

EPOC: DE LOS FACTORES DE RIESGO EXTRÍNSECO A LA AUTOINMUNIDAD

Sandra Pérez Rial, Laura del Puerto Nevado, Germán Peces-Barba Romero

INTRODUCCIÓN

Las causas por las que el humo del cigarrillo conduce al desarrollo de la EPOC son múltiples, complejas y, en buena parte, desconocidas. Se desencadena una cascada de eventos con secuencia desconocida de la que únicamente sabemos algunas pinceladas aisladas en las que se tienen identificados algunos datos de estrés oxidativo, de respuesta inflamatoria con liberación de mediadores y de proteasas y de apoptosis que conducen a un daño pulmonar que no puede ser adecuadamente reparado. En este proceso, son claves las respuestas inmunes innata y adquirida desencadenadas, así como la existencia de un posible mecanismo autoinmune que podría ser responsable de la perpetuación de la lesión. En este sentido, la respuesta inflamatoria mediada por los linfocitos T presentes en el pulmón de un fumador, que persiste incluso durante años después de cesar el hábito de fumar, ha sido identificada como un componente clave de la EPOC que no está presente en los fumadores que no desarrollan la enfermedad⁽¹⁾. Existen también algunos datos que sugieren que la respuesta inmune puede tener un componente de autoinmunidad que igualmente estaría desencadenada por el humo del tabaco⁽²⁻⁴⁾. De hecho, en el 5% de los pacientes con EPOC que no son fumadores, la enfermedad parece estar asociada a una autoinmunidad específica⁽⁵⁾. Hay, por tanto, evidencias que muestran cómo la progresión de la EPOC es el resultado de una respuesta inflamatoria mediada por linfocitos T, que serían activados por antígenos liberados durante la lesión pulmonar inducida por el humo del tabaco.

RESPUESTA INICIAL AL HUMO DEL TABACO

a. Daño oxidativo

Cada bocanada de un cigarrillo contiene más de 2.000 compuestos xenobióticos y más de 1.000 radicales libres que dañan las células epiteliales del pulmón en un grado que es directamente proporcional a su concentración de agentes tóxicos.

a.1. Radicales libres y especies reactivas

Los radicales libres son átomos, grupos de átomos o moléculas con un electrón desapareado en su orbital más externo que les confiere inestabilidad y alta reactividad⁽⁶⁾. El término radical libre no es del todo preciso para describir al conjunto de las especies reactivas patogénicas, ya que muchas de ellas no tienen electrones desapareados en su orbital más externo pero, sin embargo, participan en reacciones de reducción-oxidación. Por ello los términos más apropiados serían especies reactivas de oxígeno (ERO) y especies reactivas de nitrógeno (ERN)⁽⁷⁾.

Las especies reactivas de oxígeno se encuentran de forma natural en los sistemas biológicos debido a que son productos intermedios del metabolismo celular del O_2 ⁽⁸⁾. Dichos productos intermedios son el radical superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), y el radical hidroxilo (OH^-). En el caso de los radicales libres de nitrógeno, éstos aparecen con la formación de óxido nítrico (NO) mediado por las óxido nítrico sintasas y generando sustancias altamente reactivas, como son el peroxinitrito ($HNOO^-$) y el NO_2 ⁽⁹⁾.

La generación de las especies reactivas constituye una parte integrada del metabo-

lismo existente en condiciones normales en los organismos vivos. Existe, además, una batería de sistemas antioxidantes que contribuyen a controlar su producción y a modular sus potenciales efectos negativos, pero existen situaciones en las que el equilibrio oxidante-antioxidante se altera. Entonces, los niveles de los productos oxidantes se elevan y conducen al sistema a una situación de estrés oxidativo⁽¹⁰⁾.

a.2. Daño oxidativo

La primera línea de defensa contra los oxidantes inhalados la conforma el fluido de revestimiento del tracto respiratorio, que forma una interfaz entre las células epiteliales y el ambiente externo y contiene agentes antioxidantes en él, como el ácido ascórbico, el glutatión o el ácido úrico⁽¹¹⁾. Sin embargo, la exposición al humo del tabaco produce cambios importantes en la homeostasis del glutatión, produciendo un descenso en la concentración del mismo así como en la actividad de las enzimas involucradas en el ciclo redox del mismo⁽¹²⁾. Los componentes del humo del tabaco atraviesan esta barrera protectora, produciendo un daño en el epitelio, debido a un incremento en la permeabilidad del mismo⁽¹³⁾. Este aumento en la permeabilidad es importante ya que facilita que los productos tóxicos derivados del tabaco accedan y causen daño en el intersticio pulmonar⁽¹²⁾. El daño oxidativo se ve, además, incrementado por el aumento en el número de neutrófilos y macrófagos que liberan más especies reactivas de oxígeno.

b. Respuesta inmune innata

La inmunidad innata y la adaptativa son componentes de un sistema integrado en el cual moléculas y células funcionan de forma cooperativa. La respuesta inmune innata se basa, no sólo en receptores de unión a antígeno sino también en el reconocimiento de patrones moleculares que, a diferencia de la respuesta inmune adaptativa, no está asociada a la inmunidad protectora de larga dura-

ción. La inmunidad innata es una respuesta rápida e inespecífica a antígenos y a la lesión tisular, que estimula e influye en el desarrollo relativamente lento de la respuesta inmune adaptativa.

El cómo irritantes tales como el humo del cigarrillo desencadenan una respuesta inmune innata es desconocido, pero se ha propuesto que no es la presencia de un antígeno concreto la que alerta al sistema inmunológico para responder, sino más bien el daño celular y el tisular resultantes de una agresión externa⁽¹⁴⁾. Los receptores tipo "Toll" (TLRs, *Toll-like receptors*), de los cuales existen alrededor de 15 tipos diferentes, son sensores en las células del sistema inmune innato que reconocen los patrones moleculares expuestos por los agentes patógenos y pueden iniciar la respuesta inmune frente al tejido lesionado^(15,16). La lesión pulmonar inflamatoria puede desestabilizar la matriz extracelular, y los productos de ruptura de esta matriz, tales como el ácido hialurónico y los biglicanos, pueden actuar como ligandos de los TLR-2 y TLR-4 que, tras la unión a su correspondiente ligando, activarán la vía de transcripción del NF κ B⁽¹⁶⁾, induciendo a estas células epiteliales a producir mediadores de inflamación. Estos mediadores activan macrófagos alveolares y neutrófilos que, a su vez, secretan enzimas proteolíticas que, junto con especies reactivas del oxígeno, dañan más aún el tejido pulmonar.

