrmann M. Monosodium urate crystals induce extracellular DNA traps in neutrophils, eosinophils, and basophils but not in mononuclear cells. *Front Immunol*. 2012 Jan;3:277.
57. Fuchs TA, Abed U, Goosmann C, Hurwitz R, Schulze I, Wahn V, et al. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. *J Cell Biol*. 2007 Jan 15;176(2):231–41.
58. Yousefi S, Mihalache C, Kozłowski E, Schmid I, Simon HU. Viable neutrophils release mitochondrial DNA to form neutrophil extracellular traps. *Cell Death Differ*. 2009 Nov;16(11):1438–44.
59. Piłszczyk FH, Salina D, Poon KKH, Fahey C, Yipp BG, Sibley CD, et al. A novel mechanism of rapid nuclear neutrophil extracellular trap formation in response to *Staphylococcus aureus*. *J Immunol*. 2010 Dec 15;185(12):7413–25.
60. Keshari RS, Jyoti A, Kumar S, Dubey M, Verma A, Srinag BS, et al. Neutrophil extracellular traps contain mitochondrial as well as nuclear DNA and exhibit inflammatory potential. *Cytometry A*. 2012 Mar;81(3):238–47.
61. Takei H, Araki A, Watanabe H, Ichinose A, Sendo F. Rapid killing of human neutrophils by the potent activator phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) accompanied by changes different from typical apoptosis or necrosis. *J Leukoc Biol*. 1996 Feb;59(2):229–40.
62. Kerstan A, Simon H-U, Yousefi S, Leverkus M. Extensive accumulation of eosinophil extracellular traps in bullous delayed-pressure urticaria: a pathophysiological link? *Br J Dermatol*. 2012 May;166(5):1151–2.
63. Flood-Page P, Phipps S, Menzies-Gow A, Ong Y, Kay AB. Effect of intravenous administration of an anti-IL-5 mAb (Mepolizumab) on allergen-induced tissue eosinophilia, the late-phase allergic reaction and the expression of a marker of repair/remodeling in human atopic subjects. *J Allergy Clin Immunol*. 2003 Feb;111(2):S261.