La exposición a agentes directos, como infecciosos o ambientales, o a productos derivados de la lesión tisular, el estrés oxidativo o la muerte celular podrían liberar autoantígenos⁽¹⁷⁾, modificar proteínas, dañar mitocondrias y liberar el ADN de las células apoptóticas. El sistema inmune adaptativo puede reconocer estos productos como antígenos extraños y desencadenar una respuesta inmunitaria⁽¹⁸⁾. El humo del tabaco puede también desencadenar este mismo proceso y liberar estos autoantígenos. Sin embargo, los autoantígenos no son, por sí mismos, suficientes para el desarrollo de una respuesta inmune o una enfermedad autoinmune, necesitan de la

participación de los TLRs, que conducirán la inmunidad innata y adaptativa y mejorarán el potencial patógeno de estos antígenos. El resultado final es una respuesta inflamatoria en la que los macrófagos y las células dendríticas descargarán una batería de citoquinas y quimioquinas que, juntas, orquestrarán las condiciones inflamatorias necesarias para activar el sistema inmune adaptativo⁽¹⁹⁾.

c. Mediadores de inflamación

La respuesta inflamatoria está asociada con un aumento en la expresión de proteínas inflamatorias como citoquinas, quimioquinas, así como enzimas proteolíticas y factores de crecimiento. La transcripción de estas proteínas está regulada por factores de transcripción, siendo el NF_κB uno de los más importantes⁽²⁰⁾.

c.1. Citoquinas inflamatorias

El humo de tabaco induce la liberación por parte de macrófagos y de células epiteliales, entre otras, del factor TNF α , factor central en el desencadenamiento de la respuesta inflamatoria, que favorece la posterior activación endotelial y el flujo de entrada de nuevos neutrófilos⁽²¹⁾.

La IL-1 β , es otra de las citoquinas principalmente activadas en este proceso y que está involucrada en el desencadenamiento y la persistencia de la inflamación. Está sintetizada por las células epiteliales y los macrófagos y participa en el reclutamiento de más neutrófilos, así como en la liberación de las metaloproteasas de matriz⁽²²⁾.

c.2. Quimioquinas

Las quimioquinas constituyen una familia de citoquinas quimiotácticas subdivididas en cuatro familias que se diferencian en el número y tipo de aminoácidos que se encuentran entre unas cisteínas conservadas en la región n-terminal. Juegan un papel importante en el reclutamiento de monocitos, neutrófilos y linfocitos⁽²³⁾. Las más importantes son MCP-1 (*monocyte chemoattractant protein-1*) y MIP-1 α (*macrophage inflammatory protein-1 α*), qui-

mioquinas esenciales para el reclutamiento de monocitos circulantes a través de la barrera endotelial y de la epitelial⁽²⁴⁾. La IL-8 tiene también una potente actividad quimiotáctica para neutrófilos y linfocitos. Es secretada por varias poblaciones celulares, como las epiteliales y los macrófagos y neutrófilos. El LTB₄ (*leucotrieno-B4*) y el GRO- α (*growth-related oncogene-alpha*), liberados por los macrófagos, tienen también actividad quimiotáctica para neutrófilos⁽²⁵⁾. Recientemente se ha puesto de manifiesto la actividad quimiotáctica que llevan a cabo determinados fragmentos de colágeno, N- α -PGP (*N-acetyl-proline-glycine-proline*) y PGP (*proline-glycine-proline*), resultantes de la rotura del mismo⁽²⁶⁾.

c.3. Proteasas

Las proteasas generadas por varios tipos celulares, además de degradar proteínas estructurales del pulmón, pueden jugar un papel regulador importante en el proceso inflamatorio de la EPOC. Existen varios tipos que se clasifican en función de su estructura bioquímica: serinaproteasas (elastasa, catepsina-G y proteinasa-3), cisteinaproteasas (catepsina-B, -H, -K, -L y -S) y metaloproteasas de matriz (MMP-1, -2, -3, -7, -8, -9, -12, -13, -14).

La elastasa neutrofílica, además de su papel como proteasa, se ha implicado en otras funciones, como la secreción de moco y la inducción de otras citoquinas proinflamatorias, como la IL-8. La importancia de esta proteína se puso de manifiesto en la EPOC al encontrar que la deficiencia en su principal inhibidor (α -1 antitripsina) era capaz de provocar el desarrollo de enfisema pulmonar en los pacientes con esta carencia.

La catepsina-G y la proteinasa-3, también producidas por neutrófilos, tienen propiedades similares a la elastasa⁽²⁷⁾.

Las metaloproteasas son una familia de endopeptidasas dependientes del cinc con estructuras y elementos funcionales similares. Son secretadas al medio extracelular en forma de zimógeno por parte de varios tipos celulares y su activación se traduce en una altera-

ción de la estructura tisular. Dependiendo de su especificidad de sustrato, se dividen en colagenasas (MMP-1, -8 y -13), gelatinasas (MMP-2 y -9), estromelisin (MMP-3, -10 y -11), MMP tipo membrana (MMP-14 a la -25), matrilisinas (MMP-7, -26) y macrófago elastasa (MMP-12)⁽²⁸⁾.

Existe otro tipo de proteasas relacionadas con las MMPs, son las ADAMs (*A disintegrin and metalloproteinase*) y las ADAMTs (*ADAMs with thrombospondin motifs*), al parecer, implicadas algunas ellas en transducción de señales, como es el caso de ADAM-17 relacionada con el procesamiento de la forma acoplada a la superficie celular del precursor del TNF α para liberar la forma madura de la citoquina⁽²⁹⁾.

La actividad de las proteasas liberadas por células inflamatorias es inhibida por antiproteasas. La principal de todas ellas es la α -1-antitripsina, situada en el tracto respiratorio bajo, potente inhibidor natural de las serina-proteasas. Las alteraciones en este gen dan lugar a bajas concentraciones de α -1-antitripsina en plasma, provocando en pacientes enfisema en edades tempranas, especialmente si se trata de fumadores⁽³⁰⁾.

Los principales inhibidores fisiológicos de las metaloproteasas son la α -2-macroglobulina y una familia de inhibidores llamados TIMPs, que incluye a TIMP-1, -2, -3 y -4. Estos inhibidores se unen al sitio catalítico de las MMPs, causando una pérdida de actividad en su actividad proteolítica⁽²⁸⁾.

Como resultado de la acción proteolítica, tanto de las MMPs como de la elastasa, se generan fragmentos de matriz extracelular que pueden ser reconocidos como autoantígenos por parte del sistema inmune, colaborando así en la progresión de la enfermedad⁽³¹⁾.

c.4. Factores del crecimiento

Existen varias citoquinas que, además de desempeñar su propio papel en la respuesta inflamatoria, tienen otras funciones, como la de promover la diferenciación y supervivencia de células inflamatorias o la proliferación

y/o activación de las células estructurales, contribuyendo de esta manera al remodelado que tiene lugar en la EPOC. Por ello, se clasifican bajo el nombre específico de factores de crecimiento. Los más importantes son el GM-CSF (*granulocyte macrophage colony-stimulating factor*), liberado por los macrófagos alveolares, que parece estar implicado en la supervivencia de los neutrófilos y de los macrófagos de las vías aéreas. El TGF β (*tumor growth factor- β*), también liberado por los macrófagos y las células epiteliales, es un factor de crecimiento multifuncional que induce la proliferación de los fibroblastos y de las células de la musculatura lisa de las vías aéreas y favorece la deposición de las proteínas de la matriz extracelular y la reparación epitelial. El TGF β es el principal responsable de los fenómenos de fibrosis que aparecen en la EPOC, efecto que está mediado por la participación de otro factor de crecimiento, el CTGF (*connective tissue growth factor*). Otro factor de crecimiento es el EGF (*epidermal growth factor*) activado, a su vez, por TGF β , que juega un papel regulatorio importante en la secreción de mucus⁽³²⁾.

RESPUESTA CLAVE AL HUMO DEL TABACO. LA RESPUESTA INMUNE ADAPTATIVA

Todo el proceso innato de respuesta rápida, anteriormente descrito, produce un daño tisular con liberación de nuevos productos, como fragmentos celulares o de la matriz, que contribuyen a la activación del proceso inmune adquirido mediante la activación de los linfocitos T y de la proliferación tisular. Este proceso se inicia cuando las células dendríticas inmaduras alertan al sistema inmune adaptativo de la presencia de estos productos de lesión tisular^(15,33). A continuación, estas células dendríticas maduran cuando los TLRs se unen a sus ligandos y expresan entonces altos niveles de proteínas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC, *major histocompatibility complex*) de clase II y moléculas CD80 y CD86, que se dirigen a los ganglios linfáticos locales, donde presentan los antígenos a

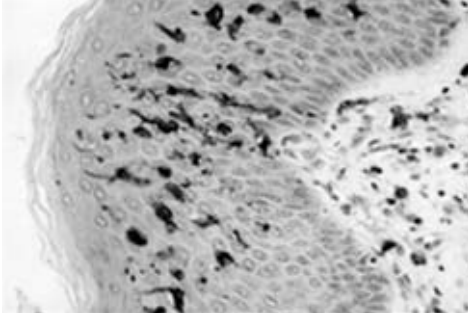


FIGURA 1. Sección de piel mostrando una gran cantidad de células dendríticas en la epidermis (*M. ulcerans infection, immunoperoxidase stain*).

los linfocitos T⁽³⁴⁾. La expresión de IL-12 por las células dendríticas activa el transductor de señal y el activador de la transcripción-4 (STAT4, *signal transducer and activator of transcription-4*), induce a los linfocitos T a diferenciarse a linfocitos T cooperadores CD4+, tipo 1 (Th1, *T helper-1*) que, a su vez, producen IFN γ . En fumadores con EPOC, existe un marcado aumento de las células dendríticas maduras (Fig. 1) en las vías respiratorias periféricas que, probablemente, está relacionado con la alta expresión en los pulmones de CCL20, como quimioatrayentes de células dendríticas. Hay también un aumento de los linfocitos T cooperadores CD4+ que expresan STAT4 en los pulmones.

Es probable que las células lesionadas, necróticas y apoptóticas, de los pulmones de los fumadores sean absorbidas por las células dendríticas y presentadas por éstas a las moléculas del MHC de clase I y a los linfocitos T citotóxicos CD8+, linfocitos abundantes en los pulmones de pacientes con EPOC.

Los linfocitos T CD8+ pueden dañar el tejido, bien por una acción citolítica directa o a través de la secreción de citoquinas pro-inflamatorias entre las que se encuentran el IFN γ (*interferon gamma*), IP-10 (*interferon-inducible protein-10*) y MIG (*monokine induced by IFN γ*). Los linfocitos T CD4+ también aparecen en la EPOC, centrando su acción, sobre todo, en amplificar la señal inflamatoria. Su acción pare-

ce ser debida a la liberación de un grupo de citoquinas entre las que se encuentra IL-6, IL-17A, IL-17F. Estas células también expresan receptores para IL-23 e IL-18⁽²⁵⁾.

Los linfocitos T inactivos no pueden entrar en el parénquima pulmonar fuera de los vasos sanguíneos pero, una vez activados por las células dendríticas presentadoras de antígeno, pueden situarse en el pulmón por medio de sus receptores de quimioquinas específicas de tejido. En los pulmones de los fumadores con EPOC, los linfocitos T (CD4+ y CD8+) expresan los receptores de quimioquinas CXCR3, CCR5 y CXCR6⁽⁵⁵⁾. Los ligandos para los CXCR3 son las quimioquinas CXCL10 y CXCL9, secretadas por los linfocitos T, que aumentan la producción de la metaloproteinasa de matriz-12 (MMP12), facilitando la destrucción del pulmón. La expresión de estos receptores y sus ligandos se correlaciona con la severidad de la enfermedad^(35,36). En este punto, la progresión y gravedad de la enfermedad están determinadas por la capacidad de las células dendríticas de estimular a los linfocitos T.

Los linfocitos T citotóxicos CD8+ son las células predominantes de la EPOC, presentes en las vías respiratorias grandes y pequeñas, en las arterias pulmonares y en el parénquima pulmonar⁽³⁷⁾. El número de linfocitos T CD8+ en el pulmón se correlaciona con el grado de obstrucción al flujo aéreo y enfisema, lo que sugiere que estas células causan lesiones tisulares en la EPOC. Cualquier célula que muestre moléculas del MHC de clase I puede ser diana de los linfocitos T citotóxicos CD8+. Después de un ataque citotóxico, las células diana mueren a causa de la apoptosis o de la necrosis originadas por la perforina, granulinsina o la *granzyme-A* o -B, todas las cuales son enzimas proteolíticas liberadas por los linfocitos T CD8+ en los pulmones de pacientes con EPOC^(38,39).

En los pulmones de los fumadores con enfisema y con EPOC en general, las células epiteliales y endoteliales sufren apoptosis, y el número de estas células apoptóticas aumenta con el grado de tabaquismo y se correlacio-

na con el número de linfocitos T CD8 + en el pulmón. Por otra parte, la supervivencia celular parece depender de las señales de los receptores de adhesión de la familia de las integrinas, que continuamente perciben el medio extracelular.

La apoptosis y la necrosis de las células epiteliales y endoteliales inducidas por los linfocitos T CD8 + y por diversas proteasas, contribuyen en gran medida a la destrucción pulmonar en la EPOC. Además, la fagocitosis de las células apoptóticas por los macrófagos alveolares es deficiente en esta patología⁽⁴⁰⁾, una anomalía que puede aumentar la cantidad de material antigénico y que ha sido implicado en algunas enfermedades autoinmunes⁽⁴¹⁾.

Los linfocitos T CD4 + también se encuentran en grandes cantidades en las vías respiratorias y parénquima de fumadores con EPOC. Estas células se activan y son oligoclonales; clones de linfocitos T CD4 + que aparecen en los pulmones, pero no en la sangre, lo que sugiere que su acumulación es el resultado de la estimulación por antígenos distribuidos por todo el pulmón⁽⁴²⁾. Los linfocitos T CD4 + en los pulmones de los fumadores con EPOC expresan STAT4 e IFN γ , sugiriendo mayor estimulación antigénica. El número de linfocitos T CD4 + que expresan IFN γ se correlaciona con el grado de obstrucción al flujo aéreo⁽⁴³⁾, apoyando la hipótesis de que estas células, junto con los linfocitos T CD8 +, desempeñan un papel importante en la patogenia de la EPOC. La función efectora de los linfocitos T CD4 + es, principalmente, mediada por citoquinas, que promueven la migración transendotelial de las células inflamatorias al sitio mismo de la lesión. El reclutamiento y la activación de las células inflamatorias, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, linfocitos T CD4 +, linfocitos T CD8 + y linfocitos B, progresan a medida que empeora la EPOC⁽⁴⁴⁾.

Se ha reportado la presencia de linfocitos B en los ganglios linfáticos de las vías respiratorias y en el parénquima, tanto en pacientes con EPOC como en ratones expuestos al humo del tabaco⁽⁴⁵⁾. El análisis de la secuencia

de los genes de la inmunoglobulina en los linfocitos B oligoclonales en estos folículos linfoides ha revelado la presencia de mutaciones en la región variable de inmunoglobulina, lo que sugiere la existencia de un proceso de selección impulsado por el antígeno. La ausencia de productos bacterianos o víricos en los folículos sugiere que estos linfocitos B oligoclonales posiblemente surgen en respuesta a antígenos que proceden directamente del pulmón⁽⁴⁵⁾. Sin embargo, las infecciones virales y las bacterianas podrían ser importantes en perpetuar el proceso inflamatorio y son consideradas como la principal causa de las exacerbaciones de la EPOC. Tales infecciones podrían desencadenar una respuesta inmune que culmina con daño pulmonar añadido. De esta forma, el aumento de la función de las células dendríticas, la predisposición genética y la insuficiente regulación inmune, resultan en una inmunidad adaptativa potenciada y en la evolución a formas más graves de la EPOC.

Respuesta autoinmune

La inflamación pulmonar existente en la EPOC grave incluye un gran número de linfocitos T Th1 oligoclonales activados⁽⁴²⁾, linfocitos B⁽⁴⁵⁾ y linfocitos T CD8 +, que persisten durante años, incluso después de cesar el hábito de fumar⁽⁴⁶⁾, lo que sugiere un proceso de auto-perpetuación, que es una de las características de las enfermedades autoinmunes. Esta cadena de eventos sugiere que la respuesta inmune adaptativa en la EPOC, junto con su persistencia después de dejar de fumar, podría ser debida a una respuesta a autoantígenos. Tras un periodo inicial en el que esta posibilidad sólo podía plantearse como hipótesis⁽²⁻⁴⁾, más recientemente hemos podido conocer los primeros datos que podrían avanzar hacia la confirmación de esta hipótesis. Por una parte, se ha descrito que la presencia de fragmentos de elastina procedentes de la destrucción pulmonar puede actuar como autoantígeno para el desarrollo de anticuerpos anti elastina, que tienen la característica de correlacionarse con el grado de enfisema, existiendo mayor seve-

ridad cuando la presencia de estos anticuerpos es más elevada⁽⁵¹⁾. También se ha descrito un primer modelo experimental de desarrollo de enfisema autoinmune en ratas obtenido tras desarrollar anticuerpos anticélulas endoteliales en respuesta a la inyección intraperitoneal de células endoteliales xenogénicas, lo que se asoció al desarrollo de enfisema centrolobulillar en estos animales. En este mismo modelo, la transmisión pasiva de linfocitos T-CD4 activados en ratas que desarrollan este enfisema autoinmune a otro animal también desencadena enfisema pulmonar en el animal receptor⁽⁴⁷⁾. Significativo también ha sido el hallazgo de que la activación del factor de transcripción STAT-4, esencial para la diferenciación de los linfocitos T en patrón Th1, se relaciona con la presencia de EPOC⁽⁴⁵⁾. Más recientemente, se han ido describiendo nuevos autoantígenos relacionados con la EPOC, como anticuerpos antipéptido citrulinado (anti-CCP)⁽⁴⁸⁾, anti-citoqueratina 18⁽⁴⁹⁾ y otros Ac IgG, como anti-nucleares Hep-2 y anti-células epiteliales⁽⁵⁰⁾. Existen, por lo tanto, datos muy significativos que apoyarían la existencia de un proceso autoinmune en el desarrollo de la EPOC, con descripción de autoanticuerpos que podrían reflejar la existencia de una intolerancia a algunos autoantígenos aunque, por ahora, se trata de datos aislados que necesitan de confirmación. Son muchas y variadas las formas de presentación de la EPOC y, por ahora, carecemos de información suficiente como para responsabilizar la existencia de una u otra a alguno de estos autoantígenos.

APOPTOSIS EN LA EPOC

La apoptosis es un mecanismo finamente regulado por el cual las células mueren de una forma controlada. Es un sistema fundamental para el mantenimiento de la homeostasis del tejido normal y está en equilibrio con la proliferación y la diferenciación celular. La apoptosis es un proceso que está relacionado con los mecanismos involucrados en el desarrollo de la EPOC: inflamación, desequilibrio entre proteasas-antiproteasas y estrés

oxidativo, añadiendo una complejidad extra a todo este entramado de procesos y contribuyendo todos ellos a la patogénesis de la EPOC.

a. Apoptosis e inflamación

En la EPOC existe un influjo de células inflamatorias hacia el pulmón. Entre ellas, los neutrófilos y los linfocitos T CD8+ son los que contribuyen más activamente en el desarrollo de la apoptosis. Los neutrófilos liberan la elastasa neutrofílica, que se une a un receptor fosfatidilserina del macrófago y produce una menor efectividad en la fagocitosis de las células epiteliales apoptóticas por parte de ellos y contribuye a un mantenimiento del estado inflamatorio. Por otro lado, la presencia de linfocitos T CD8+ citotóxicos puede inducir directamente apoptosis en células epiteliales alveolares mediante la secreción de perforinas, granzima-B y TNF α ⁽⁵¹⁾.

b. Apoptosis y desequilibrio proteasa-antiproteasa

La presencia y activación de las proteasas produce una destrucción directa de la matriz extracelular y una pérdida del equilibrio existente entre las interacciones de la célula y la matriz extracelular, lo cual es una señal de inducción de apoptosis. A esta forma de muerte celular programada inducida por ese desequilibrio se la conoce con el término de *anoikis*.

Por otro lado, la propia proteólisis puede ser también inductora de la muerte celular por apoptosis; datos recientes sugieren que MMP-7 activa Fas ligando induciendo este proceso⁽⁵¹⁾.

c. Apoptosis y estrés oxidativo

Se ha visto que la presencia de estrés oxidativo en los pulmones de los pacientes con EPOC se correlaciona con bajos niveles del VEGF (*vascular endothelial growth factor*) en estos pacientes⁽⁵²⁾. El VEGF es un factor de crecimiento abundante en el pulmón sano que tiene un papel antiapoptótico en células del endotelio vascular. Estudios recientes han com-

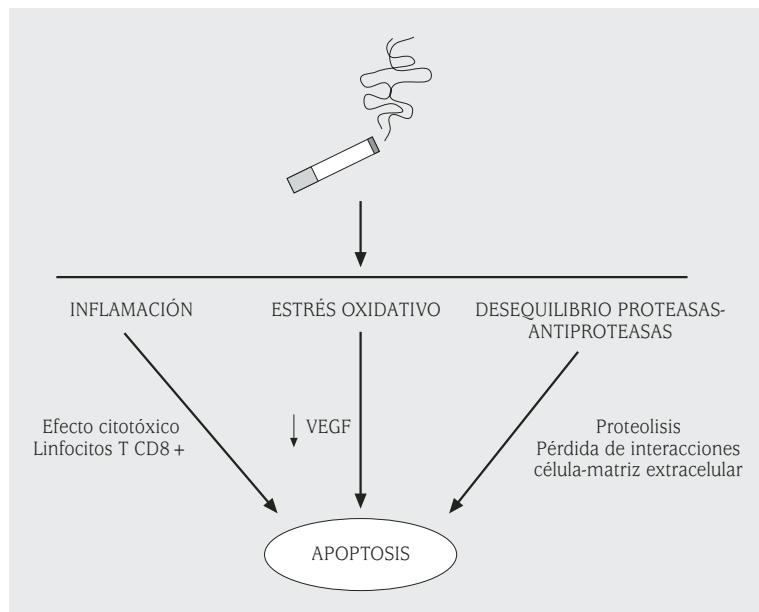


FIGURA 2. Representación esquemática de la asociación de los mecanismos principales de la EPOC con la apoptosis.

probado la relación o *feedback* positivo existente entre el aumento del estrés oxidativo y la presencia de apoptosis en un modelo experimental en que existe un bloqueo en el receptor del VEGF⁽⁵⁵⁾ (Fig. 2).

REMODELADO PULMONAR

La principal anomalía de la EPOC en las vías respiratorias pequeñas y alveolos es la presencia de un infiltrado celular inflamatorio y una remodelación que engrosa la pared de dichas vías, lo que reduce el diámetro de las mismas, aumenta su resistencia al flujo, destruye los alveolos y agranda los espacios aéreos⁽⁵⁴⁾ (Fig. 3).

La remodelación del epitelio de las vías respiratorias tras la irritación o lesión pulmonar conduce a un aumento de la proliferación celular y a un cambio de la proporción de los tipos celulares específicos. En la EPOC, la obstrucción está principalmente situada en la periferia pulmonar, donde se sitúan las vías aéreas pequeñas. Además, la pérdida de retracción elástica que se asocia a la remodelación del tejido conectivo peribronquiolar provoca una rotura de las ataduras alveolares constituidas

por los septos alveolares conectados con los bronquiolos y que impedirían el colapso de la vía aérea.

Las alteraciones vasculares también forman parte de los cambios histológicos de la EPOC, como muestra el hecho de la presencia de linfocitos T CD8 + en las arterias pulmonares⁽⁵⁵⁾. Además, la evidente expresión del receptor del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGFR-2, *vascular endothelial growth factor receptor-2*), en el septo alveolar de las células endoteliales sugiere que las células epiteliales de las vías respiratorias desempeñan un papel importante en la regulación del mantenimiento de la estructura y la función vasculares, así como en la reparación y la remodelación de las estructuras alveolares mediante la expresión del VEGF⁽⁵⁶⁾. El VEGF actúa como un potente factor de supervivencia de las células endoteliales, inhibiendo la apoptosis tanto *in vitro* como *in vivo*⁽⁵⁷⁾.

Estudiando el tamaño de los espacios aéreos mediante el análisis de la intersección lineal media⁽⁵⁸⁾, que determina la distancia entre paredes alveolares y, por tanto, el grado de agrandamiento de los espacios aéreos, se

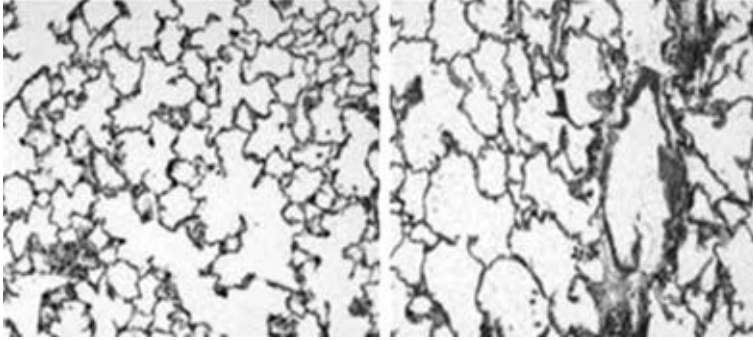


FIGURA 3. Muestras obtenidas de las vías respiratorias pequeñas de un pulmón de ratón sano (izquierda) y de un pulmón de un ratón fumador con EPOC (derecha), donde se aprecia el engrosamiento de las paredes de estas vías y la destrucción alveolar (*hematoxylin stain*).

observa un aumento en los pacientes con enfisema en relación con los individuos sanos. Bioquímicamente se han comprobado, a su vez, diferencias en el contenido de colágeno y elastina, con un aumento de colágeno en el enfisema de tipo centroacinar y una disminución significativa de elastina en los enfisemas de tipo panacinar y centroacinar graves⁽⁵⁹⁾. Diversos autores han encontrado una relación entre la inflamación y el grosor de todos los compartimentos de la pared⁽⁶⁰⁾. Este aumento de grosor de la pared también se observó en fumadores con síntomas de obstrucción crónica de las vías aéreas y no así en fumadores asintomáticos y con función pulmonar normal, lo que indica la presencia de una reparación eficaz, cuya función sería preservar la estructura básica encargada del proceso del intercambio gaseoso en el parénquima pulmonar⁽⁶¹⁾. Cuando la reparación no es eficaz, existe remodelado, los componentes de la matriz se desorganizan, pierden sus características y su distribución anatómica originales y provocan un cambio en las propiedades elásticas tisulares.

Hay una relación entre la gravedad de la enfermedad y la pérdida de elastina en pulmones con enfisema, y también entre la expresión de ARN mensajero de elastina y el tamaño medio de los espacios aéreos distales, lo que indicaría la existencia de un proceso de reparación⁽⁶²⁾. Estos procesos de reparación pueden ser bioquímicamente efectivos, es decir, puede que presenten una cuantificación

normal o alta, pero morfológicamente defectuosos, sin seguir una distribución arquitectónica regular, con pérdida de la alineación natural de la elastina, lo que provocaría que la acción de enzimas elastolíticas pueda ser mayor en estas fibras defectuosas y que las fuerzas mecánicas del pulmón puedan romperlas con mayor facilidad.

Por otro lado, los colágenos de los tipos I y III están presentes en la capa adventicia de las arterias pulmonares, en el intersticio del árbol bronquial, en el septo interlobular, en la lámina propia bronquial y en el intersticio alveolar, lugares donde ocurren todos los cambios en el enfisema. Varios autores han encontrado la existencia de una asociación entre el enfisema y las evidencias morfométricas de rotura y reparación de colágeno⁽⁶³⁾. Los diversos resultados respecto al contenido de colágeno en el enfisema reflejan que el remodelado de la matriz es un proceso dinámico con degradación de colágeno, seguido por un proceso de reparación que lleva a un incremento de la deposición del mismo. Estudios bioquímicos han demostrado la existencia de un aumento del contenido de colágeno tanto en pacientes con enfisema^(59,64) como en modelos animales de esta enfermedad⁽⁶⁵⁾. Este incremento de colágeno no significa que la enfermedad se acompañe de fibrosis, pero su presencia, aparentemente paradójica en un sistema que se define como con pérdida de tejido, reflejaría un fracaso de los sistemas de reparación que siguen a la lesión y podría justificar que

se planteasen medidas de tratamiento antifibrótico experimental como paso previo a una posible nueva línea terapéutica dirigida a la regeneración pulmonar⁽⁶⁶⁾.

BIBLIOGRAFÍA

1. Finkelstein R, Fraser RS, Ghezzi H, Cosio MG. Alveolar inflammation and its relation to emphysema in smokers. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995; 152(5 Pt 1): 1666-72.
2. Agustí A, MacNee W, Donaldson K, Cosio M. Hypothesis: does COPD have an autoimmune component? *Thorax*. 2003; 58(10): 832-4.
3. Cosio MG. Autoimmunity, T-cells and STAT-4 in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J*. 2004; 24(1): 3-5.
4. Cosio MG, Saetta M, Agustí A. Immunologic aspects of chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med*. 2009; 360(23): 2445-54.
5. Fullerton DG, Gordon SB, Calverley PM. Chronic obstructive pulmonary disease in non-smokers. *Lancet*. 2009; 374(9706): 1964-5; author reply 5-6.
6. Kirkham P. RI. Oxidative stress is asthma and COPD: antioxidant as a therapeutic strategy. *Pharmacol Ther*. 2006; 111(2): 476-94.
7. Cavalcante AG dBP. The role of oxidative stress in COPD: current concepts and perspectives. *J Bras Pneumol*. 2009; 35(12): 1227-37.
8. Park HS. KS, Lee YC. Impact of oxidative stress on lung diseases. *Respirology*. 2009; 14(1): 27-38.
9. Van der Vliet A EJ, Cross CE. Nitric oxide: a pro-inflammatory mediator in lung disease? *Respir Res*. 2000; 1(2): 67-72.
10. MacNee W. Pulmonary and systemic oxidant/antioxidant imbalance in chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc*. 2005; 2(1): 50-60.
11. Enami S HM, Colussi AJ. Acidity enhances the formation of a persistent ozonide at aqueous ascorbate/ozone gas interfaces. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008; 105(21): 7365-9.
12. Li XY RI, Donaldson K, MacNee W. Mechanisms of cigarette smoke induced increased airspace permeability. *Thorax*. 1996; 51(5): 465-71.
13. Jones JG MB, Lawler P, Hulands G, Crawley JC, Veall N. Increased alveolar epithelial permeability in cigarette smokers. *Lancet*. 1980; 1(8159): 66-8.
14. Matzinger P. The danger model: a renewed sense of self. *Science*. 2002; 296(5566): 301-5.
15. Parker LC, Prince LR, Sabroe I. Translational mini-review series on Toll-like receptors: networks regulated by Toll-like receptors mediate innate and adaptive immunity. *Clin Exp Immunol*. 2007; 147(2): 199-207.
16. Crespo-Lessmann A, Juárez-Rubio C, Plaza-Moral V. Role of toll-like receptors in respiratory diseases. *Arch Bronconeumol*. 2010; 46(3): 135-42.
17. Rao T, Richardson B. Environmentally induced autoimmune diseases: potential mechanisms. *Environ Health Perspect*. 1999; 107 (Suppl 5): 737-42.
18. Krieg AM, Vollmer J. Toll-like receptors 7, 8, and 9: linking innate immunity to autoimmunity. *Immunol Rev*. 2007; 220: 251-69.
19. Marshak-Rothstein A. Toll-like receptors in systemic autoimmune disease. *Nat Rev Immunol*. 2006; 6(11): 823-35.
20. Di Stefano A CG, Oates T, Capelli A, Lusuardi M, Gnemmi I, Ioli F, et al. Increased expression of nuclear factor-kappaB in bronchial biopsies from smokers and patients with COPD. *Eur Respir J*. 2002; 20(3): 556-63.
21. Churg A WR, Tai H, Wang X, Xie C, Wright JL. Tumor necrosis factor-alpha drives 70% of cigarette smoke-induced emphysema in the mouse. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004; 170(5): 492-8.
22. Lappalainen U WJ, Wert SE, Tichelaar JW, Bry K. Interleukin-1beta causes pulmonary inflammation, emphysema, and airway remodeling in the adult murine lung. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2005; 32(4): 311-8.
23. Deshmane SL KS, Amini S, Sawaya BE. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview. *J Interferon Cytokine Res*. 2009; 29(6): 313-26.
24. Maus U HS, Wenschuh H, Mayer K, Seeger W, Lohmeyer J. Role of endothelial MCP-1 in monocyte adhesion to inflamed human endothelium under physiological flow. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002; 283(6): H2584-91.
25. Górska K M-WM, Krenke R. Airway inflammation in chronic obstructive pulmonary disease. *Curr Opin Pulm Med*. 2010; 16(2): 89-96.
26. O'Reilly P JP, Noerager B, Parker S, Dransfield M, Gaggar A, Blalock JE. N-alpha-PGP and PGP, potential biomarkers and therapeutic targets for COPD. *Respir Res*. 2009; 18: 10: 38.

27. Barnes PJ SS, Pauwels RA. Chronic obstructive pulmonary disease: molecular and cellular mechanisms. *Eur Respir J.* 2003; 22(4): 672-88.
28. Lagente V MB, Nénan S, Le Quément C, Martin-Chouly C, Boichot E. Role of matrix metalloproteinases in the development of airway inflammation and remodeling. *Braz J Med Biol Res.* 2005; 38(10): 1521-30.
29. Paulissen G RN, Gueders MM, Crahay C, Quesada-Calvo F, Bekaert S, Hacha J, et al. Role of ADAM and ADAMTS metalloproteinases in airway diseases. *Respir Res.* 2009; 10: 127.
30. Churg A WR, Xie C, Wright JL. Alpha-1-Antitrypsin ameliorates cigarette smoke-induced emphysema in the mouse. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003; 168(2): 199-207.
31. Lee SH, Goswami S, Grudo A, Song LZ, Bandi V, Goodnight-White S, et al. Antielastin autoimmunity in tobacco smoking-induced emphysema. *Nat Med.* 2007; 13(5): 567-9.
32. Barnes P. The cytokine network in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *J Clin Invest.* 2008; 118(11): 3546-56..
33. McWilliam AS, Napoli S, Marsh AM, Pemper FL, Nelson DJ, Pimm CL, et al. Dendritic cells are recruited into the airway epithelium during the inflammatory response to a broad spectrum of stimuli. *J Exp Med.* 1996; 184(6): 2429-32.
34. Lambrecht BN, Prins JB, Hoogsteden HC. Lung dendritic cells and host immunity to infection. *Eur Respir J.* 2001; 18(4): 692-704.
35. Freeman CM, Curtis JL, Chensue SW. CC chemokine receptor 5 and CXC chemokine receptor 6 expression by lung CD8+ cells correlates with chronic obstructive pulmonary disease severity. *Am J Pathol.* 2007; 171(3): 767-76.
36. Saetta M, Mariani M, Panina-Bordignon P, Turato G, Buonsanti C, Baraldo S, et al. Increased expression of the chemokine receptor CXCR3 and its ligand CXCL10 in peripheral airways of smokers with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002; 165(10): 1404-9.
37. Saetta M, Baraldo S, Corbino L, Turato G, Braccioni F, Rea F, et al. CD8+ve cells in the lungs of smokers with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999; 160(2): 711-7.
38. Vernooy JH, Moller GM, van Suylen RJ, van Spijk MP, Cloots RH, Hoet PH, et al. Increased granzyme A expression in type II pneumocytes of patients with severe chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007; 175(5): 464-72.
39. Chrysofakis G, Tzanakis N, Kyriakoy D, Tsoumakidou M, Tsiligianni I, Klimathianaki M, et al. Perforin expression and cytotoxic activity of sputum CD8+ lymphocytes in patients with COPD. *Chest.* 2004; 125(1): 71-6.
40. Hodge S, Hodge G, Scicchitano R, Reynolds PN, Holmes M. Alveolar macrophages from subjects with chronic obstructive pulmonary disease are deficient in their ability to phagocytose apoptotic airway epithelial cells. *Immunol Cell Biol.* 2003; 81(4): 289-96.
41. Gaipf US, Kuhn A, Sheriff A, Munoz LE, Franz S, Voll RE, et al. Clearance of apoptotic cells in human SLE. *Curr Dir Autoimmun.* 2006; 9: 173-87.
42. Sullivan AK, Simonian PL, Falta MT, Mitchell JD, Cosgrove GP, Brown KK, et al. Oligoclonal CD4+ T cells in the lungs of patients with severe emphysema. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005; 172(5): 590-6.
43. Di Stefano A, Caramori G, Capelli A, Gnemmi I, Ricciardolo FL, Oates T, et al. STAT4 activation in smokers and patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J.* 2004; 24(1): 78-85.
44. Turato G, Zuin R, Miniati M, Baraldo S, Rea F, Beghe B, et al. Airway inflammation in severe chronic obstructive pulmonary disease: relationship with lung function and radiologic emphysema. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002; 166(1): 105-10.
45. van der Strate BW, Postma DS, Brandsma CA, Melgert BN, Luinge MA, Geerlings M, et al. Cigarette smoke-induced emphysema: A role for the B cell? *Am J Respir Crit Care Med.* 2006; 173(7): 751-8.
46. Shapiro SD. End-stage chronic obstructive pulmonary disease: the cigarette is burned out but inflammation rages on. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001; 164(3): 339-40.
47. Taraseviciene-Stewart L, Scerbavicius R, Choe KH, Moore M, Sullivan A, Nicolls MR, et al. An animal model of autoimmune emphysema. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005; 171(7): 734-42.
48. Wood AM, de Pablo P, Buckley CD, Ahmad A, Stockley RA. Smoke exposure as a determinant of auto-antibody titre in AATD and COPD. *Eur Respir J.* 2010. [Epub ahead of print].

49. Kuo YB, Chang CA, Wu YK, Hsieh MJ, Tsai CH, Chen KT, et al. Identification and clinical association of anti-cytokeratin 18 autoantibody in COPD. *Immunol Lett.* 2010; 128(2): 131-6.
50. Feghali-Bostwick CA, Gadgil AS, Otterbein LE, Pilewski JM, Stoner MW, Csizmadia E, et al. Autoantibodies in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008; 177(2): 156-63.
51. Demedts IK DT, Bracke KR, Joos GF, Brusselle GG. Role of apoptosis in the pathogenesis of COPD and pulmonary emphysema. *Respir Res.* 2006; 7: 53.
52. Kanazawa H YJ. Elevated oxidative stress and reciprocal reduction of vascular endothelial growth factor levels with severity of COPD. *Chest.* 2005; 128(5): 3191-7.
53. Tuder RM ZL, Cho CY, Taraseviciene-Stewart L, Kasahara Y, Salvemini D, Voelkel NF, Flores SC. Oxidative stress and apoptosis interact and cause emphysema due to vascular endothelial growth factor receptor blockade. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2003; 29(1): 88-97.
54. Cosio M, Ghezzo H, Hogg JC, Corbin R, Loveland M, Dosman J, et al. The relations between structural changes in small airways and pulmonary-function tests. *N Engl J Med.* 1978; 298(23): 1277-81.
55. Peinado VI, Barberá JA, Abate P, Ramírez J, Roca J, Santos S, et al. Inflammatory reaction in pulmonary muscular arteries of patients with mild chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999; 159(5 Pt 1): 1605-11.
56. Kasahara Y, Tuder RM, Cool CD, Lynch DA, Flores SC, Voelkel NF. Endothelial cell death and decreased expression of vascular endothelial growth factor and vascular endothelial growth factor receptor 2 in emphysema. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001; 163(3 Pt 1): 737-44.
57. Alon T, Hemo I, Itin A, Pe'er J, Stone J, Keshet E. Vascular endothelial growth factor acts as a survival factor for newly formed retinal vessels and has implications for retinopathy of prematurity. *Nat Med.* 1995; 1(10): 1024-8.
58. Weibel ER. Principles and methods for the morphometric study of the lung and other organs. *Lab Invest.* 1963; 12: 131-55.
59. Cardoso WV, Sekhon HS, Hyde DM, Thurlbeck WM. Collagen and elastin in human pulmonary emphysema. *Am Rev Respir Dis.* 1993; 147(4): 975-81.
60. Hogg JC, Chu F, Utokaparch S, Woods R, Elliott WM, Buzatu L, et al. The nature of small-airway obstruction in chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med.* 2004; 350(26): 2645-53.
61. Saetta M, Di Stefano A, Turato G, Facchini FM, Corbino L, Mapp CE, et al. CD8+ T-lymphocytes in peripheral airways of smokers with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998; 157(3 Pt 1): 822-6.
62. Lucey EC, Goldstein RH, Stone PJ, Snider GL. Remodeling of alveolar walls after elastase treatment of hamsters. Results of elastin and collagen mRNA in situ hybridization. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998; 158(2): 555-64.
63. Vlahovic G, Russell ML, Mercer RR, Crapo JD. Cellular and connective tissue changes in alveolar septal walls in emphysema. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999; 160(6): 2086-92.
64. Martín-Mosquero C, Peces-Barba G, Rubio ML, Ortega M, Rodríguez-Nieto MJ, Martínez Galán L, et al. Increased collagen deposition correlated with lung destruction in human emphysema. *Histol Histopathol.* 2006; 21(8): 823-8.
65. Rubio ML, Martín-Mosquero MC, Ortega M, Peces-Barba G, Gonzalez-Mangado N. Oral N-acetylcysteine attenuates elastase-induced pulmonary emphysema in rats. *Chest.* 2004; 125(4): 1500-6.
66. Martínez-Galán L, del Puerto-Nevado L, Pérez-Rial S, Díaz-Gil JJ, González-Mangado N, Peces-Barba G. Liver growth factor improves pulmonary fibrosis secondary to cadmium administration in rats. *Arch Bronconeumol.* 2010; 46(1): 20-6.